

Автономная некоммерческая образовательная организация высшего профессионального образования
«Сколковский институт науки и технологий»
143025, Московская область, Одинцовский район, Сколково, ул. Новая, д. 100
ОГРН 1115000005922 ИНН/КПП 5032998454/503201001
Тел.: +7 (495) 280-14-81

ОТЗЫВ

Официального оппонента

кандидата физико-математических наук, профессора Драчева Владимира Прокопьевича

на диссертацию Стецюра Инны Юрьевны

«ДИСТАНЦИОННО ПЕРЕМЕЩАЕМЫЕ СЕНСОРЫ НА ОСНОВЕ ЭФФЕКТА
ГИГАНТСКОГО КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА ДЛЯ *IN VITRO*
ИССЛЕДОВАНИЙ»,

представленную на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по
специальности 03.01.02 – Биофизика

Диссертационная работа Стецюра И.Ю. посвящена разработке и созданию нового вида мобильных и биосовместимых платформ гигантского комбинационного рассеяния на основе структур «ядро-оболочка» для вне- и внутриклеточных исследований. Научное направление диссертационной работы безусловно является одним из актуальных направлений современной биофизики. Несмотря на значительные достижения в области создания биосенсоров, существует ряд нерешенных проблем, которые могут иметь большое фундаментальное и прикладное значение.

Цель и задачи диссертации соответствуют заявленной специальности 03.01.02 – Биофизика. Поставленные в работе задачи решены полностью с использованием предварительно апробированных методик исследования с использованием современного оборудования.

Научная новизна полученных результатов не вызывает сомнений. Особенно следует отметить цельность этой работы. В ней последовательно разработаны компоненты цепочки необходимые для адресной доставки лекарств и внутри- /вне- клеточного молекулярного мониторинга. Во-первых, были созданы многофункциональные мобильные сенсоры на основе эффекта гигантского комбинационного рассеяния, которые возможно использовать

как для мониторинга, так и для гипертермии. Роль платформ выполняют синтезированные в работе многослойные микросферы с внешней оболочкой из структурированного золота или серебра. Во-вторых, сенсорные свойства платформ с использованием гигантского комбинационного рассеяния были протестированы на веществах применяемых в тканевой инженерии в качестве матриц. Важно отметить, что была изучена цитотоксичность сенсоров разного состава слоев и выбран оптимальный. Были созданы также биосовместимые нетканые материалы на основе поликапролактона с включениями обеспечивающими гигантское комбинационное рассеяние. В-третьих, показана возможность перемещения платформ гигантского комбинационного рассеяния в различных средах, в том числе, и культуральной питательной среде, с помощью, так называемого, лазерного пинцета. Это позволяло автору доставлять микросферы/платформы к нужной клетке с последующим внутриклеточным исследованием клеток фибробластов L929 с помощью спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния. Был продемонстрирован и другой способ управления взаимным расположением платформ гигантского комбинационного рассеяния - с помощью магнитного поля. Для этого автором были синтезированы микрочастицы из карбоната кальция, содержащие наночастицы магнетита.

Диссертационная работа Стецюра И.Ю. состоит из введения, обзора литературы по проблемам исследования (глава 1), описания методик изготовления платформ для гигантского комбинационного рассеяния и методов их характеристики (глава 2), трех глав с оригинальными результатами и их обсуждением (глава 3-5), заключением и списком литературы. Диссертация изложена на 134 листах, содержит 56 рисунков и 4 таблицы. Список литературы представлен 179 источниками.

Обзор литературы дает объективное представление о современном уровне развития биосенсоров основанных на эффекте гигантского комбинационного рассеяния света, взаимодействии лазерного излучения с нано- и микрочастицами и биообъектами. Из представленного литературного анализа логичным образом следуют постановка проблемы и задачи исследования.

Представленная работа является законченным целостным исследованием, вносящим существенный вклад в развитие современной биофизики. Среди основных результатов, имеющих большое прикладное значение следует отметить следующие:

разработаны протоколы изготовления платформ гигантского комбинационного рассеяния света -диэлектрические многослойные микросферы покрытые металлическими наночастицами;

были получены усиленные спектры комбинационного рассеяния для веществ, используемых в тканевой инженерии и рассчитаны аналитические факторы усиления;

регистрация спектров может производиться при низкой мощности лазера, а значит потенциально не меняет функциональности клеток;

продемонстрирована целостностная функциональная цепочка для разработанных сенсоров – синтез/доставка/проникновение в клетку/внутриклеточная спектроскопия: а именно, было проведено внутриклеточное исследование клетки мышинных фибробластов линии L929 в заданном месте, куда была доставлена платформа с помощью оптического пинцета;

отработана методика формирования микрочастиц карбоната кальция, содержащих наночастицы магнетита и показана возможность реализации управления пространственной ориентацией платформ гигантского комбинационного рассеяния и перемещением их под действием магнитного поля;

созданы волокна на основе поликапролактона со встроенными платформами ГКР и показана возможность использования платформ ГКР до и после резорбции волокон;

проведены тесты на цитотоксичность всех разработанных и изготовленных платформ и показана их биосовместимость.

В целом, можно заключить, что диссертационная работа Стецюра И.Ю. выполнена на высоком уровне и отражает решение всех поставленных перед автором задач. Диссертация содержит совокупность значимых научных результатов, выдвигаемых для публичной защиты и полностью удовлетворяющих критериям новизны.

Диссертация прошла всестороннюю апробацию в форме многочисленных выступлений на международных конференциях. По теме диссертации опубликованы 13 печатных работ, 5 из которых в изданиях, рекомендованных Министерством образования и науки РФ для публикации результатов диссертационных исследований.

При внимательном чтении представленных исследований у оппонента возникли некоторые замечания и пожелания, которые следует рассматривать как продолжение достоинств диссертации. Основные замечания сводятся к следующему.

1. Воспроизводимость измерений с помощью гигантского комбинационного рассеяния является наверное ключевой проблемой ограничивающе рутинное использование метода. В диссертации содержится важный вывод о том, что «... с помощью подобных платформ возможно получение хорошо воспроизводимого сигнала ГКР.» Хотелось бы понять от чего зависит воспроизводимость сигнала ГКР? Как этот параметр определялся в работе?
2. Вопрос по другому утверждению, на стр 26: «Описанные выше микроструктуры являются привлекательными объектами исследования по следующим причинам: ... на поверхности таких платформ присутствует большое количество “горячих точек”; так как направления поляризации горячих точек на шероховатых поверхностях микросфер случайны, совокупный характер поляризации от большого количества горячих точек на одной частице может быть изотропным.» Вопрос: Существует ли фундаментальное отличие от, скажем, похожих структур напыленных на плоской поверхности?
3. Малая требуемая мощность лазера (0,2 мВт) для регистрации спектров является несомненным достоинством разработанных сенсоров. Однако регистрируемый сигнал зависит от оптической схемы возбуждения и сбора рассеянного излучения, как следствие от размеров лазерного пучка на образце. Важны также отношение сигнал/шум, количество счетов в секунду. Важно также сколько фотонов в секунду попадет на клетку и т.д. По-видимому этот результат должен быть сформулирован более универсальным способом, позволяющим сравнение с другими работами.
4. Каков статистический разброс параметра жизнеспособности клеток для контрольного образца по сравнению с указанным 82% при измерении жизнеспособности клеток (секция 5.2 стр 104) ?
5. Как изменяется жизнеспособность клеток с/без ГКР платформ после облучения лазером?
6. Наблюдалась ли разница в захвате и удержании лазерным пинцетом микросфер и микросфер «снаряженных» плазмонной оболочкой?
7. Имеется небольшое количество замеченных опечаток. В формуле 4: G и alpha должны быть в квадрате. Термин «ватерит» появляется на стр 9 без определения. На рисунке 4.6 (в) показаны три спектра, чему они соответствуют?

