

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по НР

Федерального государственного
автономного образовательного учреждения
высшего образования



"Национальный исследовательский
Томский государственный университет"

профессор, д.ф.-м.н.

И.В. Ивонин

25 08 2016 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» о диссертации 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. направлена на решение одной из задач современной биофизики – разработку и создание нового вида мобильных и биосовместимых платформ гигантского комбинационного рассеяния (ГКР) на основе структур «ядро-оболочка» для вне- и внутриклеточных исследований.

Актуальность. Несмотря на значительные достижения в областях биофизики, создания биосенсоров и наноплазмоники к настоящему времени, существует ряд нерешенных проблем, которые могут иметь большое теоретическое и прикладное значение. Применение эффекта гигантского комбинационного рассеяния света позволяет идентифицировать биологически важных молекулы при низких концентрациях, определять их концентрации и проводить анализ на основе полученных данных биохимических процессов, происходящих в живых системах, что играет важную роль в биофизике клетки и биофизике сложных систем. Перспективным применением гигантского комбинационного рассеяния света является использование его в области медицины и фармакологии, которое заключается в детектировании лекарственных препаратов для изучения их фармакокинетики. Кроме того, эта методика интересна не только как техника ультрачувствительного обнаружения и

характеризации биомолекул, но и как техника для изучения вне- и внутриклеточных биофизических процессов. Однако для получения эффекта необходимо использование специальных платформ. Таким образом, исследования с помощью гигантского комбинационного рассеяния света связаны в первую очередь с синтезом и оптической характеристикой новых наноструктурированных материалов для использования их в качестве платформ для гигантского комбинационного рассеяния света.

Объем и структура работы. Диссертационная работа состоит из введения, 5 глав, заключения, списка использованных источников, включающего 179 источников. Общий объем диссертации составляет 134 страницы, включая 56 рисунков и 4 таблицы.

Во введении обоснована актуальность темы исследования, раскрыта новизна работы и ее практическая значимость, а также сформулированы цель и задачи исследования, положения, выносимые на защиту, определена научная и практическая значимость работы.

В первой главе приведен обширный обзор литературы по теме диссертации. Изложены методики гигантского комбинационного рассеяния (методы передвижения объектов: методика оптического пинцета, перемещение в градиенте магнитного поля, акустические методы передвижения объектов; клеточная инженерия) и его биомедицинские приложения.

Вторая глава посвящена описанию материалов и методов получения микрочастиц CaCO_3 и нанокомпозитных оболочек. В результате были синтезированы микросферы карбоната кальция с включениями из наночастиц магнетита и без них, подготовлены и исследованы водные суспензии большого ряда платформ ГКР.

Третья глава посвящена описанию формирования платформ для ГКР на основе ядра из CaCO_3 или SiO_2 и композитной оболочки из полиэлектролита и аддуктов нанокластеров углерода, покрытых наночастицами серебра или золота. Предложенные платформы применены при исследовании матриксов для инжиниринга тканей и биологически активных веществ. Выявлен наиболее эффективный состав оболочки платформ ГКР, а также показано, что полученные микросферы на основе «ядро-оболочка» являются перспективными платформами ГКР для мониторинга роста клеток и разложения внеклеточного матрикса в реальном времени.

В четвертой главе описаны наноструктурированные сферические платформы ГКР для исследования клеток *in vivo*. Исследованы цитотоксичность платформ ГКР с помощью МТТ теста с использованием клеточной линии L929 фибропластов, влияние состава ядра и покрытия платформы ГКР на возможность передвижения с помощью оптического пинцета в культуральной среде.

В пятой главе исследована роль постоянного магнитного поля в управлении взаимным расположением структур «ядро-оболочка» с целью создания тканеинженерных

конструкций. Исследовано влияние магнетита на скорость передвижения структур «ядро-оболочка». Проведен анализ на цитотоксичность с помощью техники с использованием красителя аламар блю. Получены композитные волокна на основе поликапролактона, исследованы их характеристики.

В заключении сформулированы основные результаты и выводы.

Научная новизна полученных результатов. К числу наиболее значимых научных результатов работы можно отнести:

- Созданные многофункциональные мобильные сенсоры на основе эффекта гигантского комбинационного рассеяния, которые возможно использовать и для мониторинга, и, например, для гипертермии.

- Платформы гигантского комбинационного рассеяния были протестированы на веществах, используемых в тканевой инженерии в качестве матриц, причем была изучена цитотоксичность сенсоров разного состава и выбран оптимальный состав. Также были созданы биосовместимые нетканые материалы на основе поликапролактона с включениями из платформ гигантского комбинационного рассеяния.

- Показана возможность перемещения платформ гигантского комбинационного рассеяния в различных средах, в том числе, и культуральной питательной среде, с последующим внутриклеточным исследованием с помощью гигантского комбинационного рассеяния клеток фибробластов L929. Кроме того, показана возможность управления взаимным расположением платформ гигантского комбинационного рассеяния на основе микрочастиц из карбоната кальция, содержащих наночастицы магнетита, с помощью магнитного поля.

Научная значимость и практическая ценность результатов. Среди основных результатов, имеющих большое фундаментальное и прикладное значение следует отметить следующие: созданы платформы гигантского комбинационного рассеяния света, покрытые металлическими наночастицами; получен спектр полученных платформ на при низкой мощности лазера; были получены усиленные спектры комбинационного рассеяния для веществ, используемых в тканевой инженерии и рассчитаны аналитические факторы усиления; было проведено внутриклеточное исследование клетки мышинных фибробластов линии L929 в определенном 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 полученных платформ и показана их биосовместимость.

Достоверность результатов исследования следует из корректного использования предварительно апробированных методик исследования с использованием современного оборудования и подтверждается воспроизводимостью полученных данных в пределах установленных погрешностей. Также результаты не противоречат данным других опубликованных исследований, ссылки на которые приведены в работе.

Материал работы достаточно четко представлен, имеет логичную структуру. Результаты работы использованы в ходе выполнения 10 грантов. Диссертация прошла всестороннюю апробацию в форме выступлений на 10 всероссийских и международных конференциях. Проведение совместных исследований по теме диссертации и обсуждение их результатов осуществлялись соискателем в ходе стажировок и международных школ. По теме диссертации опубликованы 13 печатных работ, 5 из которых в изданиях, рекомендованных Министерством образования и науки РФ для публикации результатов диссертационных исследований.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации. Полученные в диссертации результаты рекомендуются к использованию в научных исследованиях и прикладных разработках в Саратовском государственном университете, Томском государственном университете, Московском государственном университете Институте биоорганической химии РАН, Институте биофизики клетки РАН и других профильных исследовательских и образовательных организациях.

Замечания по диссертационной работе.

1. На странице 82 «Также формировалась оболочка разного состава: тестировались пары ПАА/АНКУ и ПДАДМА/АНКУ с золотым или серебряным верхним покрытием». Делается выбор между золотым и серебряным покрытием, однако преимущества ПАА не рассматриваются, хотя в дальнейшем используется только ПАА.

2. В главе 3 приведено распределение интенсивности спектра комбинационного рассеяния для полученных платформ, однако нет оценки равномерности усиления на поверхности платформ.

3. В главе 3 представлен довольно ограниченный выбор веществ для тестирования платформ гигантского комбинационного рассеяния света.

4. Не указана информация о концентрациях регистрируемых веществ и не обоснована актуальность использования именно этих концентраций для практических применений.

5. В заключении указаны различные факторы усиления для регистрируемых веществ, однако объяснения этому явлению нет.

6. Имеется небольшое количество опечаток. Например, на странице 74 в подписи к рисунку 3.14 «...длинной волны...», на странице 76 в подписи к рисунку 3.16 лазера «...10 мВт, 0.1 МВт...».

Перечисленные замечания не носят принципиального характера и не снижают оценку уровня проведенного исследования и значимости работы в целом.

Заключение. Диссертация Стецюра Инны Юрьевны «Дистанционно перемещаемые сенсоры на основе эффекта гигантского комбинационного рассеяния света для *in vitro* исследований» представляет собой законченное целостное исследование, внесшее существенный вклад в развитие современной биофизики, тема которой соответствует специальности 03.01.02 – Биофизика.

По своей актуальности, научно-методическому уровню, новизне полученных результатов и практической значимости диссертация Стецюра Инны Юрьевны полностью соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением правительства РФ от 24 сентября 2013 года №842, предъявляемым к диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения степени кандидата физико-математических наук по специальности 03.01.02 – Биофизика.

Диссертационная работа Стецюра И.Ю. обсуждена, и отзыв на нее заслушан и утвержден на заседании кафедры оптики и спектроскопии физического факультета ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет» от 22 августа 2016 г. (протокол № 7).

Заведующий кафедрой оптики и спектроскопии
физического факультета Федерального
государственного автономного образовательного
учреждения высшего образования
"Национальный исследовательский Томский
государственный университет" доктор физико-
математических наук, доцент, специальность
01.04.05 «Оптика», Российская Федерация,

634050, г. Томск, пр. Ленина, 36.

Тел. +7 (3822) 529640

E-mail: vnch@phys.tsu.ru



Черепанов Виктор Николаевич