

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Попова Антона Михайловича

«Микрофлюидные устройства для исследования структуры белков и механизмов их кристаллизации на источнике синхротронного излучения»,

представленную на соискание ученой степени

кандидата физико-математических наук

по специальности 01.04.01 – «Приборы и методы экспериментальной физики»

Микрофлюидные технологии осуществляют прецизионный контроль рабочих жидкостей (микро-, нано-, пико- и фемтолитров), что крайне востребовано в химии, медицине, фармакологии, биологии и многих других научно-технических областях. Примерами практических применений, для которых микрофлюидные устройства (МФУ) играют ключевую роль, являются струйная печать, системы скрининга, ДНК-чипы, средства медицинской экспресс диагностики. Становление микрофлюидики также стало одним из факторов для бурного развития междисциплинарного направления, которое называют «лаборатория на чипе». Это связано с тем, что МФУ позволяют одновременно реализовать десятки экспериментов с жидкостными составами на площадях в несколько квадратных сантиметров при общих расходах исследуемых материалов порядка единиц микролитров.

Общими тенденциями развития микрофлюидных устройств являются удешевление технологий их создания, внедрение подходов микрофлюидики в новые области, и расширение функциональных возможностей МФУ.

Актуальность работы не вызывает сомнений. Она обусловлена успешной разработкой в диссертации методики построения перспективных МФУ для различных направлений экспериментальной физики, таких как кристаллизация белков для их последующего изучения, в частности рентгеноструктурных исследований белков непосредственно в чипе с использованием синхротронного излучения, *in situ* наблюдение за динамикой ранних фаз кристаллизации в белковых растворах, а также для различных медицинских, биологических и фармацевтических применений.

Диссертация насчитывает 149 страниц и состоит из введения, описания методики, трех экспериментальных глав, заключения и списка литературы, содержащего 156 ссылок.

Целью работы являлась разработка нового более простого и надежного по сравнению с существующими способами создания МФУ для научных исследований, а также создание МФУ, обладающих новыми функциональными возможностями.

Основные результаты работы:

1. Разработана технологическая цепочка, упрощающая процесс оперативного прототипирования и изготовления разборных МФУ из ПММА. Показана возможность многократного вскрытия МФУ из ПММА для извлечения пробы исследуемого материала и повторной термической спайки.
2. Разработанная технология создания МФУ позволила изготовить:

- МФЧ для кристаллизации белка методом микробатч;
- МФЯ для проведения *in situ* исследований белковых растворов методом МУРР;
- прототип микрофлюидной электрохимической ячейки для улавливания радиоактивного изотопа $^{18}\text{F}^-$;
- микрофлюидный генератор кислорода с использованием хлореллы вульгарис.

3. Продемонстрировано, что использование МФЧ из ПММА позволяет осуществлять кристаллизацию белка из растворов методом микробатч и проводить РСА полученных кристаллов непосредственно в МФЧ с использованием синхротронного излучения.

4. Показано, что МФЯ из ПММА с плоскопараллельными кварцевыми окнами позволяет проводить *in situ* исследования процессов кристаллизации белков из растворов методом МУРР с использованием синхротронного излучения. Ячейки подобной конструкции позволяет снизить объем исследуемого препарата более чем в 7 раз по сравнению со стандартными кварцевыми капиллярами.

Научная новизна работы заключается в том, что в ней успешно разработаны недорогие методики создания МФУ и управления их свойствами, в том числе впервые проведена успешная термическая спайка компонентов МФУ из ПММА при давлениях не более 1,5 бар и температурах ниже 100°C. В созданных ячейках для различных областей физики проведены измерения, демонстрирующие высокое качество устройств. Так, например, на белках, кристаллизованных в изготовленных устройствах, получена дифракционная картина с разрешением в 2.74 Å для лизоцима, 2.95 Å для MV и 2.89 Å для PMGL2. Это подтверждает перспективность предложенных устройств для РСА белковых молекул. Впервые продемонстрирована возможность *in situ* наблюдения динамики кристаллизации белков методом малоуглового рентгеновского рассеяния в микрофлюидной ячейке из ПММА с плоскопараллельными кварцевыми окнами.

Практическая ценность работы заключается в том, что в ней разработана технологическая цепочка для оперативного прототипирования и создания разборных МФУ из ПММА методами лазерной абляции и термической спайки. При этом достигнуто существенное упрощение процесса изготовления МФУ в сравнении с другими существующими способами, показана возможность многократного вскрытия МФУ из ПММА для извлечения/загрузки пробы исследуемого материала и повторной термической спайки. В ходе работы изготовлены МФУ для кристаллизации белка методом микробатч, микрофлюидные ячейки для проведения исследований белковых растворов методом МУРР, а также прототипы микрофлюидной электрохимической ячейки для улавливания радиоактивного изотопа $^{18}\text{F}^-$ и микрофлюидный чип-фотобиореактор (генератор кислорода) на основе микроорганизмов хлорелла вульгарис.

В ходе исследований созданы 2 ноу-хау и оформлена заявка на патент (изобретение).

Достоверность выполненной автором работы подтверждается использованием современных методов исследований, воспроизводимостью результатов экспериментов, проведенных на различном лабораторном и измерительном оборудовании, сопоставлением с известными результатами других авторов.

Содержание диссертации в достаточной степени отражено в 5 рецензируемых публикациях автора, неоднократно докладывалось на Российских и международных научных конференциях, а ее основные положения обстоятельно изложены в автореферате.

Автореферат диссертации в целом соответствует ее содержанию.

По содержанию диссертации имеются следующие **замечания**:


- 1) Текст диссертации содержит несколько опечаток и неточностей, которые, однако, не мешают пониманию сути. Например, на рис. 49 перепутана нумерация фотографий, и только из текста удастся понять суть представленного материала.
- 2) Начатые в работе перспективные исследования прототипа микрофлюидной электрохимической ячейки для улавливания радиоактивного изотопа ^{18}F -, и микрофлюидного генератора кислорода с использованием хлореллы вульгарис оставляют впечатление незавершенных работ.

Приведенные замечания в целом не меняют общего положительного впечатления о диссертационной работе, выполненной на актуальную тему, обладающей научной новизной и практической ценностью, которая является самостоятельной и законченной научно-исследовательской работой и удовлетворяет всем требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям по специальности 01.04.01 «Приборы и методы экспериментальной физики». А автор работы заслуживает присвоения ему ученой степени кандидата физико-математических наук.

Официальный оппонент

кандидат физико-математических наук,
доцент кафедры «Общей физики и
молекулярной электроники» физического
факультета МГУ им. М.В. Ломоносова

119991, Москва Ленинские горы,
МГУ имени М.В. Ломоносова
д. 1, стр. 2, Физический Факультет
тел. +7(495)939-2193
email: vzaitsev@phys.msu.ru


25.02.2019 Зайцев В.Б.




А.Г. Баранов