

ОТЗЫВ НАУЧНОГО РУКОВОДИТЕЛЯ
на диссертацию М. М. Халисова
« Применение атомно-силовой микроскопии для
детектирования отклика нативных клеток на внешние воздействия»
на соискание ученой степени кандидата технических наук

Мы с Максимом Миндигалеевичем Халисовым ведем совместные научные исследования с 2011 года. В 2013 году он с отличием закончил обучение в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики (Университет ИТМО). В этом же году М. М. Халисов поступил в аспирантуру Университета ИТМО и был принят на работу в Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им. И. П. Павлова (ИФ РАН). Обучение в аспирантуре М. М. Халисов успешно завершил в августе этого, 2017 года, а в ИФ РАН он продолжает работать и сегодня, занимая должность старшего лаборанта в лаборатории физиологии возбудимых мембран. М. М. Халисов в настоящий момент сформировался как специалист по атомно-силовой микроскопии (АСМ) и, в особенности, по адаптации этой техники для биомедицинских исследований.

В его диссертации «Применение АСМ для детектирования отклика нативных клеток на внешние воздействия» представлены новые результаты, полученные в серии весьма кропотливых и аккуратных экспериментов. Все эти эксперименты были объединены общей целью – разработать рутинные АСМ методики исследования нативных клеток.

АСМ – это микромеханическое твердотельное устройство, с помощью которого удобнее всего изучать твердотельные, гладкие и упругие объекты. Нативная (живая, культивируемая, интактная) клетка – объект мягкий, с развитым рельефом, неупругий, липкий, вязкий и неоднозначно реагирующий. Несмотря на это, в большинстве АСМ исследований нативной клетки как индикатор ее состояния используется упругий модуль Юнга. Приступая к работе над диссертацией, мы с М. М. Халисовым хорошо представляли определенную условность, что неупругий объект характеризуется значением упругого модуля. Важно, однако, что фактически в АСМ детектируются данные силовых (индентационных) кривых, которые потом формально анализируются, например, в рамках простых моделей теории упругости. Учитывая эту условность, мы запланировали также поиск альтернативных модулю Юнга параметров, которые можно извлечь, анализируя данные АСМ измерений.

Все новые результаты диссертации М. М. Халисов получил самостоятельно. Особенно красивыми и важными мне представляются следующие два:

1. В АСМ экспериментах с фибробластами сердечной ткани удалось показать, что значения контактной жесткости точно и адекватно характеризуют механические свойства нативного объекта, в отличие от значений кажущегося модуля Юнга. Более того, оказалось, что при миллисекундных временах индентирования жесткость биомеханической системы: «АСМ зонд – нативный объект (фибробласт) – коллагеновая подложка» не зависит от радиуса кривизны зонда, если этот радиус порядка или менее 100 нм.

По сути, результат также демонстрирует реализацию АСМ методики обнаружения неоднородности механических свойств различных по глубине залегания слоев клеток. Идея заключается в манипуляции формой кончика зонда и исследовании объекта двумя типами субмикронных кончиков (пирамидальной и сферической формы) и сравнении детектируемых значений контактной жесткости. В частности, применяя эту методику, выявлено, что внешние слои фибробласта ведут себя как жесткая по отношению к цитоплазме оболочка.

2. Достоверно обнаружено существенное расхождение средних значений модуля Юнга сенсорных нейронов при измерении в квазистатическом режиме АСМ стандартными кантилеверами различных типов. Результат наглядно проявляет важность сохранения неизменной геометрии кантилевера при накоплении статистики измерений модуля Юнга клеток выбранного типа.

Возможна и более широкая трактовка результата, не вошедшая в диссертацию, но весьма обещающая для разработки новой АСМ методики изучения нативных клеток. М. М. Халисов использовал в экспериментах три типа кантилеверов: с большим отношением высоты зонда к длине консоли, средним и маленьким. Если зонд не скользит по образцу, то первый тип кантилеверов наименее чувствителен к анизотропии в контактной жесткости, а последний – наиболее. Анализируя измеренные различия в кажущейся средней жесткости контакта зонд-клетка в зависимости от типа кантилевера, можно показать, что локально поверхность нейрона сильнее реагирует на сдвиг, чем на нормальную нагрузку (механический аналог такой поверхности – щетка).

Нельзя обойти стороной и другие достижения работы. Например, для нативных эритроцитов М. М. Халисов обнаружил, что потерявшие

оптический контраст клетки на самом деле не исчезли, а увеличились в объеме и, что особенно интересно, упрочнились более чем в три раза. Очень важно также, что анализируя огромное количество кропотливых экспериментов с эндотелиальными клетками удалось доказать, что измеряемый в АСМ модуль Юнга является индикатором состояния клетки даже если индентируются очень тонкие ее слои, лежащие на твердой подложке, высотой ~ 100 нм.

Все эти наработки были использованы М. М. Халисовым в исследованиях по АСМ детектированию отклика нативных сенсорных нейронов куриных эмбрионов на неопиоидный (не вызывающий привыкания) анальгетик убаин. Получен очень существенный для медицины результат. Показано, что независимо от типа подложки (полилизин или фибронектин), на которой находились клетки, убаин упрочняет сому нейронов.

Вышесказанное говорит о М. М. Халисове как о вполне созревшем экспериментаторе. М. М. Халисов написал диссертацию и автореферат не противоречащие друг другу, в которых достаточно ясно и исчерпывающе описал основные результаты работы. По теме диссертации подготовлено и опубликовано 24 сообщения, в том числе пять статей в журналах ВАК (в четырех из них М. М. Халисов первый соавтор). В 2014-2016 годах работы по теме диссертации были поддержаны проектами РФФИ и РНФ.

Представленная к защите диссертационная работа соответствует профилю специальности 01.04.01 – Приборы и методы экспериментальной физики, а ее автор Максим Миндигалеевич Халисов заслуживает присуждения степени кандидата технических наук.

Научный руководитель, доктор физико-математических наук,
старший научный сотрудник ФТИ им. А. Ф. Иоффе РАН,
доцент Университета ИМТО.



Анкудинов Александр Витальевич.