

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора технических наук, профессора
Абиева Руфата Шовкетовича
на диссертацию Посмитной Яны Станиславовны
по теме: «Разработка микрофлюидных устройств из полимерных
материалов для амплификации и разделения нуклеиновых кислот»,
представленную на соискание ученой степени кандидата технических
наук по специальности 01.04.01 – Приборы и методы
экспериментальной физики

Актуальность

Объем рынка микрофлюидных устройств (по данным Yole Développement, Emerging Markets for Microfluidic Application) к 2020 г. эксперты оценивают примерно в 5,95 млрд долларов. Наибольший рост рынка в ближайшее время прогнозируется для систем ориентированных на фармацевтические исследования и диагностики на месте события (point-of-care). На текущий момент времени более 50% микрофлюидных устройств используется в фармацевтических исследованиях и в науках о жизни, около 14% – в клинической и ветеринарной диагностике. Микрофлюидные устройства востребованы при применении методов молекулярного анализа, в том числе при амплификации и секвенировании нуклеиновых кислот.

Несмотря на то, что исследования и разработки в области микрофлюидики проводятся более 25 лет, только лишь отдельным зарубежным компаниям удалось наладить выпуск коммерческих приборов. Примером являются варианты коммерческих систем для цифровой ПЦР на принципах «капельной» микрофлюидики, выпускаемые компаниями BioRad и Rain Dance Tech. «Капельная» микрофлюидика обладает высоким потенциалом возможностей для реализации как аналитических операций, так и химического и биохимического синтеза веществ, исследования отдельных клеток и изучения процессов их функционирования, скрининга лекарственных средств и др. Поэтому развитие принципов и методов создания аналитических систем для нанобиотехнологии на основе микро- и нанофлюидных устройств имеет особое значение, поскольку эти устройства могут рассматриваться как основа современных приборных комплексов.

В связи с вышеизложенным, диссертационная работа Посмитной Я.С., посвященная разработке и апробации способов быстрого прототипирования полимерных микрофлюидных устройств для методов молекулярной диагностики, является, бесспорно, востребованной и актуальной.

Достоверность и новизна исследований, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Достоверность основных положений и результатов диссертации подтверждается корректностью постановки задач, применением современных приборных средств и методик исследований, соответствием результатов данной диссертационной работы с данными экспериментальных исследований, полученных другими методами и другими научными коллективами.

Экспериментальные результаты получены при использовании взаимодополняющих современных методов исследования (конфокальной лазерной сканирующей микроскопии, ближнепольной оптической микроскопии, профилометрии, оптической микроскопии, оптической спектрофотометрии и флуориметрии) на сертифицированном оборудовании, достоверность результатов экспериментальных исследований подтверждена многократно воспроизводимыми экспериментами; сравнение полученных в диссертации результатов и данных, полученных ранее по рассматриваемой тематике в независимых источниках, позволило установить их качественное и количественное совпадение, в тех случаях, когда такое сравнение является обоснованным.

Научная ценность диссертации состоит в результатах комплексных исследований, касающихся: поиска и выбора альтернативных материалов для изготовления мастер-форм и микрофлюидных чипов, их изучения, адаптации метода «мягкой» литографии для условий исследовательских лабораторий, изготовления прототипов МФЧ и их апробации на тестовых системах.

Практическая значимость работы заключается в развитии и совершенствовании метода «мягкой» литографии для изготовления полимерных МФЧ, применимого в условиях исследовательской лаборатории и позволяющего: повысить воспроизводимость реплицируемых микроструктур; расширить перечень материалов, актуальных для микрофлюидных приложений; снизить стоимость и сократить длительность исследований при разработке новых методов анализа.

Основные результаты диссертации были представлены на международных и российских научных конференциях, в том числе: 4th International School and Conference «Saint Petersburg OPEN 2017» (г. Санкт-Петербург), Les Rencontres Scientifiques d'IFP Energies nouvelles. Microfluidics: from laboratory tools to process development, 2015 г. (г. Рюэй-Мальмезон, Франция), ICMN 2015: XIII International Conference on Microfluidics and Nanofluidics (г. Прага, Чешская Республика), Международная конференция по микрофлюидике EMBL Microfluidics Conference, 2014 г., (г. Гейдельберг, Германия), Форум молодых ученых России и Китая, Китайско-российский двусторонний симпозиум новых материалов и технологий, 2014 г. (г. Циндао, Китай).

Оформление диссертационной работы. Диссертация написана ясным научным языком, ее положения сформулированы логически корректно, материал изложен последовательно. Стиль и оформление работы не вызывают замечаний.

Автореферат полностью соответствует диссертационной работе и публикациям по тематике исследований, отражает ее основное содержание.

Общая характеристика работы

Представленная диссертационная работа изложена на 177 страницах и состоит из введения, четырех глав, заключения, списка литературы из 163 наименований, приложений. Основные результаты по теме диссертации опубликованы в 16 печатных работах, 6 из которых изданы в журналах, рекомендованных ВАК РФ, и 10 работ – в сборниках трудов конференций и тезисов докладов.

Первая глава посвящена обзору исследований, касающихся изготовления микрофлюидных устройств для методов молекулярного анализа. Подробно описан метод «мягкой» литографии, а также методы целевой модификации материалов, используемых для изготовления МФЧ. Уделяется внимание особенностям создания МФЧ из полидиметилсилоксана (ПДМС), как наиболее распространенного в микрофлюидике материала. На основании обзора сформулированы цель и задачи диссертационного исследования.

Во второй главе приведены результаты комплексных исследований механических, физико-химических и оптических свойств эластичных (ПДМС Sylgard® 184, Пентэласт®-712, Lasil T-4, КРЕОЛ) и твердых (Resine Epoxy R123, ПЭО-221К и ПЭО-510КЭ-20/0) полимерных материалов: оценки модуля упругости микроскопическим и макроскопическим методами, оценки смачивания поверхности до и после различных способов целевой модификации, спектральные зависимости светопропускания и уровня фоновой флуоресценции материалов. Представлены результаты проверки материалов на ингибирование ПЦР.

Третья глава посвящена технологическим исследованиям по совершенствованию метода «мягкой» литографии, выбору альтернативных полидиметилсилоксану материалов для изготовления МФЧ. Рассматриваются варианты получения мастер-форм из эпоксидных компаундов путем «двойной» отливки (с использованием промежуточной реплики) и металлических материалов методами лазерной микрообработки и гравировки. Описаны результаты исследований по снижению шероховатости металлических мастер-форм с применением электронно-лучевой, электролитно-плазменной обработки и магнетронного нанесения слоя хрома.

Проведен анализ оценок воспроизводимости микроструктур в мастер-формах из эпоксидных компаундов, полученных с использованием «промежуточной» ПДМС-реплики. Выявлены отклонения размеров микроструктур отпечатка ПДМС от соответствующих размеров структур мастер-форм: а) из кремния и фоторезиста, б) из эпоксидного компаунда ПЭО-221К и в) латунного сплава ЛС59-1. Рассмотрены способы герметизации конструкций МФЧ и проведено их сравнение на основе данных об испарении буферного раствора из реакционных камер при имитации температурного режима изотермической амплификации.

В *четвертой главе* приведены результаты успешных испытаний прототипов трех конструкций МФЧ: для амплификации нуклеиновых кислот на основе метода изотермической амплификации в макроэмульсиях и полимеразной цепной реакции в жидкости, а также для электрофоретического разделения смеси олигонуклеотидов.

В *Заключении* представлены основные результаты диссертационной работы.

Приложения содержат дополнительные материалы, полученные при проведении экспериментальных исследований и определении необходимых оценок.

Отмечая достаточно высокий уровень представленной диссертационной работы, следует указать на **ряд вопросов и замечаний**:

1. В диссертационной работе проведен большой объем экспериментальных исследований. Было бы целесообразно в ряде случаев сделать некоторые теоретические оценки полученных результатов, провести численные исследования процессов и явлений.
2. Можно ли по результатам исследования сделать какие-либо обобщения, перенося полученные закономерности на схожие по составу материалы? Поддается ли прогнозированию работа МФЧ, имеющих структуру, аналогичную исследованным МФЧ, и в каком диапазоне изменения параметров?
3. П. 2.2.2 диссертации (с. 71 и далее): при поиске оптимальных химических растворов и других средств для модификации поверхности ПДМС использование знаний о химических свойствах ПДМС позволило бы сузить область поиска методов модификации.
4. На рис. 3.15–3.17 линии, проведенные под углом 45° к осям координат, облегчили бы восприятие информации о корреляции размеров микроструктур.
5. С. 49, рис. 1.8. Угол тета (θ) на левой части рисунка указан некорректно.
6. С. 55. Модель DMT разработана русскими (советскими) учеными Дерягиным, Мюллером и Топоровым, и их фамилии можно было представить по-русски.
7. С. 61–62. Графики «усилие–относительная деформация» на рис. 2.4–2.6 построены не из нулевых значений, хотя сдвиг нуля имеет место. Тест на сжатие для определения модуля упругости на основании макроскопических измерений проводился с образцами длиной 4 мм и диаметром 5 мм. В диссертации не приведены данные о точности измерений усилия (массы) и размеров, не оценена погрешность метода. Уместно также было бы оценить роль трения между площадкой наконечника и образцом в создании поперечных усилий.

В целом, отмеченные недостатки носят частный или рекомендательный характер, не затрагивают существа выносимых на защиту положений и не могут изменить общей высокой оценки работы.

Диссертационная работа Посмитной Яны Станиславовны «Разработка микрофлюидных устройств из полимерных материалов для амплификации и разделения нуклеиновых кислот» является целостным, самостоятельным научным исследованием, отличающимся своей новизной.

Соответствие содержания диссертации специальности 01.04.01 – Приборы и методы экспериментальной физики.

Диссертационная работа Посмитной Я.С. посвящена развитию современных методов и подходов, используемых при разработке и создании микрофлюидных устройств из полимерных материалов, которые являются ключевыми элементами новых приборов, предназначенных для экспериментальных исследований в физике (микродинамике), химии (синтез веществ), биологии и медицине (исследование биологических объектов), фармакологии (скрининг лекарственных средств). В работе представлены результаты, полученные при проведении исследований оптических, физико-химических и механических свойств эластичных и твердых прозрачных материалов, которые перспективны при создании микроразмерных структур для прототипов микрофлюидных чипов методами «мягкой» литографии, что существенно расширяет возможности данного метода.

Вышеуказанное свидетельствует, что диссертационная работа соответствует формуле специальности 01.04.01 – Приборы и методы экспериментальной физики.

Заключение

Представленная на рассмотрение диссертационная работа полностью удовлетворяет требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» (утв. Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, ред. от 28.08.2017 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор – Посмитная Я.С. заслуживает присуждения степени кандидата технических наук по специальности 01.04.01 – Приборы и методы экспериментальной физики.

Официальный оппонент

заведующий кафедрой оптимизации химической и биотехнологической аппаратуры Санкт-Петербургского государственного технологического института (технического университета),

доктор технических наук, профессор

Абиев Руфат Шовкетович

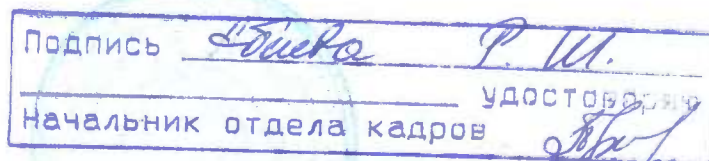
«05» января 2017 г

Телефон: +7-921-752-63-00

e-mail: rufat.abiev@gmail.com

Адрес: 190013, г. Санкт-Петербург, Московский пр., д. 26

<http://technolog.edu.ru/>



Р. Ю. Шовкетович