

УТВЕРЖДАЮ
Проректор по научной работе
Университета ИТМО
д.т.н., профессор



В.О. Никифоров

« 20 » июня 2017 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Санкт-Петербургского национального исследовательского университета информационных технологий, механики и оптики (Университет ИТМО)
Министерства образования и науки Российской Федерации

Диссертация «Разработка микрофлюидных устройств из полимерных материалов для амплификации и разделения нуклеиновых кислот» выполнена на кафедре нанофотоники и метаматериалов.

В период подготовки диссертации соискатель Посмитная Яна Станиславовна работала в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургском национальном исследовательском университете информационных технологий механики и оптики» Министерства образования и науки Российской Федерации, кафедра НиМ, ассистент; федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Институте аналитического приборостроения Российской академии наук», лаборатория информационно-измерительных био- и хемосенсорных микросистем, инженер.

В 2013 г. окончила федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий механики и оптики» Министерства образования и науки Российской Федерации по направлению 200100.68 Приборостроение.

В настоящее время является аспирантом федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий механики и оптики» (Университет ИТМО) Министерства образования и науки Российской Федерации, кафедра нанофотоники и метаматериалов по специальности 05.11.14 Технология приборостроения.

Справка об обучении в аспирантуре №24/2017 выдана в 2017 г. федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего образования «Санкт-Петербургским национальным исследовательским университетом информационных технологий механики и оптики» Министерства образования и науки Российской Федерации.

Научный руководитель – Евстапов Анатолий Александрович, д.т.н., старший научный сотрудник, федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт аналитического приборостроения Российской академии наук», лаборатория информационно-измерительных био- и хемосенсорных микросистем, заведующий лабораторией; федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий механики и оптики» (Университет ИТМО) Министерства образования и науки Российской Федерации, кафедра нанофотоники и метаматериалов, профессор.

По итогам рассмотрения принято следующее заключение:

1. Личное участие соискателя ученой степени в получении результатов, изложенных в диссертации.

Личный вклад соискателя состоит в постановке задач работы, анализе литературных источников по теме диссертации, организации и проведении экспериментальных исследований (определение оценок светопропускания и флуоресценциополимерных материалов и многослойных конструкций, исследование влияния методов обработки на смачиваемость поверхности материалов, изготовление и испытания на герметичность микрочиповых устройств, исследовании изменения топологии поверхности материалов методами микроскопии высокого разрешения – сканирующей ближнепольной микроскопии и конфокальной лазерной микроскопии, постановке и проведения амплификации нуклеиновых кислот на созданных прототипах устройств, измерении электроосмотического потока в микрофлюидном чипе), обработке и анализе экспериментальных данных, подготовке научных публикаций, вклад в которые соизмерим со вкладом соавторов. Основные экспериментальные результаты, представленные в диссертации, получены автором лично.

В диссертации, обобщающей проводимые соискателем с 2013 года исследования, представлены результаты, способствующие развитию метода «мягкой» литографии для оперативного создания микрофлюидных чипов, предназначенных для методов молекулярно-генетического анализа биологических проб.

2. Степень достоверности результатов проведенных соискателем ученой степени исследований.

Экспериментальные результаты получены при совместном 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 авторских данных и данных, полученных ранее по рассматриваемой тематике позволило установить качественное и количественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике, в тех случаях, когда такое сравнение является обоснованным. Результаты проведения амплификации нуклеиновых кислот на микрофлюидном чипе контролировались и сравнивались с референтным методом анализа – ПЦР-РВ, осуществленным на серийно выпускаемом сертифицированном приборе АНК-32 (ИАП РАН).

3. Новизна и практическая значимость.

Научная новизна

1. Впервые проведенный комплекс исследований оптических, физико-химических и механических (модуль упругости) свойств материалов позволил выбрать и обосновать перспективность применения эпоксидных композиций (ПЭО-221К и ПЭО-510КЭ) в методах оперативного изготовления микрофлюидных устройств.
2. Проведена оценка величины фоновой флуоресценции и светопропускания материалов для микрофлюидных чипов, в том числе конструкций с интегрированными полимерными пленками, на основании которой выработаны рекомендации по применению полимерных материалов в устройствах для обнаружения нуклеиновых кислот с флуоресцентным детектированием.
3. Предложены и обоснованы новые подходы при создании прототипов микрофлюидных чипов, позволяющие модифицировать метод «мягкой» литографии (использовать мастер-формы, полученные при дополнительной репликации или созданные методом лазерной микрообработки). При этом расширяются возможности метода (изготовление микрофлюидных чипов из твердых композиций), снижаются затраты при сокращении времени изготовления микрочипов.
4. На примере регистрации результатов изотермической амплификации участка гена GAPDH показана возможность детектирования флуоресценции от отдельных макроэмульсий в транспортном потоке на микрофлюидном чипе с генератором капель, что обеспечивает высокопроизводительный анализ нуклеиновых кислот.

Практическая значимость

1. Предложен подход, позволяющий усовершенствовать метод «мягкой» литографии и заключающийся в использовании шаблонов (мастер-форм) из металлических сплавов (дюраль, латунь), полученных методами лазерной микрообработки, что обеспечивает возможность многократной воспроизводимой репликации микроструктур при снижении времени и затрат на изготовление шаблона.
2. Разработаны и созданы микрофлюидные чипы из ПДМС (Sylgard[®] 184, США) с интегрированными полиолефиновой пленкой (Sarstedt AG&Co., Германия) и пленкой циклоолефинового сополимера (ZEONEX[®], ZEON EUROPE GmbH, Германия), предназначенные для амплификации нуклеиновых кислот. Встраивание пленок позволяет значительно снизить испарение реакционной смеси из рабочей камеры микрочипа при ее нагреве и охлаждении до уровня, обеспечивающего проведение ПЦР (40-50 циклов термоциклирования).
3. Впервые предложен способ изготовления мастер-форм и микрофлюидных чипов для экспериментальных исследований (на примере реализации метода амплификации нуклеиновых кислот) из эпоксидных композиций отечественного производства (ПЭО-221К, ПЭО-510КЭ 20/0, СПбГТИ (ТУ),

Россия), позволяющий осуществлять прототипирование чипов в условиях исследовательской лаборатории.

4. Результаты работы, связанные с созданием микрофлюидных чипов с генератором капель, предназначенных для методов амплификации нуклеиновых кислот, использованы при выполнении проекта «Микроустройства на основе принципов «капельной» микрофлюидики для химического и биологического анализа» Программы фундаментальных исследований президиума РАН № 8 «Химический анализ и исследование структуры веществ: фундаментальные основы и новые методы».

4. Ценность научных работ соискателя ученой степени.

Ценность научных работ соискателя заключается в:

1. результатах, полученных при проведении комплекса исследований оптических, физико-химических и механических (модуль упругости) свойств эластичных (полидиметилсилоксан, силиконовые композиции) и твердых прозрачных (эпоксидные композиции) материалов, которые могут использоваться при создании микроразмерных структур для прототипов микрофлюидных чипов, предназначенных для экспериментальных исследований в физике (гидродинамика), биологии и медицине (исследование биологических объектов, амплификация нуклеиновых кислот, разделение биомолекул);

2. предложенных и обоснованных новых подходах созданию прототипов микрофлюидных чипов, основанных на использовании дополнительных эластомерных или твердых мастер-форм (шаблонов), что позволяет модифицировать метод «мягкой» литографии и существенно расширить его возможности (обеспечить изготовление оптически прозрачных микрофлюидных чипов из твердых полимерных эпоксидных композиций).

Диссертация соответствует научной специальности: 01.04.01 «Приборы и методы экспериментальной физики», а также требованиям, установленным п.14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (ред. от 10.06.2017).

5. Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем.

5.1. Научные издания, входящие в международные реферативные базы данных и системы цитирования.

Нет.

5.2. Научные издания, входящие в перечень российских рецензируемых журналов.

1. *Посмитная Я.С., Букатин А.С., Макаров Д.А., Юдин К.В., Евстратов А.А.* Альтернативные подходы при создании мастер-форм для изготовления микрофлюидных чипов методом "мягкой" литографии // Научное приборостроение, № 2 (Т. 27), 2017.С. 13-20. 0,5 п.л. / 0,4 п.л.
2. *Игнатчик М.М., Посмитная Я.С., Евстратов А.А.* Исследование изменения свойств смачивания поверхности полидиметилсилоксана и канала

- микрофлюидного чипа после воздействия высокочастотной плазмой в среде кислорода // Научное приборостроение, №1 (Т. 26), 2016.С. 41-46.0,375 п.л. / 0,125 п.л.
3. Кухтевич И.В., Посмитная Я.С., Белоусов К.И., Букатин А.С., Евстапов А.А. Принципы, технологии и устройства "капельной" микрофлюидики. Ч.1 (обзор) // Научное приборостроение, №3 (Т. 25), 2015. С. 65-85. 1,313 п.л. / 0,263 п.л.
 4. Кухтевич И.В., Посмитная Я.С., Белоусов К.И., Букатин А.С., Евстапов А.А. Принципы, технологии и устройства "капельной" микрофлюидики. Ч.2 (обзор) // Научное приборостроение, №3 (Т. 25), 2015. С. 94-109. 1,0 п.л. / 0,2 п.л.
 5. Буляница А.Л., Посмитная Я.С., Рудницкая Г.Е., Лукашенко Т.А., Цымбалов А.И., Евстапов А.А. Стекло-полимерные микрофлюидные чипы для электрофоретического разделения биомолекул // Научное приборостроение, №4 (Т. 24), 2014.С. 67-76.0,625 п.л. / 0,104 п.л.
 6. Рудницкая Г.Е., Лукашенко Т.А., Посмитная Я.С., Тупик А.Н., Евстапов А.А. Физико-химические методы модификации поверхности полиметилметакрилата для микрофлюидных чипов // Научное приборостроение, № 3 (Т. 24), 2014.С. 22-31. 0,625 п.л. / 0,125 п.л.
 7. Посмитная Я.С., Евстапов А.А. Спектрофотометрический контроль соединения оптически прозрачных материалов и тонких слоев // Научное приборостроение, № 1 (Т. 24), 2014.С. 152-156. 0,313 п.л. / 0,157 п.л.

5.3. Публикации, которые приравниваются к рецензируемым научным изданиям.

Нет.

5.4. Публикации в иных изданиях.

1. Y.S. Posmitnaya, G.E. Rudnitskaya, A.N. Tupik, T.A. Lukashenko, A.S. Bukatin, A.A. Evstapov. Polymer-based microfluidic chips for isothermal amplification of nucleic acids // The Book of Abstracts 4th International School and Conference «Saint Petersburg OPEN 2017», Academic University Publishing St. Petersburg, 2017, p. 181-182.
2. Посмитная Я.С., Касымбекова К.Б., Дутбайева Д.М., Рудницкая Г.Е., Тупик А.Н., Лукашенко Т.А., Букатин А.С., Евстапов А.А. Особенности изготовления микрофлюидных устройств из полидиметилсилоксана для амплификации нуклеиновых кислот // Материалы международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биотехнологии, экологии и физико-химической биологии». 6-7 апреля 2017 г. – Алматы: Қазақ университеті, 2017. – с. 36-37.
3. Евстапов А.А., Рудницкая Г.Е., Буляница А.Л., Тупик А.Н., Лукашенко Т.А., Цымбалов А.И., Посмитная Я.С. Метод молекулярных колоний на стеклянных микрочиповых устройствах при определении РНК-онкомаркеров // Биология и фундаментальная медицина в Санкт-Петербурге, материалы совещания Объединенного научного совета СПбНЦ РАН, 14-15 апреля 2016 г., с. 59-62.

4. M.M. Ignatchik, Y.S. Posmitnaya, A.A. Evstrapov. Study of changes in the wetting properties of the channels of the PDMS microfluidic chip depending of storage time and modification methods. Les Rencontres Scientifiques d'IFP Energies nouvelles. Microfluidics: from laboratory tools to process development. Abstract volume, e-pub, 2 p. Rueil-Malmaison, France, 4-5 November 2015.
5. Y.S. Posmitnaya, G.E. Rudnitskaya, T.A. Lukashenko, A.S. Bukatin, A.A. Evstrapov. Design, development and testing of polymer-glass microfluidic chips for electrophoretic analysis of biological sample. ICMN 2015: XIII International Conference on Microfluidics and Nanofluidics. Prague Czech Republic Jul 09-10, 2015, 17 (7) Part III. P. 419.
6. Егоренкова Г.Ю., Посмитная Я.С. Исследование влияния поверхностно-активных веществ на размер эмульсий, формируемых в микрофлюидных устройствах. IV Всероссийский конгресс молодых ученых, 07-10 апреля 2015. Сборник тезисов докладов конгресса молодых ученых. Электронное издание. – СПб: Университет ИТМО, 2015.
7. Посмитная Я.С. Разработка стекляннопolyмерного микрофлюидного чипа для экспресс-анализа фрагментов ДНК методом электрофореза // Девятнадцатая Санкт-Петербургская Ассамблея молодых ученых и специалистов. Сборник тезисов. – СПб.: Издательство РГГМУ, 2014.– С. 184.
8. Посмитная Я.С., Рудницкая Г.Е., Лукашенко Т.А., Евstrapов А.А. Особенности изготовления микрофлюидных чипов из полидиметилсилоксана для анализа биологических проб // Сборник статей Седьмой международной научно-практической конференции «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине». 20-21 ноября 2014 г., Санкт-Петербург, Россия. – СПб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2014. – С. 78-82.
9. Посмитная Я.С., Рудницкая Г.Е., Лукашенко Т.А., Евstrapов А.А. Изменение оптических и поверхностных свойств полидиметилсилоксана при обработке физико-химическими методами // Сборник трудов II Международной научно-практической конференции «Sensorica - 2014». – СПб: НИУ ИТМО, 2014. – С. 137-138.
10. Посмитная Я.С. Изменение электроосмотической подвижности в стекляннопolyмерных микрофлюидных чипах при физико-химических способах обработки поверхности // Наука и инновации в технических университетах: материалы Восьмого Всероссийского форума студентов, аспирантов и молодых ученых.– СПб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2014.– С. 85-87.
11. Y.S. Posmitnaya, A.A. Evstrapov, G.E. Rudnitskaya, T.A. Lukashenko. Investigation of the effect of PDMS processing techniques on the surface morphology, optical properties and wettability // Abstracts of papers presented at the EMBL Conference Series Microfluidics 2014.– P. 142.
12. Y.S. Posmitnaya, A.A. Evstrapov, G.E. Rudnitskaya, T.A. Lukashenko. Creation and inspection of functional layers in polydimethylsiloxane microfluidic devices // 2014 Sino-Russian Young Scientist Forum and Symposium on Advanced Materials and Processing Technology. Abstracts – Qingdao, China, 2014.– P. 96-97.

13. Посмитная Я.С. Разработка и изготовление гибридного микрофлюидного чипа для полимеразной цепной реакции // Альманах научных работ молодых ученых Университета ИТМО.– СПб: Университет ИТМО, 2014.– С. 323-326.
14. Посмитная Я.С. Исследование химических способов обработки поверхности полиметилметакрилата для создания функциональных слоев в микрофлюидных устройствах // Сборник материалов IV Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего». – СПб.: Изд-во СПХФА, 2014.– С. 203-207.
15. Игнатчик М.М., Посмитная Я.С. Изучение влияния физико-химических методов модификации материалов на капиллярные эффекты в каналах микрофлюидных систем // Сборник тезисов докладов конгресса молодых ученых. Выпуск 2, 2014.– С. 344-345.
16. Посмитная Я.С. Исследование физических и химических методов обработки материалов микрофлюидных чипов для полимеразной цепной реакции // Научные работы участников конкурса «Молодые ученые НИУ ИТМО» 2013 года.– СПб: Университет ИТМО, 2014.– С. 149-156.
17. Посмитная Я.С. Разработка гибридного микрофлюидного чипа для полимеразной цепной реакции // Сборник работ студентов Университета ИТМО, победителей конкурса грантов правительства Санкт-Петербурга / Под.ред. В.О. Никифорова.– СПб.: Университет ИТМО, 2014.– С. 128-142.
18. Посмитная Я.С. Исследование методов обработки поверхности гибридных (полимер-стеклянных) микрофлюидных чипов для полимеразной цепной реакции // Наука и инновации в технических университетах: материалы Седьмого Всероссийского форума студентов, аспирантов и молодых ученых. – СПб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2013. – С. 105-107.
19. Посмитная Я.С. Разработка гибридного микрофлюидного чипа для полимеразной цепной реакции // Восемнадцатая Санкт-Петербургская Ассамблея молодых ученых и специалистов. Сборник тезисов – СПб.: Издательство РГГМУ, 2013. – С. 122.
20. Тупик А.Н., Посмитная Я.С., Рудницкая Г.Е., Евстапов А.А. Полимерные микрочиповые устройства для полимеразной цепной реакции // Сборник статей четвертой Международной научно-практической конференции "Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине" 15–16.11.2012 г., Санкт-Петербург, Т.1, С. 252–254.
21. Посмитная Я.С., Кухтевич И.В. Исследование свойств поверхности материалов микрофлюидных чипов методами лежащей капли и атомно-силовой микроскопии // Сборник тезисов докладов I Всероссийского конгресса молодых ученых, Выпуск 2. Труды молодых ученых / Главный редактор д.т.н., проф. В.О. Никифоров. – СПб: НИУ ИТМО, 2012. – С. 358.
22. Посмитная Я.С. Исследование методов целевой обработки поверхности стеклянных и полимерных материалов в микрофлюидных устройствах // Семнадцатая Санкт-Петербургская Ассамблея молодых ученых и специалистов. Сборник тезисов – СПб.: Издательство РГГМУ, 2012. – С. 90.

Диссертация «Разработка микрофлюидных устройств из полимерных материалов для амплификации и разделения нуклеиновых кислот» Посмитной Яны Станиславовны соответствует требованиям п. 9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (ред. от 10.06.2017) и пунктам 1 (Изучение физических явлений и процессов, которые могут быть использованы для создания принципиально новых приборов и методов экспериментальной физики) и 5 (Разработка и создание экспериментальных установок для проведения экспериментальных исследований в различных областях физики) Паспорта специальности ВАК технических наук по специальности 01.04.01 «Приборы и методы экспериментальной физики».

Диссертация рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 01.04.01 «Приборы и методы экспериментальной физики».

Заключение принято на заседании кафедры нанофотоники и метаматериалов Университета ИТМО.

Присутствовало на заседании 43 чел.

Результаты голосования: «за» - 43 чел., «против» - 0 чел., «воздержалось» - 0 чел., протокол № 7 от « 15 » июня 2017 г.

Председательствующий

(д.ф.-м.н., г.н.с.,
кафедра нанофотоники и метаматериалов, зав.каф.)

Белов П.А.

Подпись лица, оформившего заключение

(секретарь кафедры нанофотоники и метаматериалов, инж.)

Шикер А.Ю.

Не возвращать
Гончарова 40

ОТДЕЛ ПО РАБОТЕ
С ДИССЕРТАЦИОННЫМИ
СОВЕТАМИ УНИВЕРСИТЕТА
ИТМО

