

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Афоничевой Полины Константиновны на тему: «Разработка микрофлюидных устройств с интегрированными твердотельными наноструктурами для регистрации биомолекул», представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 1.3.2 - Приборы и методы экспериментальной физики

Использование микрофлюидных технологий открывает новые возможности для анализа широкого спектра аналитов различной природы. Одним из наиболее актуальных и перспективных приложений микрофлюидных технологий и соответствующих устройств является высокочувствительная детекция биологических макромолекул – ДНК, РНК, белков. В последнее время такие технологии нашли широкое применение при расшифровке последовательности ДНК, где в состав микрофлюидных чипов интегрируются биологические мембраны, в которых сформированы массивы нанопор, созданные трансмембранными белками, способными пропускать сквозь себя фрагменты одноцепочечной ДНК. Движение отрицательно заряженных молекул ДНК в электрическом поле *cis-trans* ячейки сопровождается изменением значений тока, связанным с прохождением объемной молекулы ДНК через пору размером в единицы нанометров. Преимуществом данных устройств (секвенаторов ДНК) является простота, возможность сверхвысокой чувствительности, обеспечивающая секвенирование единичных молекул, а недостатками – короткое время эффективной работы (до 48 часов) и низкая, по сравнению с другими методами точность расшифровки ДНК (95-98%). В настоящее время все больше исследователей пытаются уйти от биологических к физическим нанопорам, которые являются значительно более стабильным. В этом плане работа автора, несомненно, находится в тренде мирового развития и её актуальность не вызывает сомнений.

Для создания кремний-стеклянного микрофлюидного устройства, формирования мембраны из нитрида кремния и создания в ней nanoотверстий размером 5 нм применен ряд интересных технических решений. Методами атомно-силовой и растровой электронной микроскопии подтверждены заданные размеры каналов и диаметр нанопор созданных электрохимических ячеек. Разработаны протоколы химической обработки ячейки и подготовки анализируемых растворов, обеспечившие высокую стабильности последующих измерений. Проведены исследования ионного транспорта через

нанопору, позволившие независимо оценить ее диаметр с хорошей корреляцией с данными просвечивающей электронной микроскопии.

Интересными являются полученные автором данные по выделению нуклеиновых кислот в разработанном микрофлюидном чипе. Эффективность выделения, оцененная методом полимеразной цепной реакции в реальном времени, оказалась сопоставимой с ручным выделением в пробирке, что потенциально может обеспечить автоматизацию последовательных процессов выделения препарата нуклеиновых кислот и его дальнейшего анализа в нанопоре.

Крайне интересными являются данные, полученные автором работы в серии экспериментов по измерению транслокаций при прохождении через нанопору молекул ДНК разного размера (10 тысяч, 5 тысяч и 500 пар нуклеотидов). Экспериментально установлена корреляция между количеством и временем транслокаций и длиной молекул ДНК, загруженных в ячейку. Полученные данные позволяют надеяться, что в будущем можно будет осуществлять анализ и дискриминировать по длине молекулы ДНК с меньшей, вплоть до однонуклеотидной, разницей по длине, что чрезвычайно важно для решения задач по расшифровке последовательности ДНК.

Работа отличается высоким экспериментальным уровнем исполнения, созданы экспериментальные образцы микрофлюидных ячеек с параметрами, соответствующими лучшим мировым аналогам, заданные параметры ячеек подтверждены с использованием современных измерительных методов. Полученные на ячейке данные обладают новизной и не вызывают сомнений. Выводы соответствуют исследованиям автора. Диссертационная работа Афоничевой Полины Константиновны, представленная на соискание учёной степени кандидата технических наук, представляет собой завершённое научное исследование, решающее актуальную задачу в области разработки микрофлюидных устройств для исследования биологических молекул. Работа соответствует всем требованиям, установленным Положением о присуждении ученых степеней, утвержденным Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (в действующей редакции), и автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 1.3.2 - Приборы и методы экспериментальной физики.

Научный директор ООО «НПФ Синтол», к.б.н.
Алексеев Я.И.



05 мая 2025г.