



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ АНАЛИТИЧЕСКОГО ПРИБОРОСТРОЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

ул. Ивана Черных, 31-33, лит. А, Санкт-Петербург, 198095, а/я 140, тел.: (812) 363-07-19, факс: (812) 363-07-20
ОКПО 04699534, ОГРН 1027810289980, ИНН 7809003600, КПП 780501001, e-mail: iap@ianln.spb.su, www.iairas.ru

27.12.2024 № 10341-496/101



А.А. Евстапов

« 27 » декабря 2024 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения науки
Института аналитического приборостроения Российской академии наук (ИАП РАН)

Диссертация Афоничевой П.К. «Разработка микрофлюидных устройств с интегрированными твердотельными наноструктурами для регистрации биомолекул» на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 1.3.2 Приборы и методы экспериментальной физики выполнена в Института аналитического приборостроения РАН.

Соискатель Афоничева Полина Константиновна в 2017 г. окончила Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет «ЛЭТИ» им. В.И. Ульянова (Ленина)» по специальности/направлению 28.04.01 «Нанотехнологии и микросистемная техника».

С 2018 по 2022 год проходила обучение в очной аспирантуре Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения науки Института аналитического приборостроения Российской академии наук (ИАП РАН) по специальности 1.3.2 Приборы и методы экспериментальной физики.

В период подготовки диссертации Афоничева П.К. работала в должности младшего научного сотрудника в лаборатории информационно-измерительных био- и хемосенсорных систем ИАП РАН.

Научный руководитель — Евстапов Анатолий Александрович, доктор технических наук, директор ИАП РАН.

По итогам рассмотрения принято следующее заключение:

1. **Личный вклад соискателя** заключается в ключевой роли при получении всех представленных в диссертации результатов. Все эксперименты по разработке микрофлюидных устройств (МФУ) с наноканалами, исследованию селективных транспортных свойств твердотельных наноканалов и нанопор, разработка и создание электрохимической ячейки, протокола подготовки ячейки и методики проведения эксперимента для изучения механизмов селективного ионного транспорта, а также экспериментальные исследования транслокации фрагментов ДНК разной длины проводились лично соискателем, либо при его непосредственном участии. Соискатель принимал участие в постановке цели и задач исследования, активно обсуждал, интерпретировал и обрабатывал результаты исследований, в том числе подготавливал научные публикации.

2. **Достоверность научных достижений** соискателя обеспечивается корректной постановкой задач, многократным проведением экспериментов с воспроизводимыми результатами, применением современных средств и методов диагностики наноструктур, а также высоким соответствием теоретических оценок и экспериментальных данных. Результаты работы были представлены на 9 конференциях, в том числе на международных.

3. **Новизна выполненных исследований** заключается в том, что:

- Разработан новый способ создания устройства с наноразмерными каналами сочетающий методы оптической литографии и травления сфокусированного ионного луча, позволяющий изготовить кремний-стеклянные микрофлюидные устройства с системой микро- и наноканалов заданной геометрии и контролируемыми размерами. Герметизация анодным свариванием обеспечивает сохранение свойств устройства на срок не менее трех месяцев и устойчивость к агрессивным средам (кислоты, щелочи и др.).
- Разработаны: оригинальная электрохимическая ячейка (твердотельная SiN мембрана со встроенной твердотельной нанопорой), обеспечивающая герметичность системы, защиту от загрязнения и образования пузырей газа в процессе измерения, и новый протокол для подготовки и исследования транслокаций молекул, позволяющие получить воспроизводимые экспериментальные результаты.
- Разработана новая процедура анализа данных, позволяющая оценивать события транслокаций по пороговому значению, которая использовалась для обнаружения событий транслокаций для фрагментов ДНК длиной 10000 п.о., и построения зависимости амплитуды транслокаций от их длительности и

оценки частоты событий.

- Впервые экспериментально выявлена зависимость продолжительности транслокаций от длины при детектировании фрагментов ДНК длинами 5000 и 500 п.о. Продемонстрировано, что при данных длинах фрагментов продолжительность транслокаций различается на 35%.

4. Практическая значимость полученных результатов:

- Разработан и апробирован новый способ создания многоцветных кремний-стеклянных МФУ с наноканалами заданной геометрии и контролируемыми размерами, устойчивых к давлению до 2 атм. и воздействию агрессивных сред (серная кислота, некоторые щелочи) а также биосовместимостью. Способ может быть использован для создания МФУ с селективным транспортом для биомедицинских применений.
- Разработана и апробирована конструкция электрохимической измерительной ячейки с твердотельными нанопорами, с помощью которой проведены исследования по обнаружению единичных биомолекул (фрагменты ДНК).
- Разработан и апробирован протокол подготовки экспериментальной ячейки и образца, представляющего собой свободно-подвешенную мембрану с одиночной нанопорой, позволяющий повысить точность и воспроизводимость измерений за счет герметичности системы и устранения образования пузырьков газа в области поры.
- Продемонстрированная возможность электрохимического детектирования одиночных молекул ДНК с помощью твердотельной нанопоры, а также способность различать фрагменты ДНК разных длин, создает основу для создания твердотельного нанопорового сенсора.

Диссертация соответствует паспорту научной специальности: 1.3.2 «Приборы и методы экспериментальной физики», области знаний Технические науки», а именно, пунктам 1, 2 и 4 «Изучение физических явлений и процессов, которые могут быть использованы для создания принципиально новых приборов и методов экспериментальной физики», «Разработка новых принципов и методов измерений физических величин, основанных на современных достижениях в различных областях физики и позволяющих существенно увеличить точность, чувствительность и быстродействие измерений» и «Разработка и создание экспериментальных установок для проведения экспериментальных исследований в различных областях физики».

5. Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных

соискателем.

Основное содержание диссертации опубликовано в 12 печатных трудах, рецензируемых Web of Science, Scopus и РИНЦ. Материалы диссертации изложены в работах соискателя [1 —12] В работе [1] описано выделение нуклеиновых кислот с помощью магнитных частиц в микрофлюидном чипе в сравнении с ручным методом. В работах [2-4] описан способ изготовления кремний-стеклянного микрофлюидного устройства с наноканалами травлением сфокусированным ионным лучом, исследование ионного транспорта в наноканалах, а также применение чипа для детектирования нуклеиновых кислот методом ПЦР. В работе [5] представлен обзор, посвященный микрофлюидному синтезу оптически чувствительных материалов для нано- и биофотоники, освещающий, в частности, основы микрофлюидики и общие соображения, которые могут быть использованы при проектировании микрофлюидных чипов. В работах [6-10] представлены исследования ионного транспорта в твердотельных свободно-подвешенных SiN мембранах с одиночными нанопорами. В работах [11-12] представлены результаты электрохимического детектирования биомолекул с помощью твердотельной нанопоры.

Список статей, индексируемых в базах данных Scopus, WoS, РИНЦ, в которых содержатся основные результаты диссертации:

1. **Afonicheva P. K.**, Esikova N. A., Tupik A. N., Evstrapov A. A. Magnetic beads-based nucleic acids extraction in microfluidic chip //Journal of Physics: Conference Series. IOP Publishing, 2019. V. 1400, №. 3. P. 033012.
2. D Lebedev, G Malyshev, I Ryzhkov, A Mozharov A, K Shugurov, V Sharov, M Panov, I Tumkin, **P Afonicheva**, A Evstrapov, A Bukatin, I Mukhin. Focused ion beam milling based formation of nanochannels in silicon-glass microfluidic chips for the study of ion transport //Microfluidics and Nanofluidics. 2021. V. 25, №. 6. P. 1-10.
3. **P Afonicheva**, A Zubik, A Bulyanitsa, G Rudnitskaya, A Evstrapov. Multichamber hybrid microfluidic chips for nucleic acids detection by qPCR assay.// Journal of Physics: Conference Series (JPCS). 2020. V.1695. P.012060.
4. **Afonicheva P.** et al. Creation of micro- and nanochannels on the surface of silicon chips by lithography methods and investigation of ion transport in channel //Journal of Physics: Conference Series. – IOP Publishing, 2021. V. 2103, №. 1. P. 012112.
5. Koryakina I. G., **Afonicheva, P. K.**, Arabuli K. V., Evstrapov A. A., Timin A. S., Zyuzin M. V. Microfluidic synthesis of optically responsive materials for nano-and biophotonics //Advances in Colloid and Interface Science. 2021. V. 298. P. 102548.


6. **Afonicheva P.K.**, Vaulin N.V, Lebedev D.V., Bukatin A.S., Mukhin I.S., Evstrapov A.A., Investigation of ion transport in solid-state nanopores upon optical radiation//St. Petersburg State Polytechnical University Journal. Physics and Mathematics. 2023. V.16, №1.1. P.389–392.
7. Vaulin N.V, **Afonicheva P.K.**, Lebedev D.V., Bukatin A.S., Mukhin I.S., Study of ion transport in single solid state nanopores formed by optical and ion lithography, St. Petersburg State Polytechnical University Journal. Physics and Mathematics. 16 (1.1) (2023) 385–388.
8. Ваулин Н.В., **Афоничева П.К.**, Лебедев Д.В., Букатин А.С., Мухин И.С., Евстрапов А.А. Исследование фотоиндуцированных процессов в единичных твердотельных нанопорах с интегрированными плазмонными структурами. // Физика твердого тела. 2023. Т.12. С. 2201
9. **Афоничева П.К.**, Ваулин Н.В., Лебедев Д.В., Букатин А.С., Мухин И.С., Евстрапов А.А. Влияние оптического излучения различной длины волны на транспортные характеристики тонких SiN-мембран с интегрированными единичными нанопорами. //Письма в журнал технической физики. 2023. V23. P. 35.
10. Lebedev D. V., Vaulin N. V., **Afonicheva P. K.**, Vorobyov A. A., Mozharov A. M., Sharov V. A., Mikhailovskii V. Yu, Kirilenko D. A., Permyakov D.V., Logunov L. S., Ivanov Yu. D. , Ryzhkov I. I., Bukatin A. S., Evstrapov A. A., Makarov S. V., Mukhin, I. S. Ultra-Low Intensity Light-Driven Ionic Conductivity through a Plasmonic Nanopore //ACS Applied Nano Materials. 2024. Vol. 7, №.14, P. 16172–16181 Q1
11. **Афоничева П.К.**, Ваулин Н.В., Лебедев Д.В., Букатин А.С., Кириленко Д.А., Аблеев А.Н., Иванов Ю.Д., Мухин И.С., Евстрапов А.А. Электрохимическое детектирование одиночных молекул ДНК с помощью твердотельной нанопоры. // Научное приборостроение, 2024. Т.34, № 4, С. 34–42
12. Ivanov YD, Vinogradova AV, Nevedrova ED, Ableev AN, Kozlov AF, Shumov ID, Ziborov VS, Afonin ON, Vaulin NV, Lebedev DV, Bukatin AS, **Afonicheva PK**, Mukhin IS, Usanov SA, Archakov AI. Solid-State Nanopore-Based Nanosystem for Registration of Enzymatic Activity of a Single Molecule of Cytochrome P450 BM3.//International Journal of Molecular Sciences. 2024. V. 25, №. 19. P. 10864.

Диссертация «Разработка микрофлюидных устройств с интегрированными твердотельными наноструктурами для регистрации биомолекул» Афоничевой Полины Константиновны соответствует требованиям пп. 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ N: 842 от 24 09.2013 г. (с учетом изменений и дополнений до 25 января 2024 г. включительно).

Диссертация Афоничевой Полины Константиновны «Разработка микрофлюидных устройств с интегрированными твердотельными наноструктурами для регистрации биомолекул» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 1.3.2 «Приборы и методы экспериментальной физики».

Заключение подготовлено на заседании Объединенного научного семинара Института аналитического приборостроения РАН (протокол № 11 от 12 декабря 2024 г.).

Председатель семинара

Главный научный сотрудник, д.ф.-м.н.  Явор М.И.

Секретарь

Вед. инспектор канцелярии  Хорошавина Л.П.

Подписи Явора М.И. и Хорошавиной Л.П. удостоверяю

Нач. отдела кадров



Иванова Е.Ю.
М.П.