

ФМБА РОССИИ

Федеральное
государственное бюджетное учреждение
«Федеральный научно-клинический центр
физико-химической медицины
имени академика Ю.М. Лопухина
Федерального медико-биологического
агентства»
(ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина
ФМБА России)

119435, Москва, ул. Малая Пироговская, д.1А
Тел. (499) 246-77-21 Факс (499) 246-44-09
<http://www.rcpcm.org>, e-mail: miifun@fmba.ru

30.04.2025 № 756

На № _____ от _____

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
Федерального государственного
бюджетного учреждения
«Федеральный научно-клинический
центр физико-химической медицины
имени академика Ю.М. Лопухина
Федерального медико-биологического
агентства», д.б.н.
М.А. Лагарькова



«30» апреля 2025 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения
«Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины
имени академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического
агентства»

(ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России)

на диссертационную работу **Афоничевой Полины Константиновны**
«РАЗРАБОТКА МИКРОФЛЮИДНЫХ УСТРОЙСТВ С
ИНТЕГРИРОВАННЫМИ ТВЕРДОТЕЛЬНЫМИ НАНОСТРУКТУРАМИ
ДЛЯ РЕГИСТРАЦИИ БИОМОЛЕКУЛ»,

представленную на соискание ученой степени кандидата технических наук
по специальности 1.3.2 – Приборы и методы экспериментальной физики

Актуальность диссертационной работы

Диссертационная работа Афоничевой П.К. посвящена актуальной научной задаче — разработке микрофлюидных устройств с интегрированными наноструктурами для детектирования биомолекул, таких как ДНК. Исследование находится на стыке микрофлюидики, нанотехнологий и молекулярной биологии, что соответствует современным тенденциям междисциплинарных исследований.

Современные методы молекулярного анализа используют биологические и твердотельные нанопоры, причем последние обладают ключевыми преимуществами: высокой стабильностью, управляемой геометрией и совместимостью с другими методами детектирования, что делает их перспективной платформой для диагностики. Однако, актуальными остаются исследования по повышению чувствительности твердотельных нанопор, оптимизации скорости транслокации ДНК и улучшению соотношения сигнал/шум для задач секвенирования ДНК и определения аминокислотной последовательности белков. Критически важным этапом является фундаментальное изучение механизмов ионного транспорта и селективных свойств наноструктур для создания эффективных сенсоров.

Научная новизна исследования

В диссертационной работе впервые описан метод создания микрофлюидных устройств с наноканалами, сочетающий оптическую литографию и травление сфокусированным ионным пучком. Автором предложена оригинальная конструкция герметичной электрохимической ячейки, содержащей SiN_x/Si -мембрану с нанопорой и обеспечивающей защиту от загрязнений и воспроизводимость измерений, а также новый протокол исследований ионного и молекулярного транспорта в такой ячейке.

Впервые представлена процедура анализа данных для детекции транслокаций, и продемонстрирована зависимость длительности событий от длины фрагментов ДНК (разница 35% для 500 и 5000 п.о.).

Практическая значимость

Практическая значимость диссертационной работы обусловлена возможностью использования предложенных устройств и методик для биомедицины ввиду их устойчивости к агрессивным средам и многоразовостью. Так, в рамках диссертации разработан и апробирован новый способ создания микрофлюидных устройств с наноканалами заданной

геометрии и контролируемыми размерами. Продемонстрирована возможность автоматизации процесса выделения нуклеиновых кислот из биоматериала на магнитных частицах в микрофлюидных чипах, что снижает риск контаминации, а также обеспечивает работу с микрообъемами образца. С помощью разработанной измерительной ячейки с твердотельной нанопорой продемонстрирована возможность электрохимического детектирования фрагментов ДНК, что может являться основой для дальнейшей разработки сенсора с одномолекулярной чувствительностью.

Полученные автором результаты представляют практический интерес и могут быть использованы в:

- Научных и образовательных центрах.
- Предприятиях, занимающихся разработкой и производством биологических сенсоров.

Конкретными потребителями результатов диссертационного исследования являются:

- Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (Москва)
- Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» (Москва)
- Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт спектроскопии Российской академии наук (Москва, Троицк)
- Московский государственный технический университет имени Н. Э. Баумана (Москва)
- Научно-производственная компания СИНТОЛ (Москва)
- ООО "НАНОПОРУС" (Серпухов)
- Центр технологий и микрофабрикации ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА Росси (Москва)

- АО «Светлана-Электронприбор» (Санкт-Петербург)
- ООО «Троицкий инженерный центр» (Москва, Троицк)

Структура и содержание работы, степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна

Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения и списка литературы. Работа изложена на 135 страницах текста, содержит 51 рисунок, 1 таблицу. Список литературы включает 180 источников.

В разделе **«Введение»** обосновывается актуальность темы исследования, приведены цели и задачи исследования, указаны научная новизна и практическая ценность, сформулированы положения, выносимые на защиту, отмечен личный вклад автора.

Первая глава посвящена анализу современного состояния проблемы, который подчеркивает актуальность исследований в области микро- и нанофлюидики, направленных на разработку новых устройств с интегрированными наноструктурами.

Во второй главе приведены процессы разработки и изготовления кремний-стеклянного микрофлюидного устройства (МФУ) с наноканалами, а также исследование ионной проводимости наноканалов.

В третьей главе приведены исследования твердотельных нанопор в свободноподвешенной SiNx/Si мембране, описано изготовление электрохимической измерительной ячейки, а также протокол ее подготовки и методика эксперимента по изучению механизмов селективного ионного транспорта.

В четвертой главе описаны экспериментальные исследования: выделение и обнаружение нуклеиновых кислот в пробе.

Раздел **«Заключение»** резюмирует полученные результаты, которые соответствуют поставленным в работе целям и задачам.

Из вышеизложенного следует, что диссертантом проделан достаточный объем работы, получены новые практические знания, которые, несомненно, могут иметь прикладной характер и использоваться в дальнейших разработках.

Достоверность и обоснованность положений и выводов диссертации

Диссертационная работа выполнена с использованием достаточного количества результатов экспериментальной работы, полученных с применением современных экспериментальных методов. Они представляются достоверными, а заключения, сделанные на основании полученных данных, и положения, выносимые на защиту, научно обоснованными.

Освещение диссертации в научной печати

Результаты работы и защищаемые положения прошли апробацию на десяти российских и международных конференциях. По теме диссертации автором опубликовано 12 печатных работ, среди которых 5 статей в изданиях, включенных в список ВАК РФ. Публикации соискателя отражают содержание диссертационной работы и подтверждают его личный вклад в проведенные исследования.

Замечания и вопросы к содержанию диссертационной работы

В тексте диссертационной работы встречается достаточно большое количество опечаток и неудачных выражений, которые преимущественно не относятся к научной сути работы.

В то же время имеются замечания и к основному содержанию работы:

1) Отсутствует раздел «материалы и методы». Используемые материалы и описание методов приведено в каждом разделе совместно с

результатами, что не совсем корректно. Правильнее было бы сделать полноценный раздел.

2) В тексте диссертации отсутствуют упоминания коллег, с которыми были выполнены те или иные этапы исследования. Между тем, судя по публикациям, на которые ссылается диссертант, в некоторых разделах, работы проводились совместно с другими исследователями. Благодарности, указанные отдельным пунктом, не являются сопоставимым обозначением причастности к выполнению данной работы.

3) Подписи к рисункам не имеют единообразия. Некоторые подписи неполно отражают содержание некоторых рисунков.

4) Рисунок 4.4. некорректный. Отсутствует маркер длины фрагментов. Изображение представлено вверх ногами и из-за этого неверно подписаны размеры длин.

5) Отсутствуют выводы. В заключении представлены кратко результаты работы.

6) Не совсем ясно почему в работе часть экспериментов, касающихся выделения ДНК на магнитных частицах с использованием микрофлюидного чипа, представлена в конце диссертации. Такое представление делает главу логически обособленной и трудно объединяемой с основной темой диссертации. Хотя сама работа по разработке микрофлюидной экстракции нуклеиновых кислот в чипе, несомненно, является важной на пути создания нанопорового биосенсора. Не представлено сравнение методики микрофлюидной экстракции нуклеиновых кислот с автоматическим выделением на станциях, что было бы корректнее сравнения с ручной методикой выделения.

Сделанные замечания не снижают ценность данной работы и значимость полученных в ней результатов.

**Заключение о соответствии диссертации критериям,
установленным требованиям**

Диссертационная работа Афоничевой Полины Константиновны «РАЗРАБОТКА МИКРОФЛЮИДНЫХ УСТРОЙСТВ С ИНТЕГРИРОВАННЫМИ ТВЕРДОТЕЛЬНЫМИ НАНОСТРУКТУРАМИ ДЛЯ РЕГИСТРАЦИИ БИОМОЛЕКУЛ», является самостоятельной научно-исследовательской квалификационной работой, посвященной разработке микрофлюидных устройств с твердотельными нанопорами. Тема и содержание диссертационной работы полностью соответствует выбранной специальности 1.3.2 – Приборы и методы экспериментальной физики (пункт 1 «Изучение физических явлений и процессов, которые могут быть использованы для создания принципиально новых приборов и методов экспериментальной физики», пункт 2 «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 пункт 4 «Разработка и создание экспериментальных установок для проведения экспериментальных исследований в различных областях физики») и соответствуют паспорту специальности.

По научной новизне, актуальности, объему и обоснованности научных результатов диссертация отвечает требованиям, изложенным в п. 9 Положения ВАК РФ «О присуждении ученых степеней», (утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842), а ее автор, Афоничева Полина Константиновна, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата технических наук.

Отзыв обсужден и одобрен 28.04.2025 на расширенном семинаре лаборатории прикладных биомедицинских микросистем, лаборатории молекулярной медицины, Центра технологий и микрофабрикации и Центра молекулярной медицины и диагностики ФГБУ «Федерального научно-клинического центра физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального Медико-биологического Агентства» и утвержден протоколом №2 от 28 апреля 2025г.

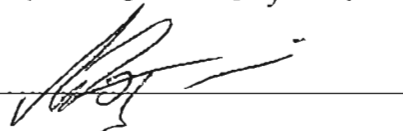
Руководитель Центра технологий и микрофабрикации ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России

Басманов Дмитрий Викторович



Кандидат биологических наук, руководитель Центра молекулярной медицины и диагностики, заведующий лабораторией молекулярной медицины ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России

Беспярых Юлия Андреевна



Адрес: Россия, Москва, 119435, Малая Пироговская, д. 1а
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального Медико-биологического Агентства».

Сайт: <http://rcrcm.org/>

тел.: +7 499 2469165;

e-mail: info@rcrcm.org

Подпись Басманова Д.В. и Беспярых Ю.А. заверяю.

Начальник отдела кадров ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России, Н.А. Васильева



«30» апреля 2025 г.