

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Афоничевой Полины Константиновны на тему «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».

Актуальность диссертационной работы состоит в необходимости развития методов управления нанообъектами на наномасштабе, включая возможность определения индивидуальных характеристик таких нанообъектов. Эта проблема имеет большой научный и практический интерес. Научная значимость – изучение физико-химических свойств наноструктур, биомолекул с нанометровой точностью. Наиболее яркими и социально значимыми применениями таких методов является сенсорика и секвенирование с одномолекулярным уровнем чувствительности.

*Целью* диссертационной работы являлась является разработка и создание устройства для обнаружения (регистрации) молекул ДНК с использованием измерения ионного тока при транслокации молекул через твердотельные нанопоры/наноканалы.

Оформление автореферата соответствует требованиям Положения о диссертационном совете и ГОСТ.

*Научная новизна* данной работы состоит в достижении следующих результатов:

1. Разработан новый способ создания устройства с наноразмерными каналами, сочетающий методы оптической литографии и травления сфокусированным ионным лучом, 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 (некоторые кислоты и щелочи).
2. Разработаны (а) оригинальная электрохимическая ячейка, содержащая твердотельную  $\text{SiN}_x/\text{Si}$  мембрану с одиночной нанопорой, обеспечивающая герметичность системы, защиту от загрязнения и образования пузырей газа в процессе измерения, и (б) новый протокол для подготовки и исследования транслокаций молекул, позволяющие получить воспроизводимые экспериментальные результаты.
3. Разработана новая процедура анализа данных, позволяющая оценивать события транслокаций по пороговому значению, которая использовалась для обнаружения событий

транслокаций для фрагментов ДНК длиной 10000 пар оснований, и построения зависимости амплитуды транслокаций от их длительности и оценки частоты событий.

4. Впервые экспериментально выявлена зависимость продолжительности транслокаций от длины при детектировании фрагментов ДНК с длинами 5000 и 500 пар оснований. Продемонстрировано, что при данных длинах фрагментов продолжительность транслокаций различается на 35%.

**Практическая значимость** диссертационной работы состоит в достижении следующих результатов:

1. Разработан и апробирован новый способ создания многоцветных кремний-стеклянных микрофлюидных устройств с наноканалами заданной геометрии и контролируемыми размерами, устойчивых к давлению до 202,65 кПа и агрессивным средам (некоторые кислоты и щелочи), позволяющих осуществлять экспериментальные исследования с биомолекулами. Способ может быть использован для создания микрофлюидных устройств с селективным транспортом для биомедицинских применений.
2. Разработана и апробирована конструкция электрохимической ячейки с SiNx/Si мембраной с нанопорой, с помощью которой проведены исследования по обнаружению единичных молекул (фрагменты ДНК).
3. Разработан и апробирован протокол подготовки электрохимической ячейки с интегрированной свободно-подвешенной мембраной с одиночной нанопорой, позволяющий повысить точность и воспроизводимость измерений за счет герметичности системы и устранения образования пузырьков газа в области поры.
4. Продемонстрированная возможность электрохимического детектирования одиночных молекул ДНК с помощью твердотельной нанопоры, а также способность различать фрагменты ДНК разных размеров, является основой для создания твердотельного нанопорового сенсора.

*В качестве замечаний необходимо отметить следующее:*

1. Несомненно, впечатляет продемонстрированная возможность формирования наноканалов с гигантским аспектным соотношением: шириной 50 нм, глубиной 10 нм и длиной 10 мкм при довольно малом времени травления, равном 10 с. Получаемые структуры охарактеризованы методами АСМ и РЭМ, однако, в автореферате не указана точность измерений глубины наноканалов, и насколько

- эта глубина сохраняется по всей длине наноканала. Какие зонды АСМ использовались для этого и как размеры зонда могли повлиять на полученные значения глубины наноканала? Каково значение максимальной глубины наноканала (шириной 50 нм), которую возможно измерить с помощью использованных АСМ зондов?*
- 2. В автореферате не приведён анализ проблемы неспецифичных связываний молекул аналита на поверхности мембраны. Может ли такое связывание повлиять на разрабатываемый метод электрохимического детектирования одиночных молекул ДНК?*
  - 3. В автореферате указано, что определён эффективный диаметр нанопоры при концентрации электролита 1М, равный ~5 нм, что хорошо согласуется с результатами ПЭМ. Указан только оптимальный диаметр, но не указано из каких значений диаметров был сделан выбор.*
  - 4. Разрабатываемая методика представляет большой интерес для одномолекулярного секвенирования ДНК с использованием нанопор. Толщина мембраны, в которой изготовлена нанопора, напрямую влияет на точность определения единичных нуклеотидов. Какую минимальную толщину мембраны можно изготовить развитым методом? В автореферате нет этого обсуждения.*

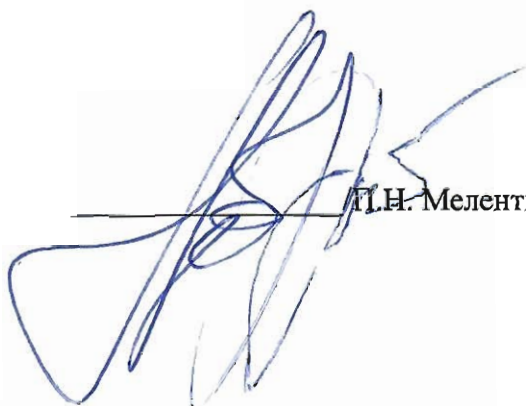
Основная часть работы выполнена лично соискателем степени, научные результаты по материалам диссертации опубликованы в 12 печатных трудах в российских и зарубежных журналах, рекомендованных ВАК и также индексируемых в Web of Science и Scopus. Доклады по материалам диссертации представлены на всероссийских и международных конференциях.

Диссертационная работа Афоничевой Полины Константиновны на тему «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» является законченным научным исследованием, выполненным на актуальную тему, имеющим важное научное и практическое значение. По объёму исследований, новизне, качеству и значимости полученных результатов данная диссертация соответствует требованиям, пп. 9-13 Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 N 842 (ред. от 25.01.2024) О порядке присуждения учёных степеней, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук.

Автор диссертации Афоничева П.К. заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата технических наук по специальности 1.3.2. – «Приборы и методы экспериментальной физики»

*Согласен на обработку персональных данных.*

Д.ф.-м.н., ведущий научный сотрудник  
Института спектроскопии РАН  
21.04.2025



Т.Н. Мелентьев/

Заверение подписи  
Печать

*Подпись Мелентьева Т.Н. заверено  
Ученой секретарь ИСАН  
К.Ф.-д.н. Кисельникова*

