

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию

ЛЮБИНА Евгения Валерьевича

на тему:

«ФОТОННО-СИЛОВАЯ МИКРОСКОПИЯ МАГНИТНЫХ ЧАСТИЦ, КЛЕТОК КРОВИ И
ВОЛНОВОДНЫХ МОД ФОТОННЫХ КРИСТАЛЛОВ»,

представленную на соискание ученой степени

кандидата физико-математических наук

по специальности 01.04.21 – лазерная физика

Диссертационная работа Любина Е.В. посвящена развитию новых экспериментальных методик на основе лазерного пинцета для определения силовых характеристик микрообъектов. В работе представлены результаты по измерению силы в диапазоне от единиц фемтоньютон до десятков пиконьютон. Объектами исследования разработанными методиками являются магнитные частицы, красные кровяные тельца и электромагнитное поле волноводных мод фотонных кристаллов.

Целями диссертационной работы являются разработка метода измерения сил магнитного взаимодействия микрочастиц с помощью оптического пинцета, изучение влияния магнитного взаимодействия между микрочастицами на статистику их броуновского движения в оптических ловушках, изучение вязко-упругих и агрегационных свойств одиночных эритроцитов методом двухлучевого оптического пинцета, изучение свойств электромагнитного поля волноводной моды фотонного кристалла методом фотонно-силовой микроскопии.

Актуальность и научная значимость избранной темы диссертационной работы обусловлены необходимостью развития методов управления положением микрообъектов, диагностики свойств микрообъектов и характеристики их взаимодействия друг с другом и окружающей средой. Подобные методы активно развиваются в последние десятилетия, что обусловлено потребностями таких областей научного знания как биофизика, клеточная биология, медицина, коллоидная химия, сенсорика и т.п.

Диссертационная работа состоит из введения, четырех глав, заключения и списка цитируемых источников.

В первой главе приведен подробный обзор литературы, в котором описывается методика фотонно-силовой микроскопии, обсуждаются различные способы определения эффективной жесткости оптических ловушек, приводятся примеры применения оптического пинцета для изучения широкого круга физических явлений. В конце первой главы достаточно подробно излагаются задачи диссертационной работы и обосновывается их актуальность.

Вторая глава диссертации посвящена адаптации методики лазерного пинцета для изучения магнитного взаимодействия микрочастиц. Приведено последовательное описание экспериментальных исследований, которые подкрепляются теоретическими расчетами и численным моделированием. Полученные данные для магнитных микрочастиц анализировались с применением различных методик, это позволило автору измерить силы взаимодействия величиной порядка 10^{-13} Ньютон. Величина магнитного момента микрочастиц, полученная независимым методом (с помощью вибрационного магнитометра), совпадает с результатами, полученными с использованием двухлучевого лазерного пинцета.

В третьей главе рассмотрен вопрос об изменении сил дезагрегации эритроцитов в плазме крови. Предложен новый метод мониторинга вязко-упругих

свойств клеток по анализу их вынужденных колебаний под действием внешнего периодического возмущения. В четвертой главе с помощью лазерной ловушки проведена локализация диэлектрической частицы вблизи поверхности фотонного кристалла, в котором возбуждалась первая волноводная мода. Экспериментально обнаружено силовое воздействие электромагнитного поля волноводной моды на эту частицу.

В заключении сформулированы основные научные и научно-технические результаты работы.

Представленная работа оформлена в соответствии с требованиями, написана грамотно и ясно, подробно описаны параметры оптических элементов, используемые для сборки оптического пинцета, состав суспензий, используемых в качестве объекта исследования. В целом научная работа соискателя является качественной, подтверждает его высокий уровень квалификации, интерес к актуальным задачам физики и способность получать значимые научные результаты.

Достоверность представленных в работе экспериментальных результатов обеспечена применением современного высокоточного оборудования, согласованием экспериментальных данных с теоретическими выкладками и моделированием. Результаты не противоречат данным, полученным другими исследователями, апробированы на ведущих международных конференциях по тематике работы, опубликованы в высокорейтинговых реферируемых научных изданиях. Созданные автором работы экспериментальные установки используют высокотехнологичные компоненты и тщательно продуманы, например, схема оптического пинцета собрана с учетом минимизации абберационных искажений формы лазерной ловушки, что обеспечивает стабильные параметры оптического захвата микрочастиц. Все представленные научные положения и выводы, сформулированные в диссертации, обоснованы экспериментальными результатами.

Представленные результаты являются новыми. В работе впервые реализована установка двухлучевого оптического пинцета с возможностью создания магнитного поля в области лазерной ловушки. Такой подход позволил автору исследовать не только силы отталкивания, но и силы притяжения магнитных частиц, что не достижимо при использовании одной ловушки. Также впервые исследован отклик эритроцитов, локализованных лазерными ловушками, на внешнее периодическое механическое воздействие в диапазоне частот от 0,1 до 1 кГц. Проведены измерения силы, действующей на диэлектрическую микрочастицу со стороны электромагнитного поля волноводной моды фотонного кристалла.

Практическая значимость работы обусловлена активным использованием магнитных жидкостей в технике в качестве магнитоуправляемых смазочных материалов, сепараторов, демпферов, уплотнителей и т.п. Изучение эритроцитов методом оптического пинцета может быть использовано для развития новых способов диагностики заболеваний в медицине. Результаты исследования силового воздействия ближнего поля волноводной моды фотонного кристалла могут быть применены при разработке приборов для оптической сепарации микрочастиц.

Научная значимость работы заключается в совершенствовании методов управления микрообъектами, в том числе взаимодействующими магнитными микрочастицами, биологическими клетками. Развита в работе теория броуновского движения взаимодействующих магнитных микрочастиц может быть расширена до задач о частицах, силы взаимодействия которых имеют другую природу. Методика измерения сил агрегации клеток уже используется для исследования патологий крови в научных лабораториях, также она может помочь установить механизмы агрегации эритроцитов. Предложен новый метод для

характеризации ближнего поля волноводных мод в одномерных фотонных кристаллах.

При оценке диссертационной работы следует отметить некоторые недостатки:

- Цитируемая литература: Соотношение классических и новейших публикаций не в пользу последних.

- В лит. обзоре, на стр. 56 приведено утверждение: " В плоскости поверхности действуют сила F_{scat} , связанная с давлением света, и добавка F_{gradXY} , соответствующая градиенту поля в поперечном направлении [104]." Здесь отсутствует критический анализ утверждения цитируемых авторов относительно применимости понятия "давление света".

- Требуется более развернутое доказательство применимости математического аппарата к броуновскому движению при переходе от макрообъемов к микрообъемам.

- Зависимость растяжения эритроцита под действием силы со стороны ловушек можно было бы использовать для создания нового медицинского теста (это пожелание).

В целом, несмотря на сделанные замечания, диссертация Е.В. Любина представляет собой законченное исследование, научная значимость и оригинальность которого не вызывает сомнения. Работа выполнена на высоком профессиональном уровне и открывает широкие перспективы дальнейших исследований в этом направлении. Автор диссертации демонстрирует высокую квалификацию, как на этапе проведения эксперимента, так и на этапах обработки и интерпретации экспериментальных данных и представления полученных результатов.

Аннотация работы Любина Е.В. соответствует содержанию диссертации. Результаты в достаточном объеме опубликованы в научных журналах и представлены на научных конференциях.

Таким образом, из вышеизложенного следует, что представленная к защите диссертационная работа Е.В. Любина удовлетворяет требованиям ВАК, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а Е.В. Любин заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.21 – лазерная физика.

Заведующий лабораторией
лазерной биоспектроскопии ЦЕНИ ИОФ РАН
доктор физ.-мат. наук, профессор



В.Б. Лощенов

Подпись В.Б. Лощенова заверяю
Ученый секретарь ИОФ РАН, кандидат физ.-мат. наук



С.Н. Андреев

Отзыв

официального оппонента на диссертационную работу Любина Евгения Валерьевича «Фотонно-силовая микроскопия магнитных частиц, клеток крови и волноводных мод фотонных кристаллов», представленной на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.21 - лазерная физика

Одним из актуальных направлений современной лазерной физики является исследование взаимодействия объектов микро- и нанометрового размера с фокусированным лазерным светом. Пространственно неоднородное оптическое поле вблизи перетяжки формирует эффективную пространственную потенциальную яму, которая позволяет захватывать и удерживать различные микрообъекты, вплоть до единичных макромолекул. Особо важное значение метод оптического пинцета имеет для исследования биологических объектов, так как позволяет получать биофизические характеристики микрообъектов в условиях близких к естественным. Несмотря на то, что метод оптического пинцета известен уже более 30 лет, а исследованию микроманипуляций объектов различной природы посвящены более 1000 работ, опубликованных за последние 10 лет, многие вопросы, касающиеся совершенствования методик проведения эксперимента, калибровки сил захвата и методик обработки результатов, остаются весьма актуальными. Работа Любина Е.В. посвящена использованию методики оптического захвата для исследования сил магнитного взаимодействия микрочастиц, изучения вязкоупругих свойств эритроцитов, а также исследованию волноводных мод одномерных фотонных кристаллов.

Актуальность и научная значимость диссертации Любина Е.В. определяется тем, что в ней отражены не обсуждавшиеся ранее и имеющие большое фундаментальное и прикладное значение вопросы определения величины и градиента силы взаимодействия между двумя магнитными микрочастицами на основе корреляционного анализа смещений этих частиц из оптических ловушек, анализа фазового сдвига в осцилляциях краев клетки, захваченных одновременно в две оптические ловушки.

Целями диссертационной работы являются изучение влияния магнитного взаимодействия между микрочастицами на статистику их броуновского движения в оптических ловушках, разработка метода измерения сил магнитного взаимодействия микрочастиц с помощью оптического пинцета, изучение упруго-вязких и агрегационных свойств одиночных эритроцитов методом двухлучевого оптического пинцета и изучение методом фотонно-силовой микроскопии свойств электромагнитного поля волноводной моды фотонного кристалла.

Представленная к защите работа имеет стандартную структуру и состоит из введения, основной части, содержащей 4 главы, заключения и списка цитируемой литературы, состоящего из 133 ссылок.

Литературный обзор включает критический анализ тех аспектов, которые тесно связаны с тематикой исследований диссертанта. Представлены основные физические принципы оптического пинцета, детально обсуждаются существующие методики калибровки сил захвата микрочастиц, описаны и проанализированы научные задачи, решаемые с помощью оптического пинцета. В заключении раздела сформулированы задачи диссертационной работы и обоснована их актуальность. В целом обзор литературы по существу и форме изложения соответствует заявленным задачам исследования, и свидетельствует о хорошем знании автором текущего положения дел в области, связанной с фотонно-силовой микроскопией.

В оригинальной части диссертации автором получен ряд **новых научных результатов**, среди которых можно отметить следующие.

- Впервые экспериментально методом фотонно-силовой микроскопии измерены силы притяжения магнитных микрочастиц. Предложен новый метод определения величины и градиента силы взаимодействия между двумя магнитными микрочастицами на основе корреляционного анализа смещений этих частиц из оптических ловушек.
- Предложен новый метод диагностики вязко-упругих свойств эритроцитов. Метод основан на анализе фазового сдвига в осцилляциях краев клетки, захваченных одновременно в две оптические ловушки, положение одной из которых периодически меняется со временем. Впервые измерена средняя сила, необходимая для сдвига эритроцитов на заданное расстояние друг относительно друга в парном агрегате в аутологичной плазме крови.
- Впервые методом фотонно-силовой микроскопии экспериментально обнаружено силовое воздействие электромагнитного поля первой волноводной моды одномерного фотонного кристалла на пробную микрочастицу, расположенную в воде вблизи его границы.

В заключении сформулированы основные выводы диссертационной работы, которые в полной мере отражают ее сущность.

Практическая значимость диссертационной работы состоит в возможном использовании полученных результатов для задач, связанных с управлением и характеристикой микрообъектов методом оптического пинцета, исследованием и применением магнитных жидкостей, развитием методов диагностики заболеваний, связанных с изменением

реологических свойств крови, разработкой сенсоров на основе фотонных кристаллов, а также развитием методов управления движением микрочастиц электромагнитным полем вблизи границ разделов сред.

Достоверность полученных автором результатов не вызывает сомнения, поскольку они получены с использованием современного высокоточного оборудования, обоснованных методов обсчета сигнала, подтверждены экспериментальными данными, соответствуют теоретическим расчетам и известным результатам других авторов. Особо следует отметить, что диссертант уделил большое внимание в работе проблеме калибровке сил оптического захвата частиц, что исключило возможность получения неверных количественных результатов.

Научная апробация работы получена как представлением данных на крупных конференциях, так и публикациями в рейтинговых журналах. Степень опубликования результатов исследований Любина Е.В. соответствует современным требованиям ВАК РФ для диссертаций на соискание степени кандидата наук (4 статьи в журналах из перечня, рекомендованного ВАК для публикации результатов диссертаций, все издания включены в системы цитирования SCOPUS и Web of Science).

Автореферат диссертации правильно отражает содержание диссертационной работы и личный вклад автора.

Несмотря на общую положительную оценку работы, следует отметить следующие замечания.

- 1) Представленные в диссертационной работе теоретические и экспериментальные исследования сделаны в предположении оптически прозрачных (на длине волны оптической ловушки) микрочастиц. В то же самое время средний эффективный коэффициент поглощения магнитных микрочастиц на длине волны 975 нм в работе не приведен. В случае существенного отличия от нуля, поглощение частицы будет оказывать двойное влияние на полученные результаты. Во-первых, из-за давления света на частицу, во-вторых, из-за лазерного разогрева за время измерения и изменения микровязкости окружающей среды.
- 2) В третьем положении, выносимом на защиту, автор постулирует: «Расстояние между центрами клеток в парном агрегате возрастает с увеличением сил, приложенных со стороны оптических ловушек и направленных на разъединение клеток». Это действительно так, чем сильнее «тянуть» эритроциты в стороны, тем сильнее увеличивается расстояние между ними. В то же самое время Рис. 37 говорит несколько о другом. Чем больше расстояние между центрами эритроцитов в парном

агрегате, тем большую силу нужно прикладывать для их разъединения. Об этом же и свидетельствует вывод к работе: «Сила сдвиговой дезагрегации увеличивается с увеличением расстояния между центрами клеток...». Возможно положение, выносимое на защиту, можно переформулировать в соответствии с выводом?

Помимо указанных замечаний, в тексте работы имеется ряд неточностей.

Например, во введении автор пишет: «Суспензии магнитных микрочастиц имеют ряд практических приложений, например, они используются в магнитной гипертермии для уничтожения раковых опухолей [13]». Работа [13] (Laurent V. M., Henon S., Planus E., Fodil R., Balland M., Isabey D., Gallet F. Assessment of Mechanical Properties of Adherent Living Cells by Bead Micromanipulation: Comparison of Magnetic Twisting Cytometry vs Optical Tweezers // J. Biomech. Eng 2002. v. 124, no. 4. pp. 408–421.) посвящена исследованию клеток, а не гипертермии опухолей.

На стр. 89 автор использует неудачную формулировку «частицы приклеивались к эритроциту», правильное сказать частицы прикреплялись к поверхности за счет Ван-дер-ваальсовых взаимодействий.

На Рис. 41б не удастся определить какие точки относятся к ТЕ, а какие к ТМ поляризации света.

Вместе с тем перечисленные недостатки не снижают по существу общей значимости диссертационной работы, которая является завершенным научным исследованием.

На основании вышеизложенного можно заключить, что диссертация удовлетворяет требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842, предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Любин Евгений Валерьевич заслуживает присуждения учёной степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.21 – лазерная физика.

Ведущий научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологии
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов
Российской академии наук (ИБФРМ РАН)
доктор физ.-мат. наук

27.02.2014 г.

Подпись Б.Н. Хлебцова заверяю
Ученый секретарь ИБФРМ РАН, к.б.н.



Б.Н. Хлебцов

Т.Е. Пылаев