

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата химических наук Нечаевой Натальи Леонидовны
на тему: «Спектроскопия гигантского комбинационного рассеяния
с использованием наноструктур серебра для определения белков-
маркеров и ферментов» по специальности 03.01.06 –«биотехнология
(в том числе бионанотехнологии)»

Актуальность работы

Глобальным научно-техническим трендом в области фотоники является расширение спектра высокоточных методов, ориентированных на высокочувствительное, экспрессное и мультиплексное определение и мониторинг в режиме реального времени концентраций биомакромолекул, метаболитов, ксенобиотиков, биологических агентов и загрязняющих веществ в организме человека, окружающей среде, пищевых продуктах и сырье. Развитие приложений фотоники в биологии и медицине позволяет решать такие важные стратегические задачи как: оптическая функциональная диагностика биологических тканей и образцов, создание селективных и высокочувствительных сенсорных систем нового поколения. Биосенсорные системы на основе достижений фотоники, и особенно нанофотоники, дают уникальную возможность производить неинвазивный мониторинг функциональных параметров в живых системах и экологических консорциумах с высокой селективностью и чувствительностью.

Среди достижений нанофотоники следует особо отметить эффект гигантского комбинационного рассеяния света. Собственно комбинационное рассеяние (КР) было впервые открыто российскими учеными Л.И. Мандельштамом и Г.С. Ландсбергом и одновременно за рубежом

Ч.В. Раманом и К.С. Кришнаном в 20-х годах прошлого столетия. Спектроскопия комбинационного рассеяния широко использовалась для исследования сложных молекул, однако при этом возникали значительные экспериментальные сложности, связанные с малой интенсивностью сигнала КР. В 1973 году М. Флейшман, П. Хендра и А. Макмиллан открыли явление гигантского комбинационного рассеяния – ГКР, выражающееся в усилении сигнала КР на поверхности металла, предположительно за счет возбуждения плазмонных резонансов. При этом оказывается возможным усилить сигнал КР в миллиарды раз.

Важно отметить, что природа явления ГКР до сих пор дискутируется. Вместе с тем, не смотря на отсутствие ясной теории, ГКР давно нашел свое место в различных приложениях. ГКР-подложки (планарные металлические структуры) активно используются исследователями для определения широкого спектра соединений, таких как низкомолекулярные красители и ГКР-метки, токсины, загрязняющие вещества, антибиотики. Спектроскопия гигантского комбинационного рассеяния является одним из самых мощных аналитических инструментов, используемых при определении метаболитов на уровне отдельных клеток, идентификации токсичных соединений в биологических жидкостях и окружающей среде, индивидуальной оценке устойчивости к антибиотикам, ранней диагностики воспалительных процессов, определении единичных бактериальных клеток и вирусов.

Рассматриваемая диссертационная работа посвящена разработке методов ГКР для определения белков-маркеров и ферментов. К основным результатам полученным в диссертационной работе можно отнести:

1. Сигнал КР значительно усиливается на серебряных наноструктурированных ГКР-подложках за счет наличия в структуре разноориентированных мультиразмерных серебряных пластин.

2. Наноструктурированные серебрянные ГКР-подложки позволяют детектировать тиохолин, количественно оценивать концентрацию бутирилхолинэстеразы и реализовать отложенные измерения концентрации холинэстераз крови.

3. Модификация ГКР-подложки 4-меркаптофенилбороновой кислотой позволяет селективно детектировать диол-содержащие соединения.

4. Применение наночастиц серебра позволяет детектировать тиохолин и количественно оценивать концентрацию бутирилхолинэстеразы.

Диссертация написана четким и понятным языком и хорошо оформлена.

Разработанный в диссертационной работе подход может быть использован для определения маркеров заболеваний и состояния интоксикации, потенциального определения ингибиторов холинэстераз и ранней диагностики нарушений углеводного обмена. А предложенные новые ГКР-подложки и созданные на их основе новые биоаналитические методики, позволяют количественно определять ферменты и белки-маркеры в плазме крови человека. Это особенно важно в связи с высокими требованиями, предъявляемыми к современной медицинской диагностике.

В связи с вышеизложенным актуальность диссертационного исследования не вызывает сомнений.

По существу проведенной научной работы следует высказать следующие замечания:

1. В пункте 2.3.1. подробно описывается получение и характеристика подложек для ГКР. Во многих случаях используется высушивание серебрянных подложек при температурах 60, 100 и 125 С. Однако в диссертации не указана атмосфера, в которой производилась сушка (отжиг). Судя по РФЭС спектру, приведенном на рисунке в главе 3, поверхность серебра покрыта карбонатом серебра. Возникает вопрос, -

- в какой атмосфере проводился отжиг и влияет ли слой карбоната серебра на значения ГКР? В частности, влияет ли этот слой на химическую часть усиления ГКР?
2. В пункте 2.3.2 обсуждается процедура определения размеров наночастиц по спектру поглощения, а именно по максимуму поглощения и по поглощению на длине волны 500 нм. Необходимо отметить, что эта процедура не всегда дает хорошую оценку и часто требуется верификация полученных данных другими методами. Во-первых, даже для круглых частиц при малых размерах (менее 40 нм), длина волны λ_{\max} , соответствующая максимуму поглощения, слабо зависит от размера частиц. Соответственно малая ошибка в определении этой длины волны приводит к заметной ошибке в определении размера частиц. Во-вторых, использование такого подхода оправдано только для частиц, форма которых близка к сферической. В-третьих, используя такую процедуру достаточно сложно оценить разброс по размерам частиц.
 3. В пункте 3.1.3 обсуждается теоретическая модель усиления КР за счет возбуждения плазмонов, но нигде не упоминается поляризация излучения, однако возбуждаемые плазмоны имеют строго определенную поляризацию. Влияет ли учет поляризации плазмонных мод на усиление КР?
 4. В пункте 3.1.5 на рис. 24 представлена градуировочная зависимость для тиохолина (зависимость пика на 773 см^{-1} от концентрации тиохолина). Видно, что аппроксимирующая прямая не проходит через начало координат, то есть даже при нулевой концентрации тиохолина наблюдается пик ГКР на 773 см^{-1} . С чем это связано?
 5. На рисунке 25 показано СЭМ-изображения ГКР-подложки до и после воздействия излучения. Поскольку карбонат серебра, покрывающий поверхность пленки, при нагревании разлагается на оксид серебра и углекислый газ, возникает вопрос – действительно ли при воздействии

излучения происходит оплавление серебра или разложение карбоната серебра?

- б. В работе есть ряд мелких неточностей. В частности, на СЭМ изображении на рисунке 25 отсутствует шкала и определить масштаб изменений достаточно сложно. На рисунке 26 б) различные кривые обозначены разными цветами, в то время как в подписи к рисунку эти кривые различаются символами, а не по цвету.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 03.01.06 – «биотехнология (в том числе бионанотехнологии)» (по химическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова. Диссертация оформлена согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Нечаева Наталья Леонидовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.06 – «биотехнология (в том числе бионанотехнологии)».

Официальный оппонент:

Доктор физико-математических наук,

заместитель директора по научной работе

Федерального государственного бюджетного учреждения науки

«Институт теоретической и прикладной электродинамики

Российской академии наук» (ИТПЭ РАН)

МЕРЗЛИКИН Александр Михайлович

«11» июня 2021 г.

Контактные данные:

тел.: xxxxxxxxxxxx, e-mail: xxxxxxxxxxxxxx

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:

01.04.13 – «Электрофизика, электрофизические установки»

Адрес места работы:

125412, г. Москва, ул. Ижорская, д.13

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт
теоретической и прикладной электродинамики Российской академии наук»
(ИТПЭ РАН)

Тел.: 8-(495)-484-23-83; e-mail: itae@itae.ru

Подпись Мерзликина Александра Михайловича удостоверяю

Заместитель директора по научной работе по информационно-

вычислительным технологиям Федерального государственного бюджетного

учреждения науки «Институт теоретической и прикладной электродинамики

Российской академии наук (ИТПЭ РАН)»,

доктор физико-математических наук

Кисель Владимир Николаевич

11.06.2021

М.П.