

УТВЕРЖДАЮ



Проректор по ИР ОГУ, профессор

В.И. Жаданов

_____» 2018 года

ОТЗЫВ

ведущей организации

федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Оренбургский государственный университет» (ОГУ) о диссертационной работе Зюбина Андрея Юрьевича «Спектрально-кинетические исследования фотофизических процессов с участием молекул красителей и биомолекул в присутствии наночастиц серебра», представленной на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.05 – «Оптика»

Исследования процессов преобразования энергии электронного возбуждения в молекулярных системах с участием объектов нанометрового масштаба представляют интерес не только для понимания механизмов взаимодействия электромагнитного излучения различного спектрального диапазона с веществом, но и имеют выраженную практическую направленность. Сведения об эффективности таких процессов востребованы в квантовой электронике и лазерной физике, молекулярной оптике и биофизике. На их основе разрабатываются современные технологии исследования структуры биомолекул, методики определения малых концентраций веществ и детектирования единичных макромолекул. Данные о процессах радиационного и безызлучательного преобразования энергии электронного возбуждения широко используются при разработке активных элементов лазеров на красителях, создании новых типов люминофоров и сцинтилляторов, расширении возможностей лазерной фотохимии и биохимии. Поэтому в настоящее время интенсивного развития нанотехнологий, молекулярных и клеточных технологий, особую актуальность приобрели работы по исследованию систем наноструктуры-молекулы вещества, к которым относится и рассматриваемая диссертация.

Целью диссертационной работы автор определил экспериментальное и теоретическое изучение фотофизических процессов с участием наночастиц (НЧ) серебра, макромолекул и красителей на поверхности твердого тела, в полимерных матрицах и в растворах, а также практическое использование выявленных закономерностей для анализа структуры и оптических свойств биомолекул при возникновении патологий.

Для достижения поставленной цели диссертант использовал различные экспериментальные методы исследования, удачно дополнив методики классической спектроскопии оригинальными экспериментальными и теоретическими разработками. В ходе выполнения работы изучены процессы поглощения, флуоресценции, комбинационного рассеяния света системой «НЧ серебра - молекулы красителей» в пленках поливинилового спирта (ПВС), в том числе, помещенных на шероховатые поверхности стекла, допированного наночастицами серебра. На основании полученных данных оценена эффективность безызлучательного переноса энергии в исследованных донор-акцепторных парах. В перечне задач, решенных при подготовке диссертации, экспериментальное и теоретическое исследование усиления комбинационного рассеяния света и изменения параметров флуоресценции и поглощения в паре «НЧ серебра – родамин 6Ж», сравнение вторичной структуры сывороточного альбумина человека (САЧ) по группам Амид I, II, III в норме и при патологии (сепсис) в растворе и на структурированной серебряной поверхности. Для молекул белка, адсорбированного на структурированных серебряных пленках, рассчитаны коэффициенты усиления комбинационного рассеяния света. Определены параметры анизотропии флуоресценции молекул белка в норме и при патологии, а также конформационные изменения молекул белка при патологии (сепсис). Разработан подход к определению концентрации молекул АТФ в эритроцитах и митохондриях методом конфокальной микроскопии.

Автор оправданно представил результаты исследования в традиционной последовательности – введение, обзор литературы, завершённый постановкой задач исследования, объекты и методы исследования, описание и обсуждение экспериментальных результатов в трех рабочих главах. Каждая глава завершается аргументированными выводами. В заключении подытожены и обобщены результаты диссертационного исследования в целом. В работе представлен обширный список литературы, содержащий 239 источников. Завершается диссертация двумя приложениями, в которых представлены экспериментальные данные расчета АТФ в клетках крови и в митохондриях клеток крови, а также данные для расчета поляризованной флуоресценции Trp САЧ в норме и при сепсисе.

Во введении обоснована актуальность темы исследования, сформулированы цель и задачи работы, представлены защищаемые положения, научная новизна и практическая значимость полученных результатов. В ходе выполнения работы, поставленные задачи были успешно решены, а цель работы достигнута. Важно, что предложенные автором способы исследования свойств макромолекул имеют реальную перспективу быть использованными для разработки альтернативной диагностики структуры сывороточного альбумина человека.

Литературный обзор, представленный в первой главе достаточно объемный и полный. Из доступных литературных источников автором собраны сведения об особенностях преобразования световой энергии молекулами вещества в присутствии наночастиц, на основании чего обоснована актуальность темы исследования и востребованность работ по выбранному направлению.

В экспериментальной части работы подробно описаны объекты и методы исследований. Наночастицы размером до 100 нм изготавливались двумя независимыми способами - путем лазерной абляции из химически чистой серебряной пластины в жидкости и методом химического восстановления из солей серебра. Представлены способы изготовления шероховатых стекол, в том числе модифицированных НЧ серебра и окрашенных родамином 6Ж пленок поливинилового спирта с внедренными НЧ серебра. Диссертантом использованы современные приборы и оборудование для электронной флуоресцентной (в т.ч. с временным разрешением), фотокорреляционной и ИК-спектроскопии, зондовой сканирующей (атомно-силовой) и оптической микроскопии. Детально описаны пробоподготовка и эксперименты со сложными объектами - сывороточным альбумином человека, наноструктурированными серебряными пленками для экспериментов по усилению комбинационного рассеяния света, внутриклеточным и митохондриальным аденозинтрифосфатом в крови детей с острым лимфобластным лейкозом.

Автором диссертации получены новые интересные результаты. Так, установлено, что при наличии НЧ серебра и молекул красителей в матрице ПВС возникают центры поглощения и рассеяния света, проявляющиеся в спектрах комбинационного и гигантского комбинационного рассеяния молекул родамина 6Ж. При этом повышается эффективность безызлучательного переноса энергии и наблюдается усиление флуоресценции молекул. Эффект обоснован с позиций современных представлений наноплазмоники.

Экспериментально обнаружено усиление наночастицами серебра комбинационного рассеяния света молекулами родамина 6Ж (до 10^4) на шероховатых стеклах.

Исследована вторичная структура белковых молекул в норме и при патологии, адсорбированных на структурированной серебряной поверхности и в растворе, определены параметры обмена энергией белков и НЧ серебра. Обнаружено изменение вторичной структуры белков при развитии патологии (сепсис). По анализу групп Амид I, Амид III показано, что количество α -трубчатых слоев в молекулах белка уменьшается и повышается неупорядоченность укладки во вторичной структуре макромолекул. Предложено использовать обнаруженную закономерность для разработки метода диагностики не только сепсиса, но и других патологий, вызывающих конформационные изменения сывороточного альбумина человека.

Обнаружено усиление флуоресценции аминокислотных остатков триптофана вследствие локализации остатков триптофана на поверхности белковой глобулы при развитии патологии.

Следует признать успешным использование автором методов лазерной корреляционной спектроскопии квазиупругого рассеяния света для решения задач диссертационного исследования, учитывая важную роль структурно-масштабной идентификации исследуемой системы в перечне очерченных диссертантом проблем.

Теоретически исследован диполь-дипольный перенос энергии с НЧ на молекулы белка, рассчитаны параметры переноса, показаны различия таких

параметров, а также параметров анизотропии флуоресценции для молекул САЧ здоровых и больных сепсисом людей.

Предложен неинвазивный флуоресцентный метод оценки концентрации короткоживущих молекул АТФ в клетках крови и митохондриях пациентов *in vitro*. Определены концентрации молекул АТФ в клетках крови и митохондриях.

В диссертационной работе Зюбина А.Ю. обнаружен ряд других новых экспериментальных фактов, которые могут быть использованы для оценки вторичной структуры молекул белков при развитии патологии, предложены оригинальные подходы к решению некоторых фундаментальных и прикладных проблем молекулярной фотоники и наноплазмоники, с обоснованием их возможного применения в клеточной и молекулярной биологии.

В целом диссертационная работа выполнена на хорошем научном уровне, что подтверждается соответствующими публикациями и докладами на различных конференциях. При всей высокой оценке диссертации необходимо отметить, что она не лишена некоторых **недостатков**.

Существенное замечание относится к языку и стилю изложения. Стил изложения очень трудный для восприятия. И в диссертации, и в автореферате встречаются опечатки и орфографические ошибки. Например, (стр. 84) «В работе [237] нами продилось изучение спектрально-кинетических особенностей оптического преобразования электронной энергии при *dd*-переносе электронной энергии в комплексах НЧ-молекула Р6Ж, при различных концентрациях красителя и варьируемых размерах НЧ», или (стр.93) «После снятия результирующих спектров проводилось их первичная обработка» и др.

На стр. 99 утверждается, что «Поскольку максимум поглощения НЧ серебра (средний диаметр 64 нм) приходился на длину волны $\lambda = 416$ нм, а максимум флуоресценции Р6Ж находится в области 570 нм, то можно ожидать, что в результате частичного перекрытия спектров, усиления флуоресценции в результате безызлучательного *dd*-переноса по Ферстеру с Р6Ж на НЧ серебра». Непонятно, как может осуществляться перенос энергии с Р6Ж на НЧ и, почему флуоресценция Р6Ж должна возрасть, если это донор?

Указанные замечания не отражаются на основных результатах диссертации и не снижают заслуг соискателя в получении важных и интересных результатов исследования, равно как и их высокой оценки.

При работе над диссертацией обнаружены новые физические эффекты, предложены новые подходы к решению некоторых фундаментальных и прикладных проблем фотоники молекулярных систем. Приведенные в работе результаты и выводы не противоречат современным концепциям, установившимся в молекулярной спектроскопии, физико-химии сложных молекулярных систем и других разделах науки, имеющих прямое отношение к теме диссертации. Достоверность результатов подтверждается этой непротиворечивостью с одной стороны, и использованием современных экспериментальных методов исследования с другой.

На основании вышеизложенного можно заключить, что научные результаты, представленные в диссертации «Спектрально-кинетические

исследования фотофизических процессов с участием молекул красителей и биомолекул в присутствии наночастиц серебра», существенно расширяют представления об излучательных и безызлучательных каналах релаксации энергии электронного возбуждения в сложных молекулярных системах и содержат ценную информацию о взаимодействии органических молекул с наноструктурами.

Результаты исследований автора могут быть использованы в таких научных и образовательных учреждениях как: Институт общей физики РАН, Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН, Институт физики твердого тела РАН, Институт химической физики РАН, Институт биохимической физики РАН, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, а также в других вузах и научных центрах страны.

Диссертация Зюбина Андрея Юрьевича рассмотрена на расширенном заседании научно-технического совета ЦКП «Институт микро- и нанотехнологий» ФГБОУ «Оренбургский государственный университет», протокол № 5 от 21.05.2018 г. и получила одобрение ведущих специалистов.

Общее впечатление о диссертационной работе А.Ю. Зюбина положительное, диссертант продемонстрировал глубокое понимание изучаемых явлений и изрядное экспериментальное мастерство. Диссертация «Спектрально-кинетические исследования фотофизических процессов с участием молекул красителей и биомолекул в присутствии наночастиц серебра», соответствует требованиям к кандидатским диссертациям п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., редакция от 29.05.2017 № 650, а сам, **Зюбин Андрей Юрьевич**, заслуживает присуждения искомой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.05 – «Оптика».

Автореферат соответствует тексту диссертации.

Отзыв составил

директор Центра коллективного пользования приборным оборудованием «Институт микро- и нанотехнологий» ОГУ,
доктор физ.-мат. наук, профессор.

С.Н. Летута

21.05.2018 г.

Сведения о лице, утвердившем отзыв: Жаданов Виктор Иванович, доктор технических наук, профессор, проректор по научной работе ОГУ, адрес: 460018, г. Оренбург, пр. Победы, 13. Тел (35-32) 77-66-35, E-mail: prorectornr@mail.osu.ru

Сведения о составителе отзыва: Летута Сергей Николаевич, доктор физико-математических наук, профессор, директор Центра коллективного пользования приборным оборудованием «Институт микро- и нанотехнологий» ОГУ, адрес 460018, г. Оренбург, пр. Победы, 13, корп. 2, ауд. 2131 Тел. (353-2) 37-59-67, внутр. 20-45 E-mail: letuta@com.osu.ru.