

**В диссертационный совет МГУ.011.1
Московского государственного университета
имени М.В.Ломоносова**

ОТЗЫВ

**на автореферат диссертации Ахметовой Ассель Иосифовны на тему:
«Обнаружение, визуализация и анализ вирусов, бактерий и клеток
методами бионаноскопии» на соискание ученой степени кандидата
физико-математических наук по специальности 1.1.10 – «Биомеханика и
биоинженерия».**

Исследование наноструктурных, биомеханических и физико-химических свойств биологических объектов с помощью методов зондовой микроскопии позволяет получить новые данные о инфекционных патогенных для человека микроорганизмах, существенные для биоинженерии, биофизики и биомедицины. Изучение воздействия факторов внешней среды на клетки, вирусы, бактерии и отражение влияния данных факторов на характеристики исследуемого объекта может быть значимо для фармакологии, и, в дальнейшем, полученные данные могут быть применены для разработки эффективных лекарственных препаратов.

Сканирующая зондовая микроскопия (СЗМ) позволяет получать уникальную информацию о морфологии и свойствах вирусов, бактерий, клеток, недоступную другими методами, т.к. позволяет проводить измерения в естественной среде без использования дополнительных меток и реагентов. Преимуществом атомно-силовой микроскопии (АСМ) является возможность исследования живых клеток, бактерий на твердых подложках, возможность изучать вероятность и характер адсорбции вирусов на различных поверхностях, возможность получения трехмерного изображения с нанометровой детализацией и составления карт локальных механических свойств поверхности – жесткости, трения, адгезии, износостойкости, сопротивления к разрушению.

Диссертационная работа Ахметовой Ассель Иосифовны посвящена развитию методов исследования биологических объектов с помощью инструментария

зондовой микроскопии и пьезокерамических биосенсоров. Как объекты исследования в работе были использованы эритроциты, опухолевые клетки, вирус гриппа А, вирус клещевого энцефалита, различные виды бактерий – бактерии *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Neisseria flavescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, антитела на микроальбумин. Для исследования выбранных объектов использовались зондовая микроскопия, капиллярная микроскопия и микролинзовая микроскопия, методы, позволяющие получать данные о механических свойствах объектов, их упругости, создавать 3D-визуализации клеток в жидкой среде и визуализировать кинетику трансформации клеток в режиме реального времени. Применение пьезокерамического биосенсора позволило по изменению резонансной частоты колебаний биочипа оценить специфичность взаимодействия антител к микроальбумину.

Актуальность работы заключается в развитии и использовании простых и доступных методов измерений с нанометровым разрешением в естественной среде и без воздействия на объект исследования, позволяющих получать данные о биомеханических свойствах объектов, что является существенным для диагностических целей и биомедицины при тестировании лекарственных препаратов.

Основные результаты работы представлены в автореферате и достаточно подробно описаны в разделе «Основное содержание работы». Продемонстрировано характерное улучшение качества снимков при использовании капилляра меньшего диаметра выходного отверстия. Было предложено решение биосенсора в виде пьезокерамического биочипа - диска с диаметром 0,1-3 мм. При этой конструкции биочипа потенциал подается на центральный электрод и внешние электроды, обращенные к раствору, можно заземлять или держать под потенциалом раствора. В этом случае, в отличие от известных конструкций отпадает необходимость в дополнительном слое, изолирующем внешние электроды. С помощью биосенсора проводилось измерение связывания мышиных моноклональных антител Н-С15 к альбумину человека с конъюгатом антител козы против антител мыши. Пьезокерамические диски с иммобилизованными антителами Н-С15 помещались в проточную систему, резонансный пик измерялся с шагом 1 секунда, затем для каждого резонансного пика вычислялся «центр масс» и строился график. Было

показано, что резонансная частота зависит от количества находящихся на поверхности биочипа моноклональных антител.

При исследовании биологических объектов измерена кинетика трансформации эритроцита в эхиноцит, исследованы структурные особенности опухолевых клеток - измерена шероховатость клеток в области ядрышка и в области отростков, проведено сравнение контрольных и обработанных цисплатином и нокодазолом образцов клеток Hela, оценено изменение шероховатости клеток при воздействии лекарственных препаратов, наибольшее изменение шероховатости зафиксировано при обработке клеток нокодазолом. Анализ изображений вируса клещевого энцефалита, полученных методами просвечивающей электронной и атомно-силовой микроскопии, позволил изучить структурные особенности вирусных частиц, рассчитать упругость и шероховатость объектов, определить характер сорбции на разных подложках (графит и слюда). Также были исследованы вирусы гриппа А H1N1, H7N1. Отдельный раздел посвящен исследованиям морфологических и структурных особенностей бактериальных клеток под воздействием биоцидных препаратов. В частности, рассмотрено влияние дезинфектанта олигогексаметиленгуанидина (ОГМГ) на морфологические характеристики единичных бактериальных клеток и формирование биопленки на поверхности подложки.

Выводы работы полностью соответствуют представленным результатам.

Автореферат диссертации написан по стандартному образцу, изложен на 23 страницах, включает 13 иллюстраций и список публикаций автора по теме диссертации в журналах, в том числе, в журналах, индексируемых в базах данных Web of Science, Scopus, RSCI и РИНЦ. Разделы автореферата полностью отражают разделы диссертационной работы. По результатам работы подготовлены и получены 3 патента.

Принципиальные замечания к автореферату отсутствуют.

Диссертация Ахметовой А.И. отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.1.10 «Биомеханика и биоинженерия» (по физико-математическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в

Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Ахметова Ассель Иосифовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.1.10 – «Биомеханика и биоинженерия».

Отзыв составил

Ведущий научный сотрудник лаборатории клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П.Чумакова РАН»
(Институт полиомиелита)

Кандидат биологических наук, (03.02.02. – Вирусология)

vorovich_mf@chumakovs.su

тел. 8(495) 841-93-40

Ворович Михаил Фридрихович

Подпись к.б.н. Воровича М.Ф. удостоверяю

Ученый секретарь ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П.Чумакова РАН» (Институт полиомиелита)

К.б.н.

Белякова А.В.

Федеральное государственное автономное научное учреждение «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН», ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П.Чумакова РАН» (Институт полиомиелита)

Адрес: 108819, Российская Федерация, поселение Московский, посёлок Института полиомиелита, домовладение 8, корпус 1

Телефон: +7(495) 841-90-02

e-mail: sue_polio@chumakovs.su