

ОТЗЫВ

научного руководителя, доктора физико-математических наук, профессора А.М. Желтикова на диссертационную работу Чеботарева Артема Станиславовича «Мультимодальная нелинейно-оптическая микроскопия на основе использования ратиометрических флуоресцентных белковых сенсоров», представленную на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.19 – «Лазерная физика»

Диссертация А.С. Чеботарева выполнена в процессе четырехлетнего обучения в аспирантуре и работы на кафедре общей физики и волновых процессов физического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Исследования, представленные в диссертационной работе А.С. Чеботарева, посвящены развитию новых лазерных источников и оптимизации нелинейно-оптических методик визуализации для повышения качества и информативности функциональной микроскопии живых животных с использованием ратиометрических флуоресцентных белковых сенсоров. Разработаны оптические системы для проведения двух- и трехфотонной спектроскопии суммарно в спектральном диапазоне от 650 нм до 1700 нм, проведена валидация данных систем на органических красителях. Для генерации фемтосекундного зондирующего излучения в столь широком диапазоне были сконструированы 3 оптические схемы, основанные на нелинейно-оптических спектральных преобразованиях входных импульсов накачки. Представленные в работе методики включают в себя реализацию нелинейно-оптической микроскопии с возможностью двухцветного двухфотонного опроса и безмаркерной микроскопии на базе генерации второй и третьей оптических гармоник. Оригинальные результаты, описанные в третьей главе, посвящены исследованию флуоресцентных белковых сенсоров активных форм кислорода в контексте двух- и трехфотонного опроса. Проведены измерения спектров сечений двухфотонного возбуждения в абсолютных значениях для семейства сенсоров на базе белка *srYFP*, демонстрирующие их высокий потенциал в задачах глубокой визуализации. Реализована запись концентрационных динамик с восстановлением абсолютных значений, определены чувствительности и динамические диапазоны сенсоров в режиме микроскопии. Исследован вопрос фундаментальных ограничений глубины визуализации двухфотонной микроскопии и преодоления этого предела. В заключительной главе осуществлен переход к функциональной нелинейно-оптической визуализации сенсоров в тканях живых животных. Продемонстрирована визуализация с субклеточным пространственным разрешением динамики кислотности, концентрации пероксида водорода и хлорноватистой кислоты в нейронах, гепатоцитах и нейтрофилах живых мышей и личинок рыб при патологиях и повреждениях тканей. Объединение методик

флуоресцентной микроскопии при двух- и трехфотонном возбуждении и микроскопии на основе второй и третьей гармоники позволило проследить взаимосвязи между биохимическими параметрами клеток и морфологическими изменениями.

Все научные исследования выполнены на высоком научном уровне, и А.С. Чеботарев являлся одним из ключевых экспериментаторов. А.С. Чеботарев является соавтором 14 печатных работ в международных рецензируемых научных изданиях. Из них 13 работ включают в себя материалы исследований по теме диссертационной работы и опубликованы в журналах Sensors and Actuators B: Chemical, Optics Letters, Journal of Biophotonics, Journal of Physics: Photonics, Journal of Raman Spectroscopy

За время своей работы А.С. Чеботарев проявил себя как трудолюбивый, упорный, аккуратный и ответственный молодой физик-специалист. В аспирантуре Чеботарев А.С. являлся стипендиатом фонда развития теоретической физики и математики «БАЗИС». С его участием в качестве исполнителя было реализовано несколько проектов РНФ и РФФИ.

Диссертационная работа А.С. Чеботарева удовлетворяет всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям согласно Положению о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете. Диссертация Чеботарева Артема Станиславовича рекомендуется к защите по специальности 1.3.19. Лазерная физика (физико-математические науки)

Доктор физико-математических наук, профессор

А.М. Желтиков

Дата составления отзыва 22.04.2024

Подпись А.М. Желтикова заверяю,
Ученый секретарь Ученого совета физического
факультета МГУ имени М.В. Ломоносова,
Профессор

С.Ю. Стремоухов