

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В.ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

Багров Дмитрий Владимирович

**Формирование и визуализация
субмикронных полимерных волокон**

Специальность 1.4.7. Высокомолекулярные соединения

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

доктора физико-математических наук

Москва – 2026

Диссертация подготовлена на кафедре биоинженерии биологического факультета Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова

Научный консультант – **Шайтан Константин Вольдемарович**
доктор физико-математических наук,
профессор

Официальные оппоненты – **Галлямов Марат Олегович**
доктор физико-математических наук, доцент,
профессор РАН, физический факультет
Московского государственного университета
имени М.В.Ломоносова, кафедра физики
полимеров и кристаллов, профессор

Батищев Олег Вячеславович
доктор физико-математических наук, доцент,
Институт физической химии и электрохимии
имени А.Н. Фрумкина Российской академии
наук, заместитель директора по научной работе

Ефимов Антон Евгеньевич
доктор биологических наук, Национальный
медицинский исследовательский центр
трансплантологии и искусственных органов
имени академика В.И. Шумакова Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
лаборатория бионанотехнологий, ведущий
научный сотрудник

Защита диссертации состоится «15» октября 2026 г. в 15 часов 30 минут на заседании диссертационного совета МГУ.013.3 Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова по адресу: г. Москва, Ленинские горы, д.1, стр. 2, физический факультет, ауд. Н-16

E-mail: malyshkinaia@my.msu.ru

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В.Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27) и на портале: <https://dissovet.msu.ru/dissertation/3984>.

Автореферат разослан «__» _____ 2026 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат физико-математических наук

И.А. Малышкина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Волокнистые структуры широко распространены как в природных, так и в искусственных материалах. Способность формировать волокна и нити является отличительным свойством полимеров. С точки зрения химии, большинство волокон представляют собой полимеры или композиты на их основе, тогда как количество и разнообразие волокон из низкомолекулярных соединений сравнительно невелико (прежде всего это углеродные и минеральные волокна).

Среди волокнистых структур особый интерес представляют наиболее тонкие (с диаметром от нескольких нанометров до нескольких микрометров). Благодаря высокой удельной поверхности и специфическим свойствам, в частности термическим, механическим и биологическим, они рассматриваются как перспективный класс функциональных материалов. Они используются для фильтрации жидкостей и газов, а также для изготовления специализированных электродов, сенсоров, сорбентов, носителей для лекарств и раневых покрытий. Значительный интерес к ним возник на фоне развития тканевой инженерии, поскольку с точки зрения морфологии, внеклеточный матрикс мягких тканей млекопитающих представляет собой волокнистую структуру, состоящую из нанофибрилл. Дополнительным фактором, усилившим внимание научного сообщества к субмикронным полимерным фибриллам, было интенсивное развитие нанотехнологий в начале XXI века и связанное с этим развитие микроскопии высокого разрешения. Детальное исследование морфологии, пространственной организации и размеров фибрилл позволяет установить взаимосвязь между структурой волокнистых материалов и их макроскопическими свойствами. Это необходимо для развития их приложений – от традиционных фильтров до наиболее современных сенсоров и искусственных органов.

Одним из наиболее популярных и широко используемых способов получения субмикронных волокон является электроформование (электроспиннинг) – изготовление полимерных волокон в сильном электрическом поле. Этот метод был разработан в середине XX века академиком И.В. Петряновым-Соколовым и использовался для производства воздушных фильтров. В начале XXI века интерес к этому методу стал стремительно расти во всем мире – прежде всего в контексте биомедицинских исследований. В связи с этим актуальной научной задачей является систематическое исследование субмикронных полимерных волокон как особого класса структурированных полимерных материалов, анализ места электроформования в системе методов их получения, а также развитие методов визуализации и количественного анализа их морфологии.

Степень разработанности темы исследования

Изучение полимерных волокон как материалов для изготовления тканей имеет многовековую историю, а субмикронные волокна стали объектом пристального внимания мирового научного сообщества в конце XX – начале XXI века. Это во многом связано с развитием методов визуализации, прежде всего электронной и

зондовой микроскопии, которые позволили быстро и точно получать изображения нановолокон, измерять их размеры и, следовательно, определять условия их формирования и стабильности.

Многие материалы и устройства, содержащие субмикронные полимерные фибриллы, уже применяются на практике. Например, тонкие электроформованные нити используются в воздушных фильтрах и в раневых покрытиях из биосовместимых полимеров. Полипропиленовые мембраны, полученные методом вытяжки и содержащие поры, границы которых представляют собой нанофибриллы, применяются в литий-ионных батареях. Гидрогели, состоящие из нанофибрилл биосовместимых полимеров, образующихся в результате спонтанной агрегации (самосборки), применяются в качестве хирургических и косметических филлеров. Однако, несмотря на обширный опыт применения, многие фундаментальные и технологические свойства тонких полимерных фибрилл и волокон остаются недостаточно изученными. Некоторые процедуры визуализации, необходимые для их исследования, сопряжены с возникновением артефактов как на этапе подготовки образцов, так и в процессе измерений. Совершенствование соответствующих методик является необходимым условием для количественного анализа волокнистых структур и условий их формирования.

Возможности варьирования состава и создания многокомпонентных волокон представляют интерес с точки зрения управления их свойствами: кинетикой деградации, эластичностью, смачиваемостью и другими. Особый интерес представляют системы, в которых одной из компонент является белок, поскольку внесение белков в состав тканеинженерных конструкций позволяет расширить их функциональность. Технологические аспекты введения белков в состав волокон, а также вопросы однородности их структуры, стабильности и кинетики высвобождения белков являются предметом активного изучения.

Наиболее известное применение электроформованных мембран в биомедицине связано с моделированием внеклеточного матрикса. Однако в последние годы их стали также использовать в качестве компонент биологических и химических сенсоров. Возможности и перспективы этого направления пока освещены сравнительно слабо и требуют дальнейшего изучения.

В целом, электроформование часто рассматривают как практически безальтернативный метод изготовления субмикронных полимерных волокон. Это обусловлено его гибкостью и широкой распространенностью; в то же время его практически не обсуждают в контексте альтернативных методов.

Цель работы: создать комплекс подходов к формированию и визуализации субмикронных полимерных волокон, с особым вниманием к электроформованию как наиболее актуальному подходу, а также расширить его возможности и области применения.

Задачи

1. Определить место электроформования среди других методов изготовления тонких полимерных волокон, таких как самосборка, селективное фотоотверждение, механическая вытяжка. Продемонстрировать применимость

электроформования для синтетических и природных полимеров, а также их смесей.

2. Разработать процедуры визуализации, основанные на методах микроскопии высокого разрешения (АСМ, СЭМ, ПЭМ, КЛСМ), оптимальные для каждого типа исследуемых объектов – субмикронных полимерных волокон в суспензиях, а также волокнистых и фибриллярно-пористых пленок.

3. Для различных полимеров и полимер-белковых смесей определить взаимосвязь между их химическим составом и морфологией электроформованных волокон; предложить способы получения ориентированных электроформованных волокон.

4. Определить влияние введения белка в состав электроформованных мембран на основе полиэфиров на их однородность и растворимость.

5. Экспериментально подтвердить применимость созданных электроформованных мембран в качестве субстратов для культивирования клеток и элементов биосенсоров.

Научная новизна

1. Предложен методический подход к исследованию поверхности полимеров, деформированных по механизму крейзинга в адсорбционно-активной среде, *in situ*. С помощью атомно-силовой микроскопии количественно описана фибриллярно-пористая структура, возникающая при деформации полиэтилена высокой плотности (ПЭВП), а также выявлены ее изменения, происходящие при удалении среды и при релаксации механического напряжения.

2. Для детального определения морфологии, размеров и расположения субмикронных волокон на поверхности и в объеме электроформованных мембран впервые использована корреляционная микроскопия, объединяющая сканирующую электронную и конфокальную микроскопию (СЭМ-КЛСМ).

3. Доказано, что при электроформовании гетерогенной смеси полимера и белка, приготовленной в общем растворителе, возможно совмещение компонент в одном субмикронном волокне, несмотря на их термодинамическую несовместимость; это экспериментально продемонстрировано для смесей полилактида с желатином и полилактида с альбумином.

4. Для изготовления ориентированных электроформованных волокон разработан метод их получения путем вытяжки в пластификаторе, который оказался более эффективным, чем традиционный «метод зазора» (для полилактида ориентационные факторы составили 0.92 и 0.7 соответственно).

5. Для повышения чувствительности биосенсоров впервые количественно сопоставлены закономерности осаждения аналитов на электроформованную мембрану при инкубации мембраны в растворе и при направленном пропускании раствора через нее. Количество адсорбированного вещества возрастало в 2.8-11.5 раза в случае неспецифического связывания и в 2.4-3.4 раза в случае специфического; предложена теоретическая модель для описания диффузии аналита в мембране и его адсорбции.

Теоретическая значимость работы

Алгоритм создания цифровых моделей электроформованных мембран и соответствующая компьютерная программа могут быть использованы для

определения взаимосвязей между структурными характеристиками мембраны, а также для создания синтетических изображений, полученных с помощью микроскопии высокого разрешения.

Теоретическая модель диффузии-адсорбции, описывающая адсорбцию аналита на мембрану из движущегося раствора, может быть полезна для оптимизации конструкции и режимов эксплуатации мембранных биосенсоров.

Практическая значимость работы

Подходы к визуализации субмикронных волокон, предложенные в данной работе, могут применяться в фундаментальных и прикладных исследованиях широкого класса нано- и микрообъектов, включая природные и синтетические наноструктуры.

Биоразлагаемые электроформованные мембраны, изготовленные в данной работе, могут использоваться в задачах тканевой инженерии, в частности, для изготовления искусственной кожи.

Электроформованные мембраны, состоящие из ориентированных волокон, являются модельной системой для определения реакции эукариотических клеток на анизотропную подложку и исследования контактного ориентирования.

Адаптированный протокол подготовки клеток к исследованию методом СЭМ, использующий ГМДС, может применяться для определения морфологии клеток, выращенных на полимерных субстратах, чувствительных к ацетону.

Методология и методы исследования

Методы изготовления тонких полимерных волокон, использованные в работе, включали самосборку (с ее помощью получали нанофибриллы пептида RADA-16-I), селективное фотоотверждение (с его помощью получали структуры из метакрилированных белков), электроспиннинг (электроформование) и крейзинг в адсорбционно-активной среде (с его помощью формировали нанофибриллы ПЭВП, ПП и ПКЛ). Основным методом был выбран электроспиннинг – его применяли для изготовления волокон из широкого спектра полимеров, а именно: различных полиэфиров, нейлонов, белков, нитроцеллюлозы, а также смесей полиэфиров и белков, приготовленных в одном растворителе.

В работе использованы различные методы микроскопии: сканирующая электронная (СЭМ), просвечивающая электронная (ПЭМ), атомно-силовая (АСМ), широкопольная флуоресцентная, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (КЛСМ), а также КР-микроспектроскопия. Кроме того, предложена процедура корреляционной микроскопии, которая позволяет исследовать одну и ту же область образца двумя методами последовательно (СЭМ и КЛСМ). Особенность экспериментов, выполненных с помощью СЭМ, состояла в том, что большинство из них проводилось без напыления металла на исследуемый образец, при малом токе электронного пучка. Эксперименты, выполненные с помощью АСМ, имели две методические особенности. В части исследования тонких пептидных фибрилл использовались сверхострые кантилеверы, а при исследовании полимеров, деформированных по механизму крейзинга, измерения проводились на поверхности пленки, находящейся под нагрузкой, в жидкости.

Кроме различных методов визуализации, в работе использованы следующие методы: построение фазовой диаграммы трехкомпонентной системы методом точки помутнения, механические испытания на разрыв, измерения краевого угла смачивания методом лежащей капли, определение кинетики деградации по измерению массы.

В части исследования биосовместимости электроформованных мембран использованы методы клеточной биологии, а при рассмотрении их как компонент биосенсоров – метод иммуноферментного анализа.

Положения, выносимые на защиту

1. Предложенный в работе комплекс методов формирования и визуализации субмикронных полимерных волокон позволяет изготавливать их из различных по химической структуре полимеров: полиэфиров, нейлонов, полиолефинов, а также некоторых белков и пептидов.

2. Оригинальная процедура визуализации полимерных пленок, находящихся в растянутом состоянии, с помощью атомно-силового микроскопа, позволяет количественно охарактеризовать нативную фибриллярно-пористую структуру крейзованных полимеров; наблюдаемая структура изменяется при удалении адсорбционно-активной среды или механической нагрузки.

3. Корреляционная микроскопия, сочетающая методы сканирующей электронной и конфокальной микроскопии, позволяет получить наиболее полную информацию о структуре электроформованных мембран как на поверхности, так и в объеме.

4. Методы КР-спектроскопии, рентгеновского микроанализа и флуоресцентной микроскопии показывают, что при применении электроформования к несовместимой смеси полимера и белка, приготовленной в общем растворителе, можно совместить их в одном субмикронном волокне.

5. Растяжение электроформованной мембраны в пластификаторе позволяет более эффективно ориентировать волокна, чем традиционный «метод зазора»; параллельно уложенные электроформованные волокна могут использоваться для контактного ориентирования клеток.

6. Адсорбция молекул белка на волокна электроформованной мембраны происходит более интенсивно, если прокачивать раствор через нее под давлением, чем при инкубации мембраны в растворе. Эта закономерность проявляется и при неспецифической адсорбции, и при специфическом связывании (при наличии специфических антител на поверхности волокон), и может использоваться в разработке биосенсоров.

Апробация работы

Результаты работы были представлены и обсуждены на следующих конференциях и семинарах:

Первый российский кристаллографический конгресс (Москва, 2016), Восьмая международная конференция «Современные достижения бионаноскопии» (Москва, 2016), VII Всероссийская Каргинская конференция «Полимеры – 2017» (Москва, 2017), Четвертый междисциплинарный научный форум с

международным участием «Новые материалы и перспективные технологии» (Москва, 2018), Итоговая научно-практическая конференция ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России (Москва, 2018), Пятый междисциплинарный научный форум с международным участием «Новые материалы и перспективные технологии» (Москва, 2019), конференция «Ломоносовские чтения – 2019» (Москва, 2019), конференция «Biomaterials for Cell and Drug Delivery» (Великобритания, Манчестер, 2019), конференция «UK-Russia Bioinspired materials conference» (Великобритания, Ланкастер, 2020), Школа-конференция молодых учёных ИОФ РАН «Прохоровские недели» (Москва, 2021), конференция «Клиническая диагностика и персонализированная медицина» (Москва, 2022), 4-я Международная школа-конференция «Сканирующая зондовая микроскопия для биологических систем – 2022» (Москва, 2022), конференция «Ломоносовские чтения – 2023» (Москва, 2023), Всероссийская конференция «Биомедицинская химия: наука и практика» (Москва, 2024), X Всероссийская научная молодежная школа-конференция «Химия, физика, биология: пути интеграции» (Москва, 2024), Школа-конференция «Инженерия живых систем – достижения и перспективы» (Москва, 2025).

Публикации

Основное содержание работы опубликовано в 34 статьях, включая 33 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности и отрасли наук.

Личный вклад автора

Все исследования, вошедшие в данную работу, были выполнены либо самим диссертантом, либо в соавторстве с диссертантом в рамках совместных проектов, либо под его непосредственным руководством, в том числе в рамках проектов Российского научного фонда.

Работа с пептидом RADA-16-I выполнена совместно с И.П.Удовиченко и А.П.Данилковичем (ФИБХ РАН, Пущино) и Ю.С.Газизовой (ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России имени Ю.М.Лопухина). Работы по исследованию фибриллярно-пористых полимеров, деформированных по механизму крейзинга, были выполнены совместно с А.Ю.Ярышевой и другими сотрудниками лаборатории А.Л.Волынского (Химический факультет МГУ). Упорядоченные структуры, сформированные с помощью селективного фотоотверждения, были изготовлены И.В.Бессоновым (ПАО «Эфферон») и научной группой М.М.Мойсеновича (Биологический факультет МГУ). Эксперименты по электроформованию (получение ориентированных и смесевых волокон) были выполнены совместно с Е.Р.Павловой и другими сотрудниками лаборатории Д.В.Клинова (ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России имени Ю.М.Лопухина). Разработка методики корреляционной микроскопии выполнена совместно с А.М.Мойсенович (Биологический факультет МГУ). Теоретический анализ диффузии-адсорбции выполнен совместно с К.А.Прусаковым (ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России имени Ю.М.Лопухина). Эксперименты по иммуноанализу выполнены

А.А.Маслаковой, А.Е.Сидоровой и С.В.Замалутдиновой (Биологический факультет МГУ) под руководством автора.

Объем и структура работы

Диссертационная работа состоит из введения, 6 глав, заключения и списка цитируемой литературы, включающего 336 наименований. Работа изложена на 243 страницах печатного текста и содержит 96 рисунков и 6 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении описана актуальность выбранной темы диссертационной работы, определена цель и задачи исследования, а также отражена научная новизна и практическая значимость работы.

В **первой** главе проводится анализ литературных данных о структуре тонких полимерных волокон, их практической значимости и способах их получения. Кроме того, обсуждаются некоторые аспекты электроформования: изготовление смесевых волокон и использование электроформованных волокон в тканевой инженерии и разработке биосенсоров.

Основным промышленным методом получения полимерных волокон является экструзия – пропускание раствора или расплава полимера через отверстие в фильере. Однако для субмикронных волокон этот метод применим слабо, т.к. при малом диаметре волокна обычная экструзия либо приводит к формированию капель вследствие неустойчивости Рэлея, либо становится затруднительной (продавливание полимера через отверстие малого диаметра требует колоссального давления). Поэтому вместо экструзии используют другие, специфические методы.

Центральное место среди них занимает электроформование (электроспиннинг). При электроформовании тонкая струя раствора полимера приобретает электрический заряд и растягивается под действием отталкивания между близко расположенными участками. Растяжение струи и испарение растворителя приводят к уменьшению ее диаметра, и в результате диаметр электроформованного волокна составляет от ~10 нм до ~1 мкм. Такой метод применим к широкому классу полимеров и смесей различного состава.

Широкое распространение электроформования привело к тому, что многие авторы перестали рассматривать альтернативные подходы к формированию тонких полимерных волокон. Однако некоторые подходы, например самоорганизация пептидов, активно используются в технологии для изготовления различных изделий. Поэтому в данной работе электроформование рассмотрено в контексте альтернативных подходов к получению тонких полимерных волокон.

Во **второй** главе представлен комплекс подходов к формированию субмикронных полимерных волокон, а также описаны эксперименты по их визуализации. Созданный в работе комплекс включает в себя четыре подхода: самосборка (самоорганизация), селективное фотоотверждение, крейзинг в адсорбционно-активной среде и электроформование.

Получение определенных структур путем самосборки подразумевает, что они возникают самопроизвольно при некоторых условиях. В данной работе самосборка рассмотрена на примере пептида RADA-16-I, состоящего из 16 аминокислот. Его особенность состоит в том, что в нем чередуются относительно гидрофобные остатки аланина и относительно гидрофильные остатки аргинина и аспарагиновой кислоты. В результате в водных растворах молекулы RADA-16-I стремятся агрегировать с образованием бислойных структур, в которых остатки аланина скрыты от контакта с растворителем, а остатки аргинина и аспарагиновой кислоты, экспонированы в раствор. Предполагается, что в каждом слое молекулы удерживаются между собой водородными связями (Рисунок 1 а). Подобная укладка описана для многих амилоидоподобных пептидов [1], [2].

Методами ПЭМ и АСМ были получены изображения нанофибрилл RADA-16-I (Рисунок 1 б, в). Их ширина составляла 5-6 нм, что соответствует расчетной контурной длине пептида (5.1 ± 0.1 нм), т.е. молекулы находятся в предельно вытянутом состоянии и расположены перпендикулярно оси нанофибриллы. Значение ширины нанофибриллы, измеренное ПЭМ, было подтверждено методом АСМ с использованием сверхострых зондов. Кроме того, методом АСМ было показано, что высота нанофибрилл над подложкой имеет распределение с характерными пиками (Рисунок 1 г), а расстояние между этими пиками составляет ~ 1.8 нм. Оно соответствует толщине бислоя, и это значение было подтверждено с помощью молекулярной динамики (Рисунок 1 д). Распределение по высотам, содержащее множество пиков, можно интерпретировать следующим образом: нанофибриллы RADA-16-I состоят из бислоев, сцепленных боковыми поверхностями. В целом, в экспериментах с пептидом RADA-16-I наблюдалось хорошее соответствие между значениями, экспериментально измеренными с помощью микроскопии, и теоретическими оценками, полученными исходя из размеров и конформации молекул.

Второй подход, рассмотренный в работе, – это селективное фотоотверждение. Он заключается в формировании сложных пространственных структур из светочувствительного материала, который под действием света образует межмолекулярные сшивки и переходит в нерастворимое состояние. Такие структуры, включая волокна, могут быть сформированы путем облучения материала светом подходящей длины волны через маску (как в фотолитографии, при использовании негативного фоторезиста), либо путем сканирования лазером конфокального микроскопа.

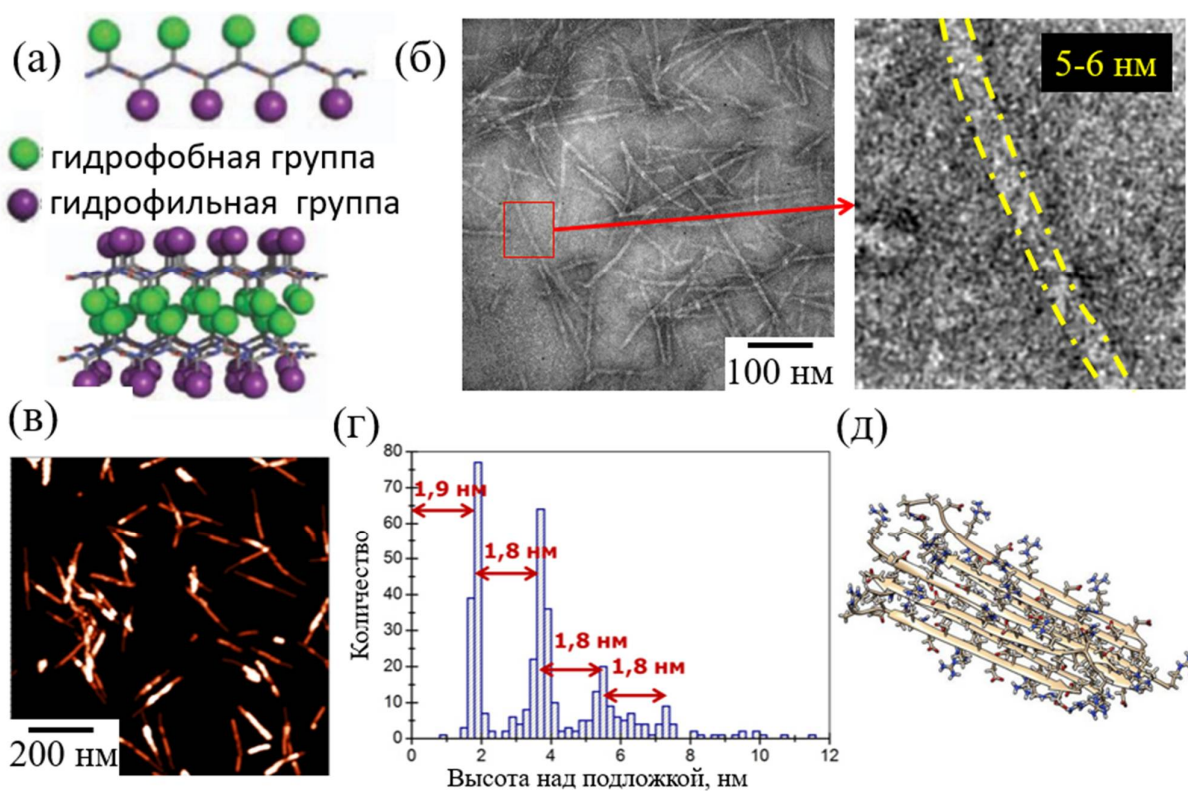


Рисунок 1 – Пептид RADA-16-I и схема его агрегации. (а) Принципиальная схема агрегации пептидов, состоящих из звеньев, чередующихся по гидрофильности. (б), (в) Изображения фибрилл RADA-16-I, полученные методами ПЭМ и АСМ, соответственно. (г) Гистограмма распределения высот фибрилл, полученная по данным АСМ. (д) Молекулярная модель агрегата из восьми молекул RADA-16-I.

В данной работе этот подход был использован для изготовления различных структур из метакрилированных белков – фиброина шелка и желатина. Схема химической модификации и изготовления структур из метакрилированного фиброина представлена на рисунке 2 а. Метакрилирование проводили путем обработки фиброина метакриловым ангидридом. Полимеризация метакрилированного фиброина включала две стадии: физическую, под действием света с длиной волны в диапазоне 200-405 нм, и химическую, осуществляемую путем обработки спиртом (он повышает механические характеристики фиброина [3]). В результате были сформированы различные упорядоченные структуры, например линии (Рисунок 2 б, в), узоры (Рисунок 2 г), а также пленки и пористые губки.

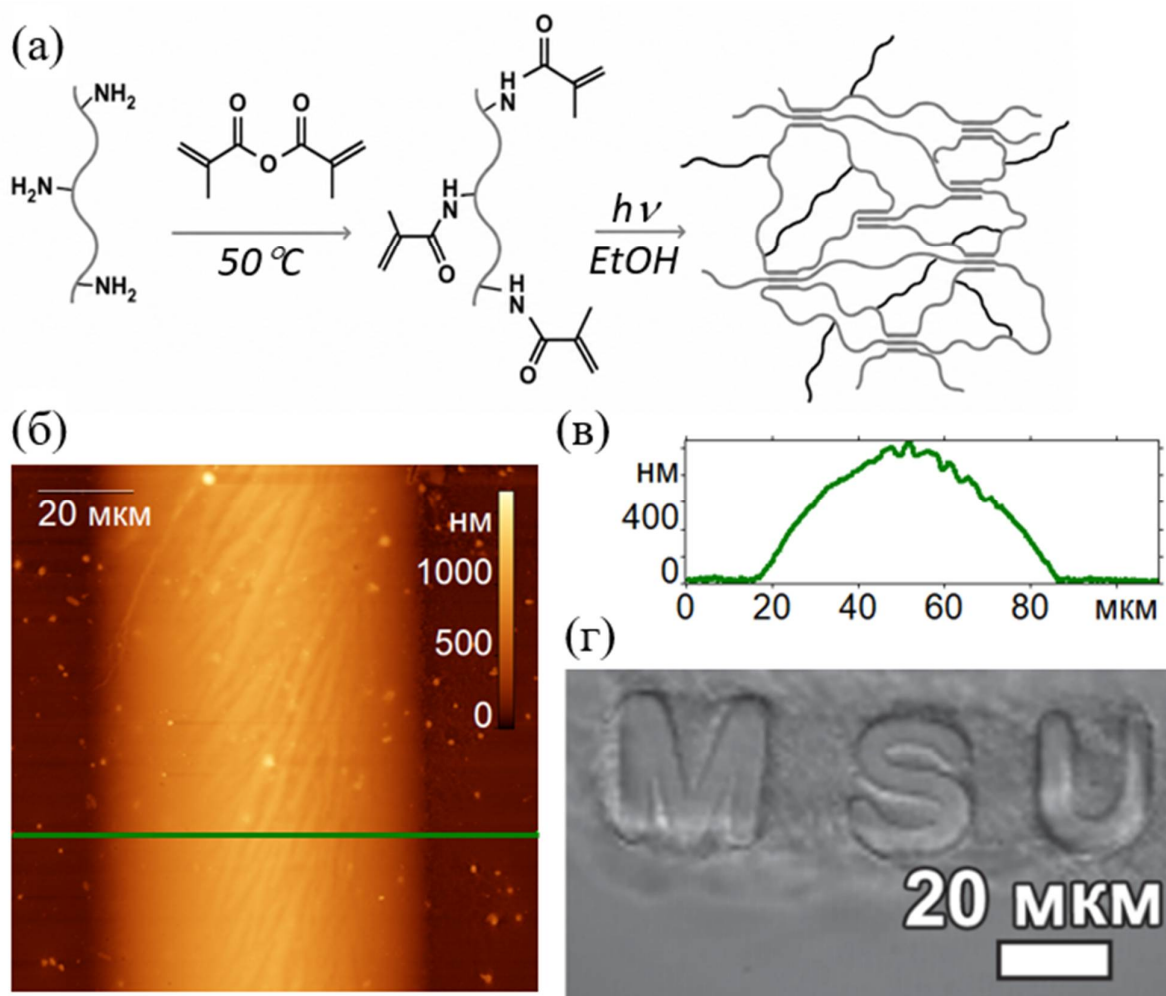


Рисунок 2 – Метакрилованный фиброин и структуры из него. (а) Схема метакрилования фиброина и последующей сшивки. (б) Изображение линии из метакрилованного фиброина, АСМ в жидкости, и профиль сечения поперек этой линии (в). (г) Оптическое изображение микроскопической надписи из метакрилованного фиброина.

Если рассматривать самосборку и селективное фотоотверждение в широком контексте формирования тонких волокон, становится ясно, что эти подходы не универсальны и применимы лишь к веществам с определенной химической структурой. Два других подхода, рассмотренных в работе, представляются более общими – это крейзинг и электроформование.

Крейзинг – это механизм неупругой деформации полимеров, при котором в растягиваемом образце формируется развитая сеть пор, отделенных друг от друга фибриллами, ориентированными вдоль направления вытяжки. В данной работе обсуждается делокализованный крейзинг, при котором пористость возникает не локально, а во всем объеме образца. Для крейзинга многих полимеров необходима адсорбционно-активная среда (ААС) – считается, что она снижает поверхностную энергию полимера и обеспечивает возможность распада сплошного полимера на множество тонких фибрилл. В роли ААС может выступать этанол, водно-спиртовые смеси, гептан и другие вещества. На

макроскопическом уровне крейзинг проявляется увеличением пористости образца по мере вытяжки, а на микроскопическом уровне – формированием фибриллярно-пористой структуры.

Для полимеров, деформированных по механизму крейзинга в ААС, характерна неустойчивость фибриллярной структуры – фибриллы имеют тенденцию агрегировать при удалении среды (Рисунок 3 а) [4]. Это объясняется тем, что при агрегации уменьшается поверхность полимера и, следовательно, его поверхностная энергия. В связи с этим измерения структуры необходимо проводить непосредственно в ААС. На примере ПЭВП был предложен подход к визуализации поверхности полимеров, деформированных в ААС, *in situ*. Он состоял в том, что полимерные пленки растягивали и зажимали в металлические рамки, предотвращающие усадку, а затем, не извлекая из ААС, переносили под АСМ (Рисунок 3 б). Методика измерений была отработана на примере ПЭВП, растянутого в этанол-водной смеси на 200% (Рисунок 3 в). На поверхности растянутой пленки удалось визуализировать фибриллярно-пористую структуру: в результате вытяжки расстояние между ламелями ПЭВП увеличилось, а между ними сформировались тонкие фибриллы, расстояние между их осями составляло 15-35 нм.

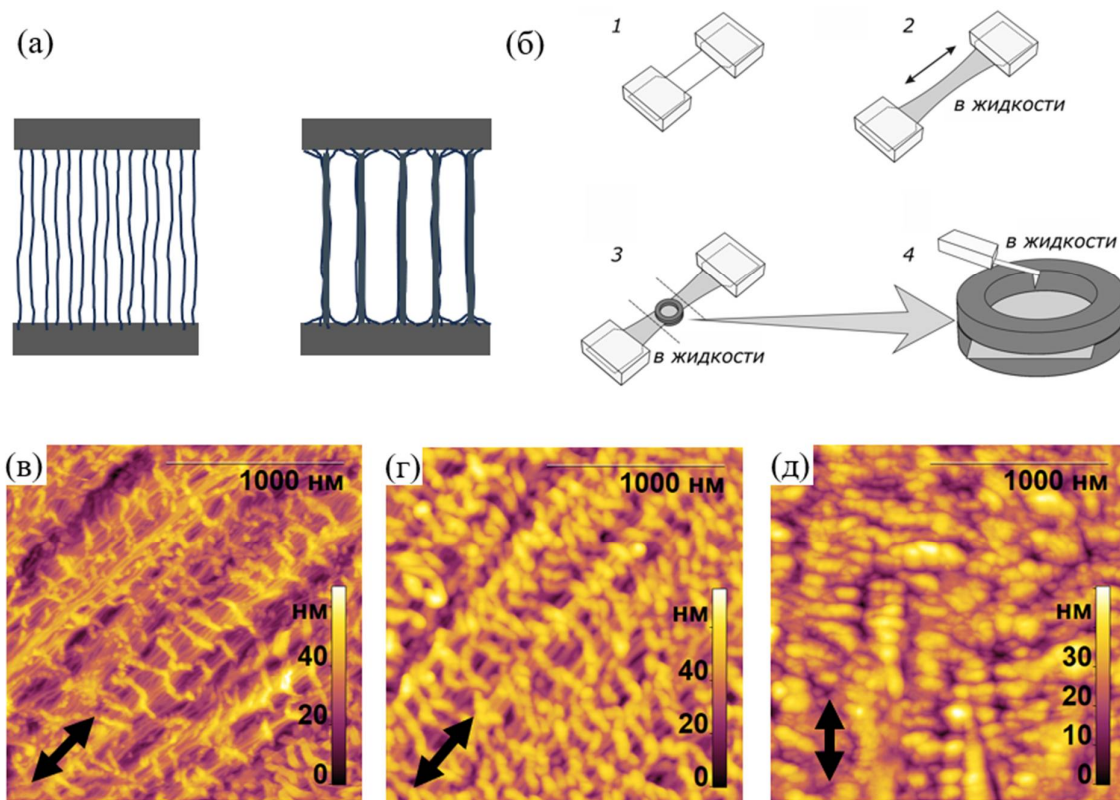


Рисунок 3 – Крейзинг ПЭВП и визуализация структуры ПЭВП методом АСМ. (а) Схема агрегации фибрилл при удалении ААС. (б) Схема растяжения пленки в ААС и ее исследования с помощью АСМ. (в) Поверхность ПЭВП в ААС при $\varepsilon=200\%$. (г) Поверхность ПЭВП после растяжения в ААС и высушивания. (д) Поверхность ПЭВП после освобождения пленки из зажима. На (в)-(д) черная стрелка показывает направление вытяжки.

Чтобы продемонстрировать, что съемка на АСМ в жидкости и при сохранении механической нагрузки действительно необходима для визуализации нативной структуры крейзов, были проведены сравнительные эксперименты. Если извлечь образец из жидкой среды и провести измерения на воздухе, то расстояние между фибриллами возрастает до 30-80 нм (Рисунок 3 з). Это может быть следствием двух факторов. Во-первых, после удаления ААС и высушивания образца происходит агрегация фибрилл, которая была ранее обнаружена дифракционными методами [4]. Во-вторых, появляется дополнительное давление кантилевера на образец, связанное с действием капиллярной силы при сканировании на воздухе. Сравнить влияние этих двух факторов на морфологию полимера сложно, и поэтому в большинстве работ по исследованию крейзинга нами была использована именно методика съемки в среде под нагрузкой. Если полимерную пленку освобождали из зажима, то происходила ее усадка, а на микроуровне фибриллы исчезали (Рисунок 3 д). Это подтверждает необходимость использования зажима в описываемых экспериментах.

Для исследования усадки было предложено оригинальное решение. На поверхность деформированной пленки ПЭВП методом силовой литографии наносили метку и исследовали определенный участок поверхности, положение которого точно известно относительно метки. Затем освобождали пленку из зажима, находили метку и проводили повторное исследование выбранного участка уже после усадки (Рисунок 4 а, б).

На макроскопическом уровне степень вытяжки при усадке снижалась с $\varepsilon=200\%$ до $\varepsilon'=140\%$. На микроскопическом уровне усадка происходила неоднородно: соседние ламели, соединенные фибриллами в растянутом состоянии, сближались, а фибриллы перестали быть видимыми (Рисунок 4 в, з). На изображениях усевшей пленки наблюдались гранулы, ширина которых, измеренная на половине высоты, оказывалась больше, чем ширина отдельных ламелей (она составляла $d_1=34\pm6$ нм, а ширина гранул составляла $d_2=50\pm12$ нм, Рисунок 4 д, е). По-видимому, при усадке фибриллы стягивались к ламелям, расположенным рядом с ними, и при этом формировались гранулы, наблюдаемые методом АСМ.

Таким образом, с исследованиями крейзинга связаны два необычных методических подхода. Во-первых, была предложена методика визуализации поверхности растянутых пленок, деформированных по механизму крейзинга в ААС, которая позволяет визуализировать их структуру *in situ*. Во-вторых, предложена методика повторной визуализации одной и той же области поверхности пленки под нагрузкой и после ее снятия, позволяющая определить изменения структуры, происходящие при усадке. Обе методики были предложены для ПЭВП, но первая из них была также использована для двух других полимеров – ПП и ПКЛ.

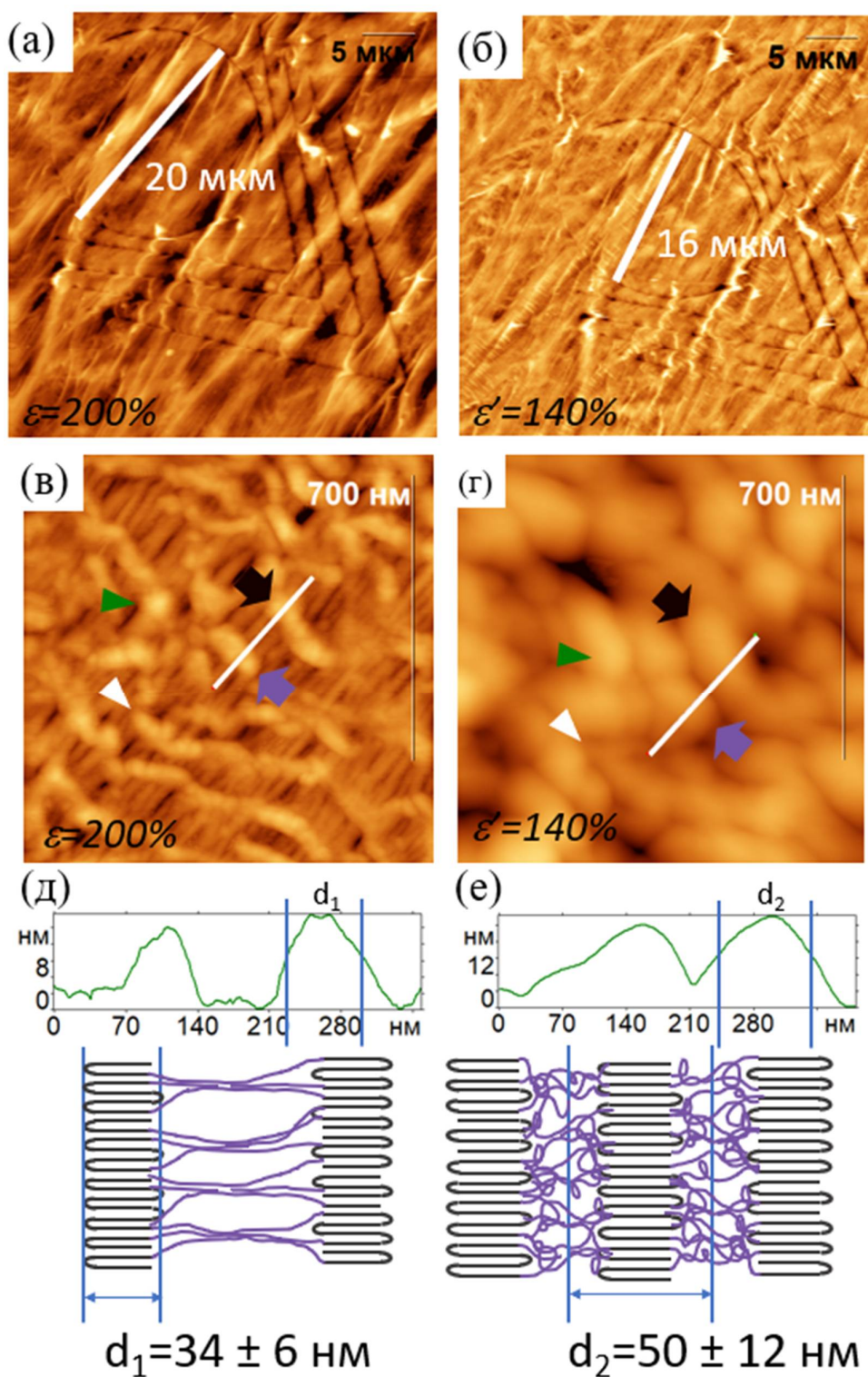


Рисунок 4 – Исследование усадки ПЭВП с помощью АСМ. (а), (б) Метка, нанесенная с помощью силовой литографии до и после усадки. (в), (г) Поверхность ПЭВП до и после усадки, отмечены четыре заметные структуры. (д), (е) Графики сечений вдоль направления вытяжки, вдоль белых линий на (в) и (г) соответственно, а также качественные схемы расположения ламелей и фибрилл.

Если рассматривать крейзинг в контексте тонких субмикронных волокон, то несмотря на его универсальность, этот метод обладает явным недостатком – пленки нуждаются в специальной стабилизации структуры, которая обычно достигается отжигом. В связи с этим, особенно гибким представляется электроспиннинг (электроформование). Этот метод основан на использовании сильного электрического поля для растяжения тонкой струи полимерного раствора (в редких случаях используют расплав, но этот вариант работе не обсуждается).

Были подобраны условия электроспиннинга волокон и мембран из различных полимеров, а именно (Рисунки 5 и 6):

- полиэфиров (полилактида, ПЛА; поли(ε-капролактона), ПКЛ; поли(оксибутирата-со-оксивалерата), ПОБВ; полидиоксанона, ПДО; поли(ω-пентадекалактона), ППДЛ)
- нитроцеллюлозы
- нейлонов (нейлона-6 и нейлона-11)
- белков (фиброина, желатина, бычьего сывороточного альбумина, БСА)
- полимер-белковых смесей: ПЛА с БСА, ПЛА с желатином, ПОБВ с БСА.

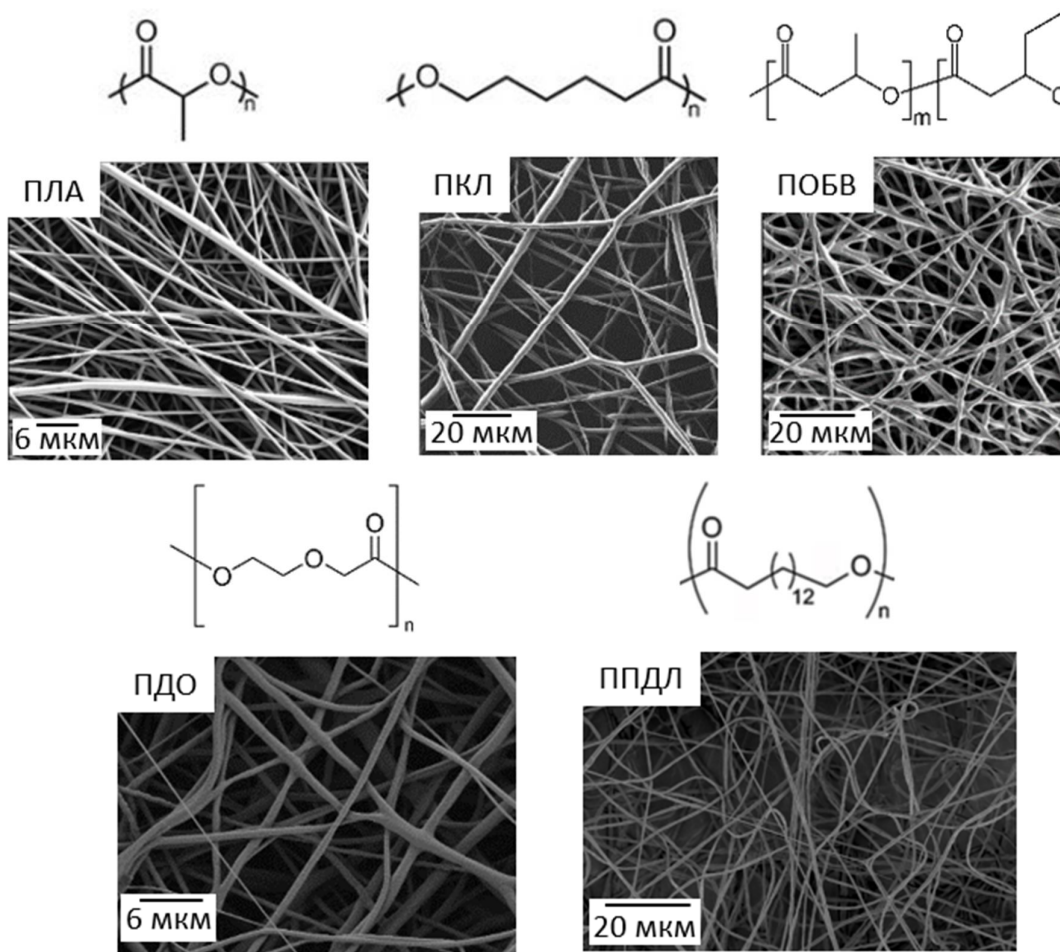


Рисунок 5 – Химические формулы полиэфиров, использованных в работе, и СЭМ-изображения электроформованных волокон из них.

В большинстве экспериментальных систем в качестве растворителя использовали 1,1,1,3,3,3-гексафторизопропанол (ГФИП), но в некоторых случаях прибегали к использованию двухкомпонентных растворителей. Например, в работе с нитроцеллюлозой использовали смесь ацетона и диметилформамида (7:3 или 8:2 по объему), а в работе с ППДЛ использовали смесь ГФИП с хлороформом (7:3 по объему). Для всех перечисленных систем с помощью СЭМ были измерены диаметры волокон. Особенность экспериментов по визуализации состояла в том, что измерения методом СЭМ обычно проводили без напыления металла. Это достигалось за счет малого ускоряющего напряжения ($U \sim 1-5$ кВ) и малого тока ($I_e \sim 30-70$ пА). Возможность проведения измерений методом СЭМ без напыления металла была критически важна в экспериментах по корреляционной микроскопии.

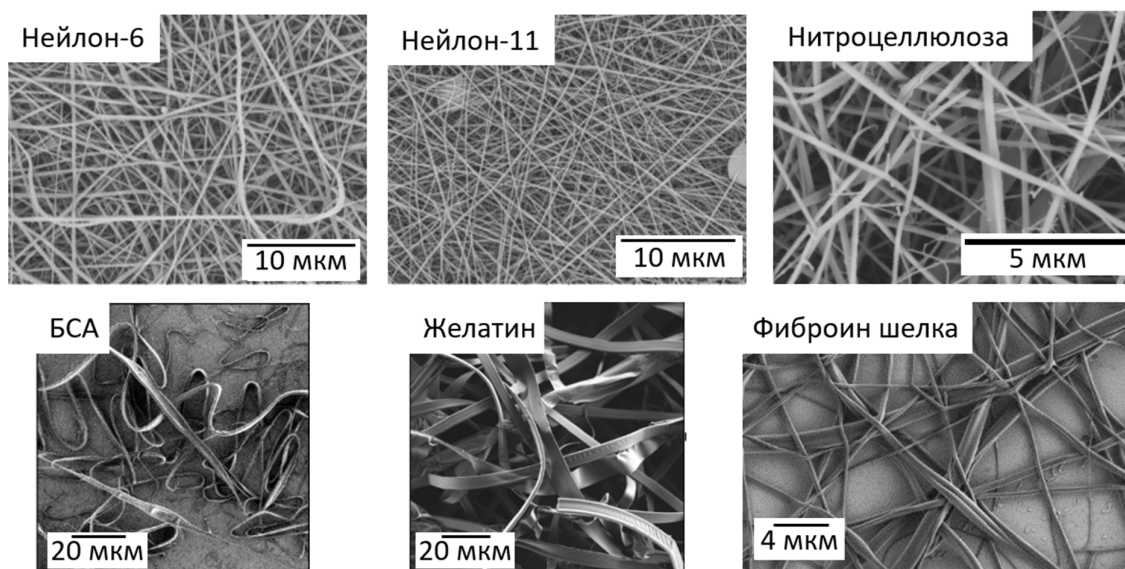


Рисунок 6 – Электроформованные волокна из нейлонов, нитроцеллюлозы и белков (БСА, желатина и фиброина шелка).

Таким образом, во второй главе описан комплекс подходов к формированию и визуализации субмикронных волокон. В центре этого комплекса находится электроформование – подход, который представляется наиболее гибким и универсальным. Процедуры визуализации волокон выбраны с учетом того, в какой именно форме они получаются – в виде суспензии, поверхностных структур, в виде свободной или растянутой пленки.

Третья глава посвящена корреляционной микроскопии – оригинальному способу исследования микроструктуры образцов, который был использован для характеристики электроформованных мембран. Обычно для исследования электроформованных мембран используют СЭМ, однако этот метод плохо подходит для анализа внутренней структуры мембраны и может приводить к артефактам при исследовании биологических образцов (клеток, находящихся на поверхности волокон).

Метод конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (КЛСМ) используют для электроформованных мембран сравнительно редко, т.к.

диаметры волокон могут быть меньше предела разрешения. В данной работе описано редкое сочетание СЭМ и КЛСМ в варианте корреляционной микроскопии, т.е. в экспериментах проводили измерения структуры одного и того же участка поверхности образца. Для этого на образцы с помощью лазерной гравировки наносили метки – их использовали для выбора поля зрения и его поиска после переноса образца между микроскопами (Рисунок 7 а).

Каждый из двух используемых методов накладывает специфические требования на подготовку образцов. Для СЭМ обычно используют металлизацию поверхности, препятствующую регистрации флуоресценции, тогда как КЛСМ требует введения красителя и часто — заключения образца в заливочную среду, что затрудняет последующие исследования методом СЭМ.

Было продемонстрировано, что в экспериментах по корреляционной микроскопии можно использовать обе последовательности: сначала КЛСМ, потом СЭМ, или же сначала СЭМ, потом КЛСМ (Рисунок 7 б, в). В первом случае измерения методом КЛСМ проводили без заключения образца в заливочную среду, зато перед измерениями на СЭМ можно было сделать напыление металла. Если же метод СЭМ использовали первым, то измерения проводили без напыления, при малом ускоряющем напряжении и малой силе тока. Затем образец можно было заключить в заливочную среду, чтобы улучшить качество изображений, получаемых КЛСМ (именно он обычно ограничивает достижимое разрешение). Поэтому предпочтительнее сначала использовать СЭМ, а затем КЛСМ.

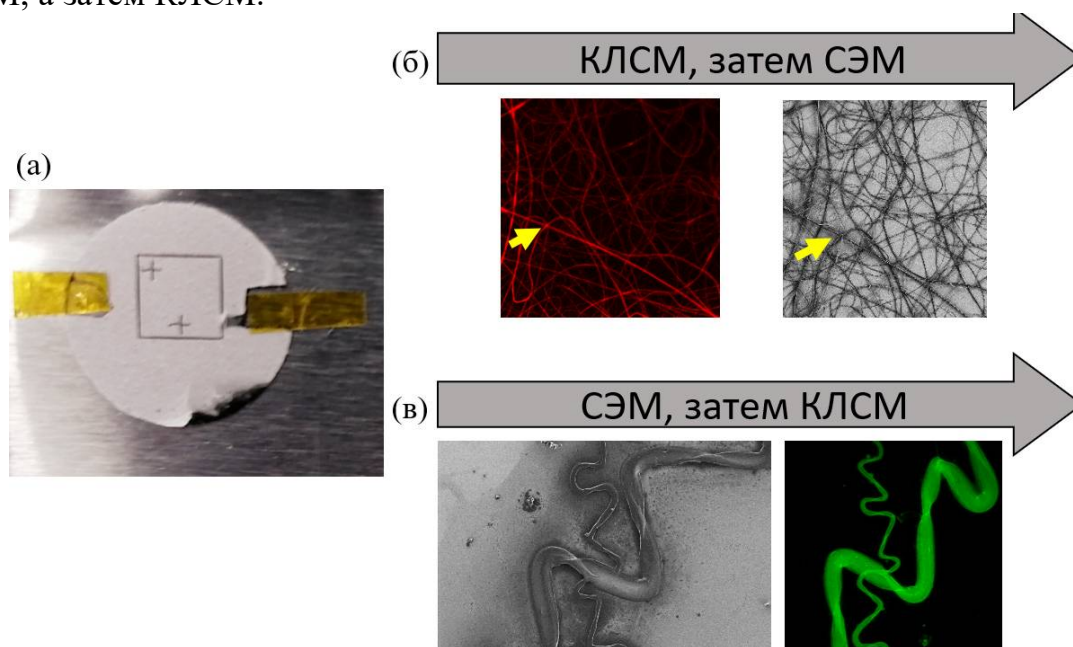


Рисунок 7 – Два варианта организации эксперимента по корреляционной микроскопии. (а) Метки на образце, сделанные с помощью лазерной гравировки. (б) Пара изображений волокон фиброина шелка с родамином Б, желтая стрелка указывает на характерное перекрестье волокон. (в) Пара изображений волокон желатина с FITC.

Вне зависимости от выбранной последовательности использования методов, в общем случае результатом эксперимента является пара, состоящая из изображения, полученного методом СЭМ, и z-стека, полученного КЛСМ. Для удобства анализа конфокальный z-стек сжимали до проекции максимальной интенсивности, и тогда получали пару изображений, которые показывают один и тот же участок выбранного образца (три такие пары представлены на рисунке 8). В некоторых случаях (Рисунок 8 *в, е*) использовали не весь z-стек, а только его верхние слои, т.к. глубокие слои были недоступны для исследования методом СЭМ, и их включение в проекцию затрудняло идентификацию волокон.

Сравним диаметры индивидуальных волокон, измеренные методами СЭМ и КЛСМ, для образцов электроформованных волокон – фиброина, содержащего краситель Ноеchst 34580 и желатина, содержащего FITC (Рисунок 9). Для фиброина наблюдалось отличное соответствие между диаметрами, измеренными СЭМ и КЛСМ (коэффициент корреляции $r=0,97$). При малом диаметре ($d_{\text{СЭМ}} < 200$ нм) волокон наблюдалось расхождение – самые тонкие волокна не были видны методом КЛСМ. Теоретический предел разрешения КЛСМ можно оценить по формуле $\Delta = f(D)\lambda/NA$, где λ – длина волны возбуждения, NA – числовая апертура, а $f(D)$ – функция от диаметра диафрагмы, значение которой обычно близко к 0.51. В описываемых экспериментах теоретический предел разрешения составлял $\Delta=150$ нм.

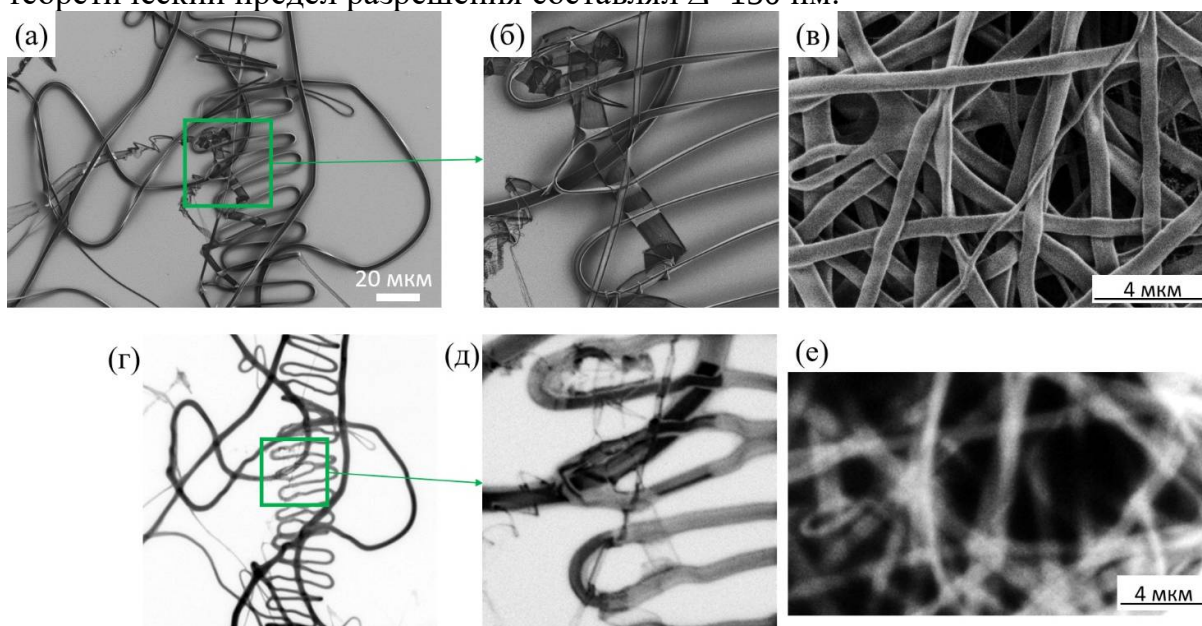


Рисунок 8 – Пары изображений, полученных с помощью корреляционной микроскопии. Верхний ряд – СЭМ-изображения, нижний ряд – проекции максимальной интенсивности по конфокальным z-стекам. (а), (б), (с), (д) – волокна желатина на металлической подложке, краситель FITC, (е), (е) – волокна фиброина шелка, краситель Ноеchst 34580. Цветовая шкала на изображениях (с) и (д) инвертирована для наглядности.

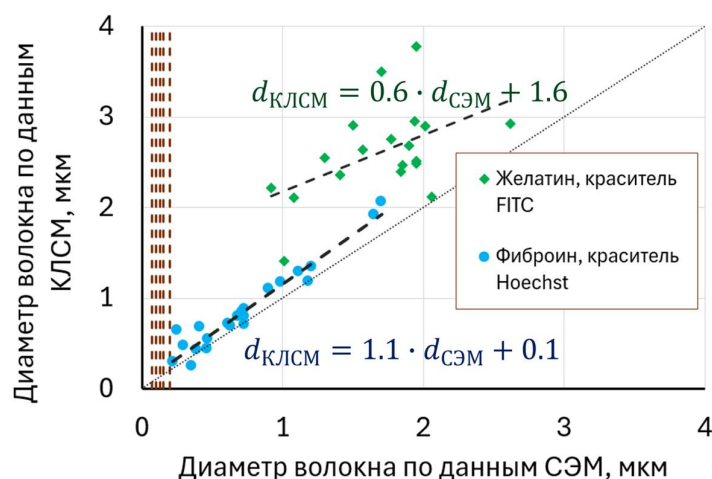


Рисунок 9 – Сравнение данных о диаметрах электроформованных волокон фиброина шелка и желатина, полученных методами СЭМ и КЛСМ. Вертикальные пунктирные линии соответствуют волокнам, которые не были видны методом КЛСМ. Пунктирными линиями показана аппроксимация данных линейными функциями.

Для желатина диаметры большинства волокон, измеряемые методом КЛСМ, оказывались больше, чем по данным СЭМ, а коэффициент корреляции составил $r=0.51$. Многие желатиновые волокна имели форму не цилиндров, а лент, и в этом случае под диаметром волокна понимали ширину ленты, измеренную в плоскости кадра. Вероятно, волокна желатина набухали и смещались при заключении в заливочную среду. В то же время, для фиброина коэффициент набухания в воде меньше, чем для желатина, но при их измерении более явно сказывался предел разрешения КЛСМ.

С помощью корреляционной микроскопии и анализа z-стека, полученного методом КЛСМ, можно ответить на вопрос о том, насколько глубоко расположены волокна, доступные для исследования методом СЭМ. При сегментации z-стека (отделения объектов от фона) можно определить, какие точки исследованного объема принадлежат волокнам, а какие – порам. Далее из каждого столбца можно выбрать верхний пиксель, принадлежащий волокну, и сформировать изображение поверхности мембраны по данным КЛСМ (Рисунок 10 а). Корректность сегментации проверяли сопоставлением полученного изображения с соответствующим СЭМ-изображением (Рисунок 10 б). После этого оценивали глубину расположения точек поверхности (Рисунок 10 в). Оказалось, что не менее 90% точек лежат в пределах глубины 2 мкм. Эта величина является оценкой глубины расположения волокон, доступных для исследования методом СЭМ. Предложенная методика корреляционной микроскопии может быть применена к исследованию различных объектов, содержащих флуоресцентные метки.

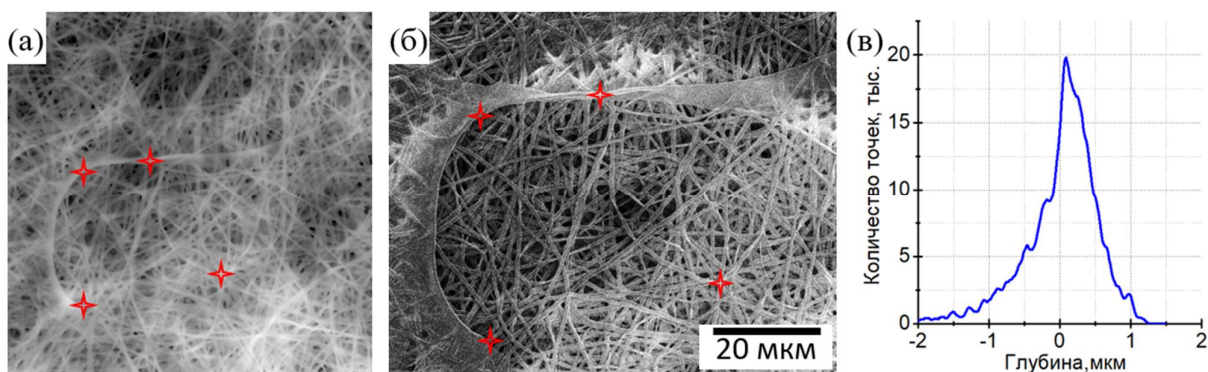


Рисунок 10 – Образец фибрина шелка. (а) Изображение поверхности по данным КЛСМ. (б) СЭМ-изображение. (в) Гистограмма распределения точек по глубине. Красные звезды на (а) и (б) показывают характерные структурные элементы.

Эксперименты по визуализации трехмерной структуры электроформованных мембран подводят к необходимости ее моделирования (Рисунок 11 а). Для этого была разработана программа на языке Python, которая создает соответствующие трехмерные модели и позволяет оценивать их геометрические характеристики (пористость, распределение пор по размерам и т.п.), а также генерировать синтетические данные, имитирующие СЭМ-изображения. В этой модели предполагается, что волокна одно за другим укладываются в пределах рассматриваемого объема: каждое волокно генерируется на его верхней грани $Z=Z_{max}$ и виртуально перемещается к нижней грани $Z=0$, на которой расположен коллектор. При создании очередного волокна его ось рассчитывается программой либо как прямая, либо как дуга окружности, либо как линия, описываемая двумерной персистентной моделью с персистентной длиной l_p . В этом случае при смещении вдоль оси волокна на расстояние l вероятность изменить направление его оси на угол $\Delta\vartheta$ составляет [5], [6]

$$P(\Delta\vartheta) = \frac{1}{\sqrt{2\pi l/l_p}} e^{-\frac{(\Delta\vartheta)^2}{2(l/l_p)}}$$

Волокно «падает» на коллектор таким образом, что расположение его оси в плоскости XY не изменяется. При возникновении пересечения с уже уложенными волокнами в области пересечения падение прекращается, а оставшая часть волокна постепенно замедляется. Таким образом рассматриваемый объем постепенно заполняется волокнами; функционал программы позволяет варьировать количество волокон, их персистентную длину, распределение по диаметрам, а также параметры остановки волокна.

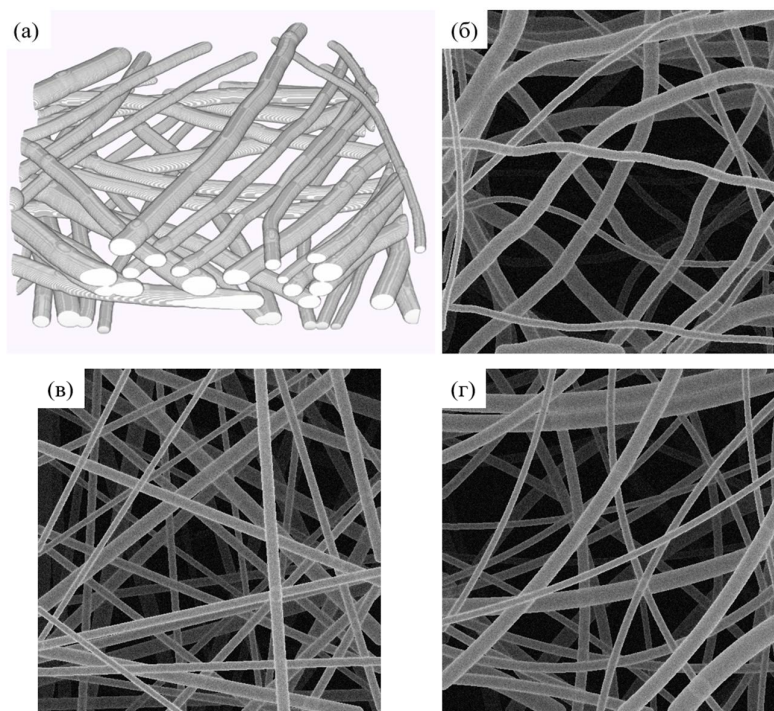


Рисунок 11 – Использование программы для моделирования структуры электроформованных мембран. (а) Трехмерная модель мембраны, (б) соответствующее ей синтетическое СЭМ-изображение; волокна описываются персистентной моделью. (в) Синтетическое СЭМ-изображение прямых волокон. (г) Синтетическое СЭМ-изображение волокон, описываемых дугами окружностей.

Для создания синтетических СЭМ-изображений в каждом столбце трехмерного массива выбирали первую сверху ненулевую точку и принимали ее за точку поверхности мембраны. В отличие от экспериментальных z-стеков, полученных КЛСМ, на синтетических данных этот выбор был однозначным. По координатам точек поверхности строили изображение, добавляли шум и повышали яркость границ. В результате получали изображение, визуально близкое к СЭМ-изображению, полученному с использованием детектора обратно-рассеянных электронов (Рисунок 11 б-г). Такие синтетические СЭМ-изображения могут быть полезны для тестирования алгоритмов анализа изображений, обучения нейросетей, и исследования взаимосвязи между объемной структурой мембраны и расположением волокон на ее поверхности.

Четвертая глава посвящена смесевым волокнам, свойствам смесевых мембран и возможности совмещения двух термодинамически несовместимых компонент в одном тонком волокне. Для многих биомедицинских приложений электроформованные волокна изготавливают из смеси нескольких веществ, приготовленной в общем растворителе. Это позволяет регулировать их смачиваемость, кинетику деградации, механические свойства и вводить новые функциональные группы для химической модификации.

Введение гидрофильной добавки (БСА) в состав гидрофобной мембраны (ПОВВ) позволяет сделать ее гидрофильной и способной впитывать воду

(Рисунок 12 а). Сплошная пленка ПОБВ, приготовленная методом полива, и электроформованная мембрана из ПОБВ имели краевые углы смачивания 74° и 117° соответственно. Гидрофобность электроформованной мембраны из ПОБВ отлично соответствует литературным данным [7]. Если на этапе электроформования использовали смесь ПОБВ с БСА (7:3 по массе), то мембрана оказывалась гидрофильной и впитывала воду. Таким образом, внесение гидрофильной компоненты в состав мембраны позволяло резко улучшить ее смачиваемость.

Аналогично введение гидрофильных добавок в состав мембран может использоваться для ускорения их деградации. Рисунок 12 б показывает потерю массы мембран, изготовленных из смесей ПЛА и БСА, при их инкубации в буфере в течение месяца. Кроме измерения массы, определяли количество БСА в растворе, окружающем мембрану, чтобы оценить его вклад в деградацию. Для мембраны из чистого ПЛА потеря массы составляла $6.8 \pm 0.6\%$, и при увеличении доли БСА эта величина существенно возрастала. В общем случае деградация смесевых мембран может идти за счет вымывания БСА или за счет гидролиза ПЛА. В описываемом эксперименте интенсивность гидролиза была выше при большем содержании БСА в мембране, т.к. вымывание БСА открывало большую поверхность ПЛА для гидролиза. Поэтому при увеличении доли БСА в составе мембран возрастала не только их способность к деградации в целом, но и скорость деградации ПЛА в них.

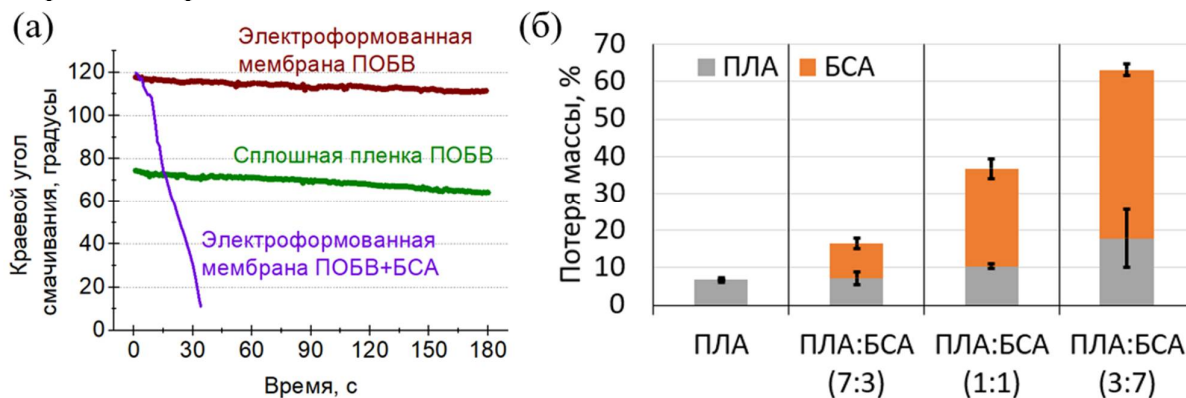


Рисунок 12 – Оптимизация свойств электроформованных мембран путем вариации их состава. (а) Смачиваемость пленок и мембран на основе ПОБВ. (б) Потеря массы мембран из ПЛА и БСА за месяц деградации в буфере.

При изготовлении смесевых мембран исследователи часто сталкиваются с несовместимостью полимеров. При использовании гетерогенной смеси для электроспиннинга её тщательно перемешивают перед загрузкой в шприц. После электроспиннинга растворитель испаряется, и возникает вопрос о том, как расположены два использованных полимера в составе волокон. Они могут быть либо совмещены в пределах волокна, либо разделиться, и в этом случае ожидается получение волокон, которые резко обогащены одной или другой компонентой [8]. В данной работе для ответа на этот вопрос была использована модельная система, состоящая из ПЛА, БСА и общего для них растворителя –

ГФИП. Для этих трех веществ методом точки помутнения была построена фазовая диаграмма при температуре 25°C (Рисунок 13).

Смеси были прозрачными (однородными) при малой суммарной концентрации БСА и ПЛА (меньше примерно 2.5%), а также при резком преобладании одного из этих двух полимеров (вблизи границ диаграммы). Все остальные смеси были либо опалесцирующими, либо имели явную границу раздела фаз. Любой из составов, показанных на диаграмме, можно использовать для электроформования, однако если это гетерогенная смесь, то ее подвергают тщательному перемешиванию перед загрузкой в шприц. Это позволяет проследить влияние концентрации и состава на морфологию волокон.

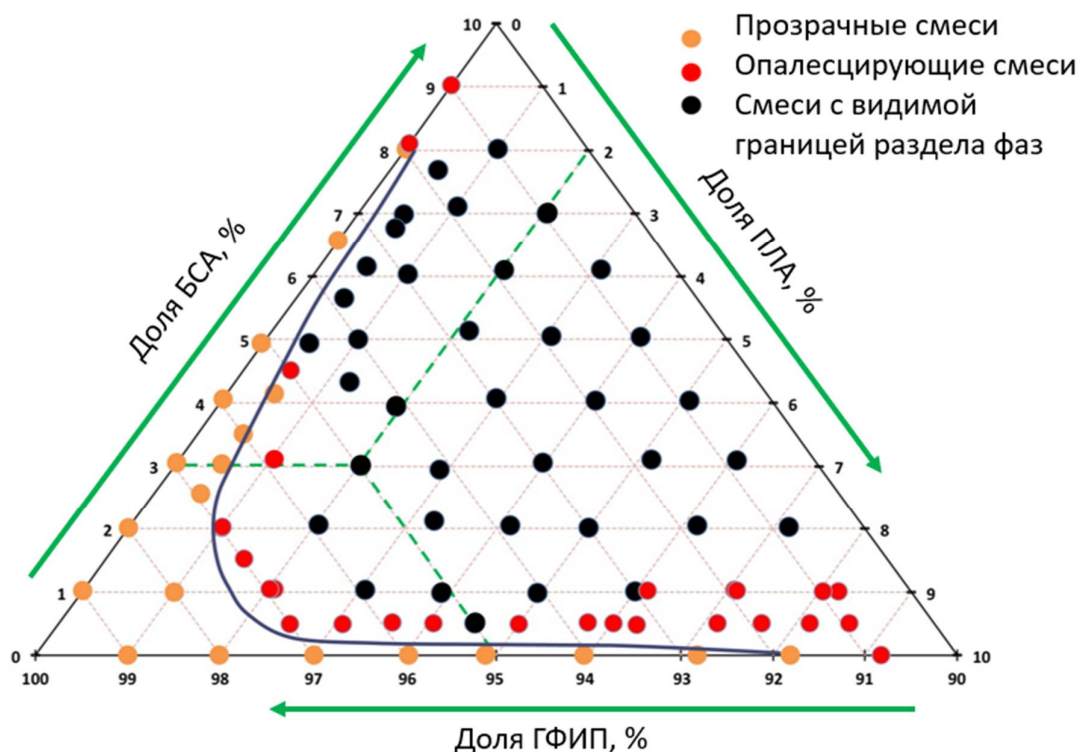


Рисунок 13 – Фазовая диаграмма трехкомпонентной системы ПЛА-БСА-ГФИП, построенная методом определения точки помутнения. Зеленые линии показывают состав смеси, содержащей 3% БСА, 2% ПЛА и 95% ГФИП

При удалении от угла диаграммы, соответствующего чистому ГФИП, наблюдалась следующая закономерность. В результате электроформования возникали структуры, которые сменяли друг друга в следующем порядке: отдельные капли, бусины на нити, волокна цилиндрического сечения, ленты (Рисунок 14). Из растворов БСА в ГФИП волокна цилиндрического сечения практически не формировались, и это соответствует литературным данным [9].

На качественном уровне эта закономерность понятна: при работе с разбавленным раствором система находится в режиме электроспрея, и формируются капли. По мере увеличения концентрации начинают формироваться волокна цилиндрического сечения, а отдельные капли сначала превращаются в «бусины на нити», а затем и вовсе исчезают. При дальнейшем

увеличении концентрации растёт заряд на поверхности струи, и это способствует ее схлопыванию и формированию морщинистых волокон или лент. Обсуждаемая закономерность не зависела от того, пересекает ли линия, вдоль которой расположены рассматриваемые составы, линию бинадали на фазовой диаграмме.

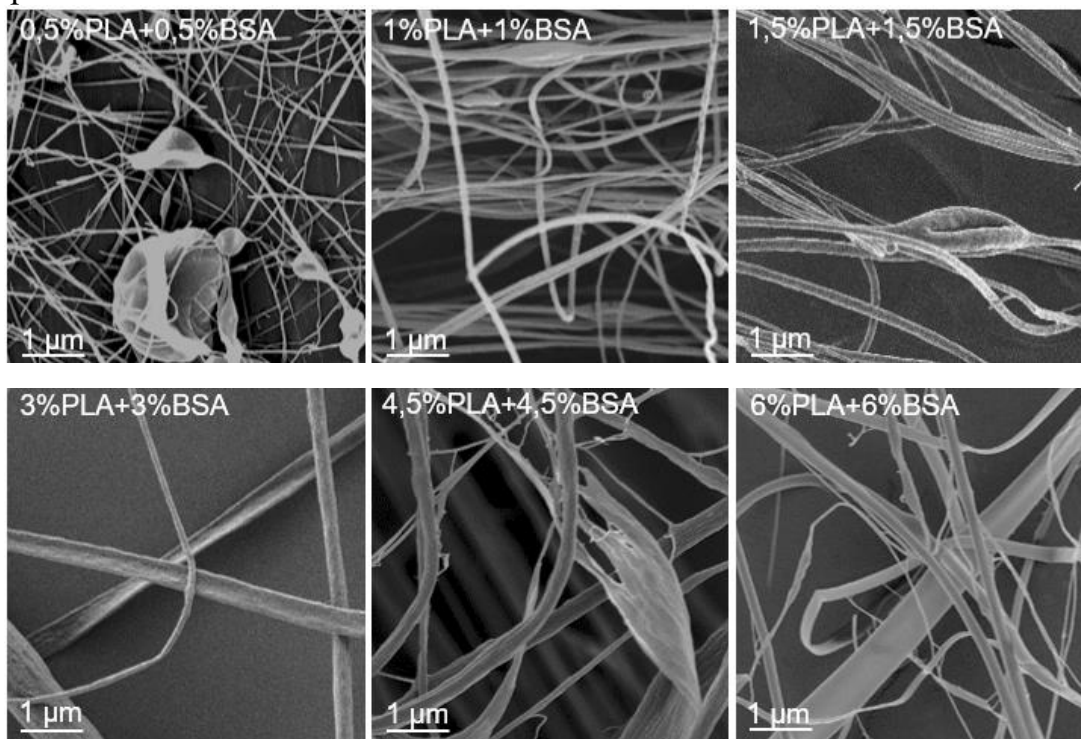


Рисунок 14 – Изображения волокон, изготовленных из смесей ПЛА и БСА в ГФИП, расположенных на биссектрисе угла фазовой диаграммы.

Эксперименты со смесевыми волокнами и мембранами поднимают вопрос о пространственном расположении компонент: совмещаются ли компоненты в одном волокне? Для ответа на этот вопрос были исследованы образцы, приготовленные из гетерогенной смеси 3% ПЛА + 3% БСА + 94% ГФИП (отдельные волокна на стекле или на фольге), а также сравнивали их с двумя контрольными образцами, приготовленными из смесей 6% ПЛА + 94% ГФИП и 6% БСА + 94% ГФИП. Для анализа использовали три метода: рентгеновский микроанализ, оптическая микроскопия и КР-микроспектроскопия. Первые два из них были использованы для того, чтобы отследить расположение белка и показать, что он присутствует во всех волокнах. Для этого методом рентгеновского микроанализа в СЭМ строили элементные карты распределения азота (он не входит в состав ПЛА); для эксперимента с использованием оптической микроскопии в состав смеси вносили флуоресцентно меченый БСА, и определяли его присутствие по флуоресцентному сигналу. Результаты этих экспериментов представлены на рисунках 15 и 16 соответственно. Оба метода показали, что сигнал, связанный с белком (линия $K\alpha$ азота или флуоресценция родамина Б, конъюгированного с БСА), наблюдался для большинства исследованных волокон.

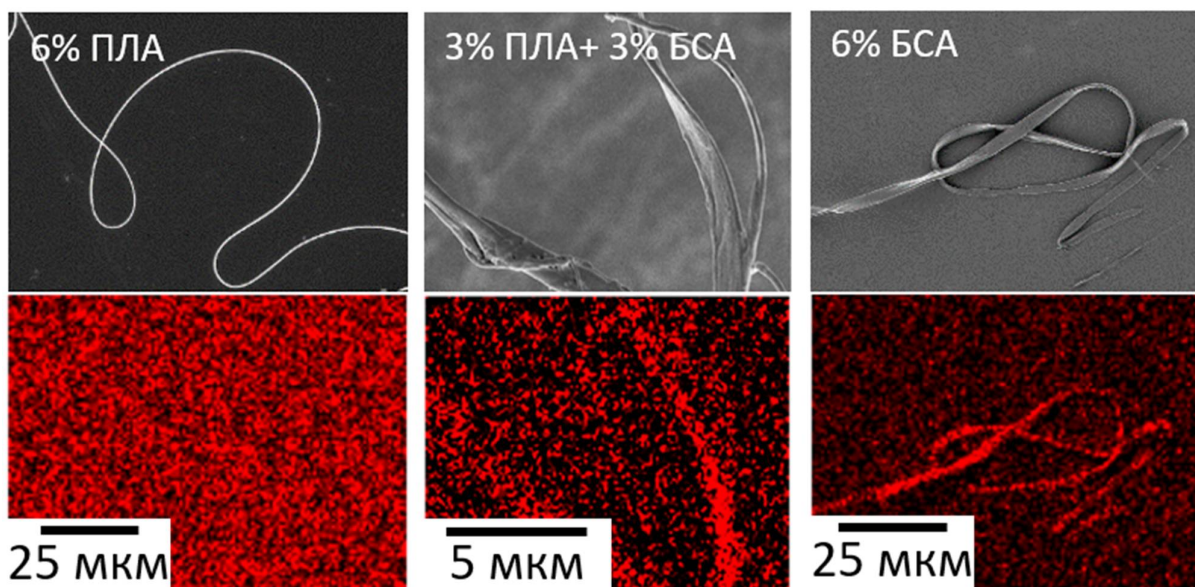


Рисунок 15 – Проверка содержания БСА в волокнах по характеристическому сигналу азота: СЭМ-изображения и соответствующие карты локального распределения азота для электроформованных волокон, приготовленных из 6% раствора БСА в ГФИП, 6% раствора ПЛА в ГФИП и гетерогенной смеси 3% ПЛА и 3% БСА в ГФИП.

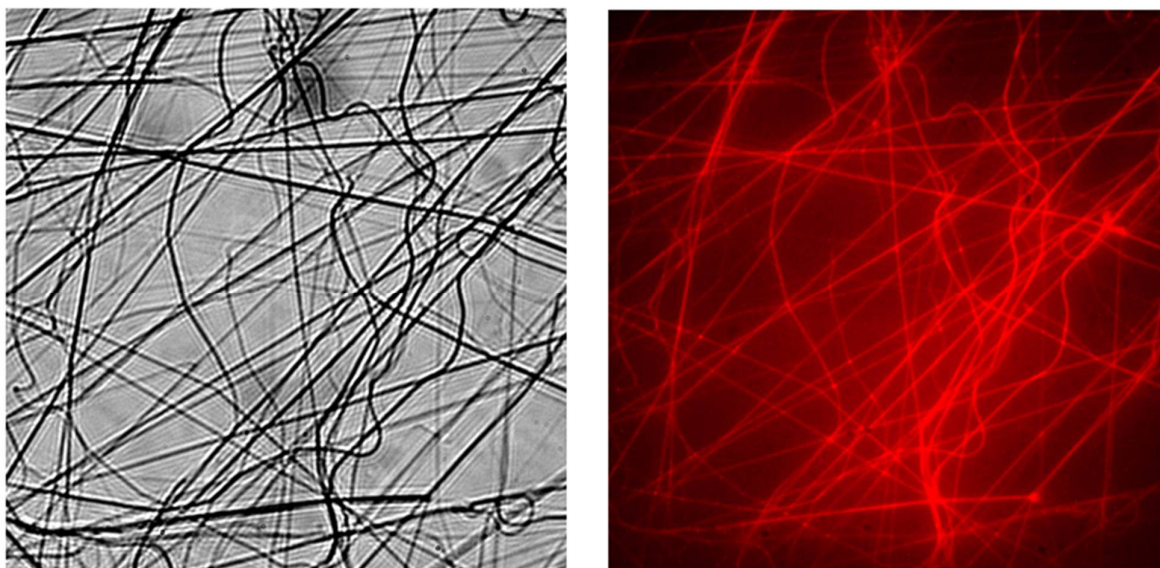


Рисунок 16 – Изображения электроформованных волокон, приготовленных из гетерогенной смеси 3% ПЛА и 3% БСА в ГФИП. Использован флуоресцентно меченый БСА (20% от общего содержания БСА). Объектив: 100х/1.49.

Однако ни один из этих методов не позволил отследить расположение ПЛА в смесевых волокнах. Чтобы преодолеть это ограничение и определить расположение обеих компонент, была использована КР-микроспектроскопия. Чтобы получить спектр от отдельного волокна, образцы готовили специальным способом – время напыления было мало, приблизительно 1-2 с, и петли волокон располагались на подложке на расстоянии порядка ~5-10 мкм. Для выбора

участка волокна, от которого регистрировали спектр, использовали либо широкопольный микроскоп, либо изображение, полученное путем картирования рэлеевского рассеяния. В результате при регистрации спектров можно удостовериться в том, что в конфокальном объеме находится только одно волокно, а не множество, как при работе с мембранами.

В КР-спектрах ПЛА и БСА можно выделить характеристические пики, например, пик $\sim 1765 \text{ см}^{-1}$ (колебания эфирной связи) для ПЛА и $\sim 1655 \text{ см}^{-1}$ (пик Amide I) для БСА (Рисунок 17 а). Оказалось, что в КР-спектрах электроформованных волокон, изготовленных из гетерогенной смеси 3% ПЛА и 3% БСА в ГФИП, наблюдались оба эти пика, что говорит о присутствии обеих компонент в каждом волокне. Аналогичный результат был получен в экспериментах со смесью ПЛА и желатина.

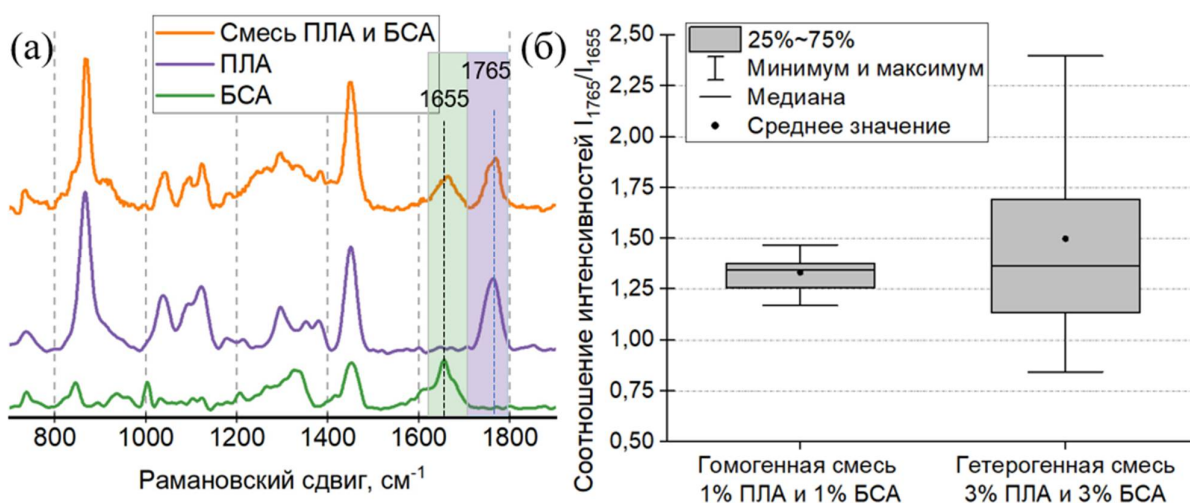


Рисунок 17 – Исследование однородности смесевых волокон с помощью КР-спектроскопии. (а) Спектры комбинационного рассеяния, полученные от одиночных волокон ПЛА, БСА и волокна, изготовленного из гетерогенной смеси 3% ПЛА и 3% БСА в ГФИП. (б) Соотношения интенсивностей характеристических пиков I_{1765}/I_{1655} в спектрах волокон, полученных из гомогенной смеси (1% ПЛА и 1% БСА в ГФИП) и гетерогенной смеси (3% ПЛА и 3% БСА в ГФИП).

Соотношение указанных характеристических пиков можно использовать, чтобы сравнить однородность волокон, приготовленных из разных смесей (Рисунок 17 б). Если волокна изготовлены из гомогенной смеси (1% ПЛА и 1% БСА в ГФИП) и гетерогенной смеси (3% ПЛА и 3% БСА в ГФИП), то в среднем их химический состав один и тот же. Это подтверждается совпадением медианных значений соотношения интенсивностей I_{1765}/I_{1655} (1.34 и 1.36 соответственно). Диаметры цилиндрических волокон составляли $80 \pm 30 \text{ нм}$ и $210 \pm 150 \text{ нм}$, причем в образце, приготовленном из гетерогенной смеси, кроме цилиндрических волокон, наблюдались ленты. В КР-спектрах волокон, изготовленных из гомогенной смеси, дисперсия соотношения интенсивностей I_{1765}/I_{1655} была значительно ниже, чем в спектрах волокон (или лент),

изготовленных из аналогичной гетерогенной смеси (среднеквадратичные отклонения составили 0.09 и 0.51 соответственно). Таким образом, в образце, приготовленном из гомогенной смеси, локальный химический состав волокон был более однородным, чем в образце, приготовленном из гетерогенной смеси. Основным результатом, полученным в четвертой главе, состоит в том, что была экспериментально показана возможность совмещения двух компонент несовместимой смеси в одном электроформованном волокне.

Пятая глава посвящена ориентированным электроформованным волокнам. Обычно их формируют методом зазора, в котором используют коллектор, состоящий из двух параллельных пластин, расположенных на небольшом расстоянии друг от друга [10]. В зазоре между пластинами волокна ориентируются преимущественно перпендикулярно краям пластин. Несмотря на техническую простоту, этот метод обладает явными недостатками. За редкими исключениями [11], он позволяет получать только короткие волокна (обычно их длина составляет порядка ~1 см) и, кроме того, сформированные с его помощью мембраны часто имеют спонтанную кривизну и при снятии с коллектора не остаются плоскими, а изгибаются вдоль волокон.

В данной работе был предложен способ формирования ориентированных волокон путем их вытяжки в пластификаторе – это было сделано для электроформованных мембран из ПЛА, растянутых в этиловом спирте. Для ПЛА метод зазора применим и позволяет получить ориентированные волокна (Рисунок 18 а). Однако если растянуть мембрану из ПЛА, то происходит разворот волокон в направлении оси вытяжки, причем при растяжении на воздухе этот эффект выражен умеренно, а при растяжении в спирте – значительно сильнее.

Для количественного описания расположения волокон в мембране строили распределения углов между волокнами и направлением вытяжки (Рисунок 18 б). Наиболее узкое распределение наблюдалось для мембран ПЛА, растянутых в спирте. Эффективность ориентации волокон разными методами описывали с помощью фактора Германа: $f_g = \frac{1}{2}(3 \langle \cos^2 \alpha \rangle - 1)$; при растяжении мембраны в спирте он составлял 0.92, а при использовании метода зазора – 0.7.

Эффективная ориентация волокон обеспечивалась тем, что спирт оказывал пластифицирующее действие на ПЛА, и обеспечивал им высокую эластичность (Рисунок 18 в). Предельное удлинение составляло $49 \pm 13\%$ и $279 \pm 15\%$ при растяжении на воздухе и в 96% спирте, соответственно. На качественном уровне этот эффект соответствует литературным данным [12]. Если же обработать мембрану этанолом в изометрических условиях, когда ее усадка невозможна, и затем высушить, то обработанная мембрана обладала более высокой прочностью, чем исходная (Рисунок 18 г).

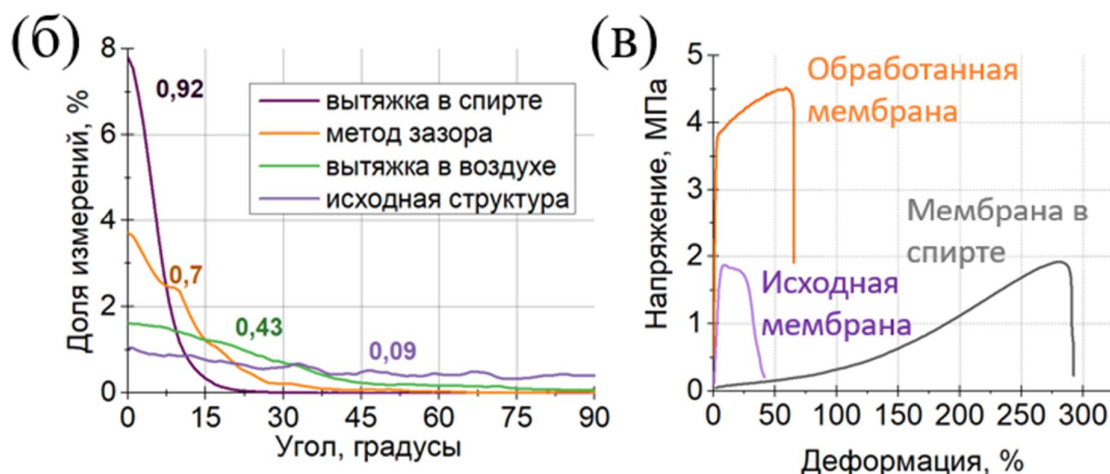
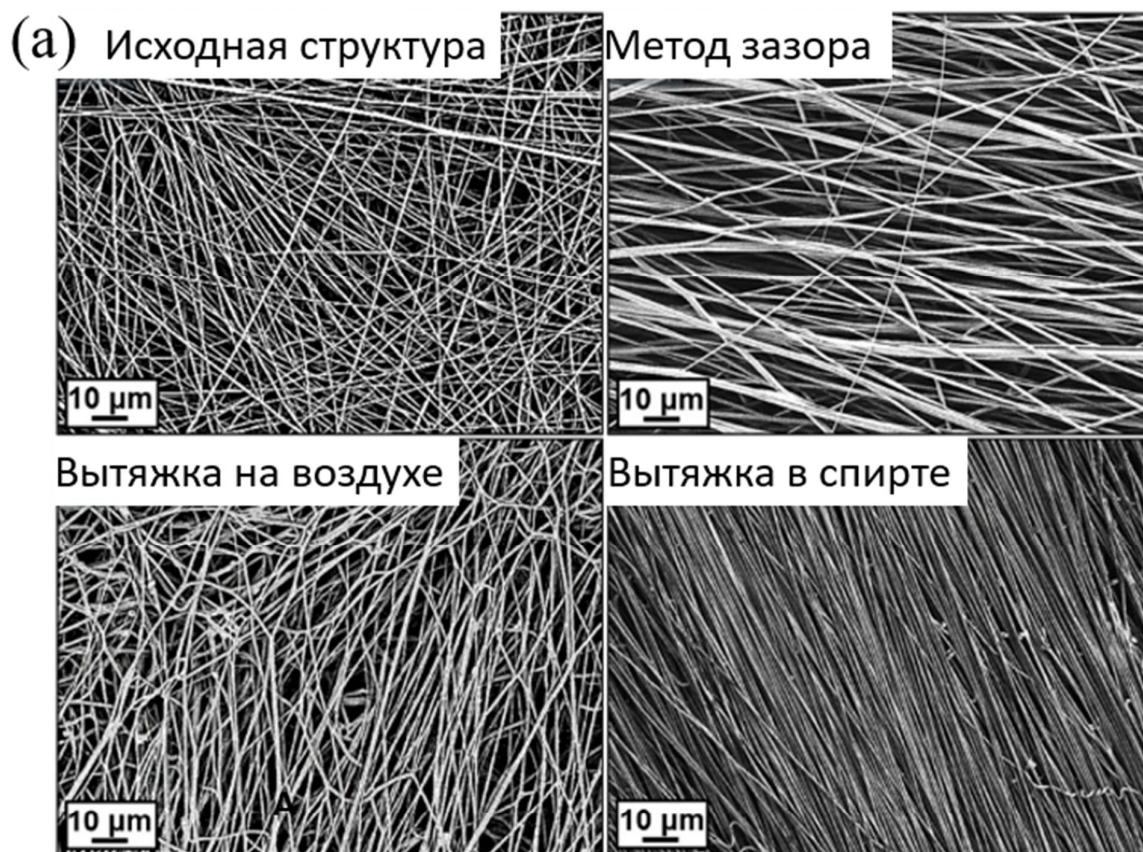


Рисунок 18 – Ориентация волокон ПЛА путем вытяжки в спирте. (а) СЭМ-изображения, (б) распределения волокон по направлениям в ориентированных и неориентированных мембранах. (в) Измерение механических характеристик мембран.

Ориентированные волокна могут иметь прикладное значение для тканевой инженерии. Анизотропные субстраты, имеющие выделенное направление, могут вызывать контактное ориентирование клеток и ряд связанных с ним нетривиальных физиологических эффектов [13]. Анизотропные субстраты представляют интерес, т.к. позволяют изучать сложные процессы, связанные с механочувствительностью клеток.

Многие электроформованные мембраны, описываемые в данной работе, были проверены на биосовместимость *in vitro*, а некоторые – и *in vivo*. Эксперименты по культивированию клеток (фибробластов или кератиноцитов) были выполнены с мембранами из ПЛА, смеси ПЛА с желатином, ПКЛ, нейлона-6 (этот полимер не является биоразлагаемым, но он был удобен в некоторых методических экспериментах), PDO, ПОВВ, смеси ПОВВ с БСА. На всех перечисленных мембранах клетки сохраняли способность к пролиферации. Эксперименты *in vivo* были выполнены с мембранами из ПЛА и PDO – эти мембраны подкожно имплантировали мышам и определяли закономерности их деградации.

Ориентированные мембраны из ПЛА, полученные с помощью вытяжки в спирте, были использованы как субстраты для культивирования клеток и исследования контактного ориентирования. Кератиноциты человека (линия HaCaT) на ориентированных мембранах имели вытянутую форму, и соотношение их максимального и минимального размера возрастало с 1.5 ± 0.3 (на неориентированных волокнах, рисунок 19 а) до 4.2 ± 2.8 (рисунок 19 б). В целом, описанные в работе биофизические эксперименты подтверждают биосовместимость исследуемых мембран и перспективы их применения в медицине.

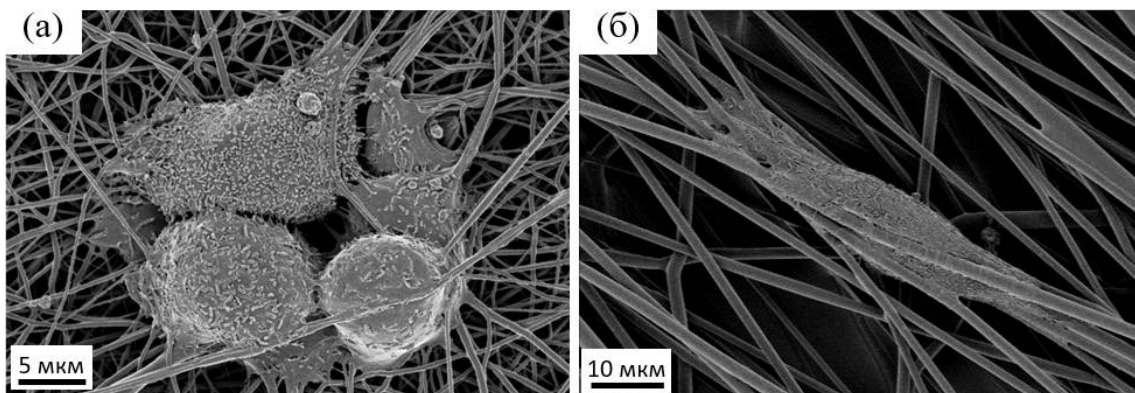


Рисунок 19 – Кератиноциты человека (линия HaCaT) на обычной мембране (а) и на ориентированной мембране (б).

Шестая глава посвящена применению электроформованных мембран в качестве конструктивных элементов сенсоров. Такое применение активно обсуждается в литературе, но по сравнению с тканевой инженерией оно менее известно и не так глубоко проработано. Гипотеза состояла в том, что электроформованную мембрану можно использовать как твердый носитель для рецепторного слоя химического или биологического сенсора. Эффективность такого сенсора в общем случае может обеспечиваться высокой площадью поверхности мембраны (порядка $\sim 10 \text{ м}^2/\text{г}$), а также электростатическим зарядом волокон, который способствует адсорбции частиц с противоположным зарядом. Большое количество сайтов связывания позволяет сенсору захватить из пробы значительное количество молекул аналита; это может быть полезно, если для исследования доступен большой объем образца, например, в задачах экологического мониторинга.

В данной работе с использованием электроформованной мембраны из ПДО (толщина $h=60-100$ мкм, диаметр волокон 460 ± 260 нм) были сопоставлены два способа нанесения пробы: инкубация мембраны в пробе и пропускание пробы через мембрану под давлением. Чтобы сравнить эффективность этих двух способов, измеряли количество анализта, связавшегося с мембраной (Рисунок 20).

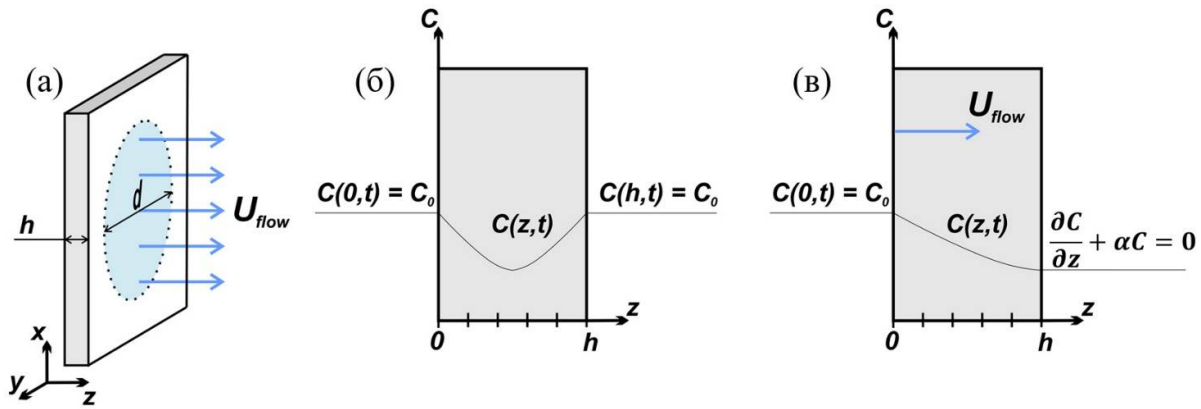


Рисунок 20 – Модель диффузии-адсорбции. (а) Схема мембраны с толщиной h и потока жидкости через площадку с диаметром d . (б) Схема адсорбции анализта при инкубации мембраны в растворе. (в) Схема адсорбции анализта при пропускании пробы через мембрану под давлением.

Для анализа процессов диффузии и адсорбции в такой системе была предложена теоретическая модель (Рисунок 20), представляющая собой систему двух дифференциальных уравнений:

$$\begin{aligned} \frac{\partial S(z, t)}{\partial t} &= k_{on} C(z, t) (\Gamma_V - S(z, t)) - k_{off} S(z, t) \\ \frac{\partial C(z, t)}{\partial t} + \frac{\partial S(z, t)}{\partial t} &= D_{eff} \frac{\partial^2 C(z, t)}{\partial z^2} - U_{flow} \frac{\partial C(z, t)}{\partial z} \end{aligned}$$

Неизвестными функциями являются $C(z, t)$ и $S(z, t)$ – концентрация свободного и связанного анализта, соответственно. Первое из уравнений – это уравнение адсорбции, а второе – модифицированное уравнение адвекции-диффузии, в которое добавлено слагаемое $\partial S / \partial t$, соответствующее адсорбции. Параметрами являются скорость потока U_{flow} , объемная плотность доступных сайтов связывания Γ_V , константы адсорбции и десорбции k_{on} и k_{off} , а также эффективный коэффициент диффузии анализта в пористой среде D_{eff} .

При численном решении указанной системы уравнений получали функции $C(z, t)$ и $S(z, t)$. Для сравнения с экспериментом рассчитывали количество анализта, связанного с мембраной:

$$S_{total}(t) = \int_0^h S(z, t) dz$$

Граничные условия выбирали, исходя из способа нанесения раствора на мембрану. При инкубации мембраны в растворе с постоянной концентрацией C_0 граничное условие выражается равенствами $C(0, t) = C(h, t) = C_0$. Чтобы учесть

снижение концентрации аналита в резервуаре, окружающем мембрану, использовали нелокальное граничное условие (объемы мембраны и резервуара обозначены V_{mem} и V_{total} , соответственно)

$$C(0, t) = C(h, t) = C_0 - \frac{V_{mem}}{V_{total}} \int_0^h (C(z, t) + S(z, t)) dz$$

При пропускании раствора через мембрану под давлением такое условие выполнялось при $z=0$. На поверхности $z=h$, где поток покидает мембрану, в общем случае необходимо использовать граничное условие третьего рода $\frac{\partial C}{\partial z} + \alpha C = 0$. Однако при малом коэффициенте диффузии (для исследованных белков $D_{eff} \sim 10^{-8}$ см²/с) и быстром потоке жидкости ($U_{flow} \sim 0.01$ см/с) диффузионный поток на выходе из мембраны оказывается значительно меньше, чем адвективный. Диффузия становится значимой только на масштабе порядка $D_{eff}/U_{flow} \sim 10^{-6}$ см, что значительно меньше толщины мембраны $h \sim 10^{-2}$ см, поэтому при моделировании экспериментальной системы выбор граничного условия на выходной поверхности мембраны слабо влиял на результат.

Эксперименты по исследованию неспецифической адсорбции белка (БСА, меченый флуорофором Cy3) на электроформованные мембраны показали, что при циклической прокачке раствора через мембрану адсорбция была в 2.8-11.5 раз выше, чем в случае инкубации мембраны в том же растворе (Рисунок 21 а). Количество адсорбированного аналита измеряли по снижению флуоресценции раствора после контакта с мембраной. Кроме того, интенсивная адсорбция БСА на мембраны из ПДО была подтверждена измерением флуоресценции мембран (Рисунок 21 б) – чем больше меченого белка адсорбировалось на мембране, тем выше оказывалась флуоресценция. Эти закономерности были подтверждены теоретическими оценками (Рисунок 21 а, непрерывные линии, расчеты выполнены при параметрах $k_{on}=4 \cdot 10^3$ (М·с)⁻¹, $k_{off}=5 \cdot 10^{-3}$ с⁻¹, $D_{eff}=8 \cdot 10^{-9}$ см²/с, $\Gamma_V=4 \cdot 10^{-4}$ М, $U_{flow}=0.01$ см/с). Расчет показал, что при пропускании пробы под давлением на мембрану адсорбируется в 5.95–6.05 раз больше БСА, чем при ее инкубации в растворе, что хорошо соответствует экспериментальным данным. Расхождение между расчетами и экспериментом может быть связано с вариациями толщины мембраны.

В заключительной части был исследован сенсор на основе электроформованной мембраны из ПДО, предназначенный для обнаружения интерлейкина-1 бета (ИЛ1б, $M_w \sim 19$ кДа) – клинически значимого регуляторного белка. На поверхности волокон ПДО были иммобилизованы антитела против ИЛ1б, а затем волокна обрабатывали раствором БСА, чтобы заблокировать сайты неспецифической адсорбции. С помощью мембран, подготовленных таким образом, сравнивали адсорбцию ИЛ1б при пропускании раствора под давлением и при инкубации мембраны в растворе. Количество ИЛ1б, который связывался с мембраной, при циклическом пропускании пробы через нее оказывалось в 2.4-3.4 раза выше, чем при инкубации мембраны в пробе (Рисунок 22 а).

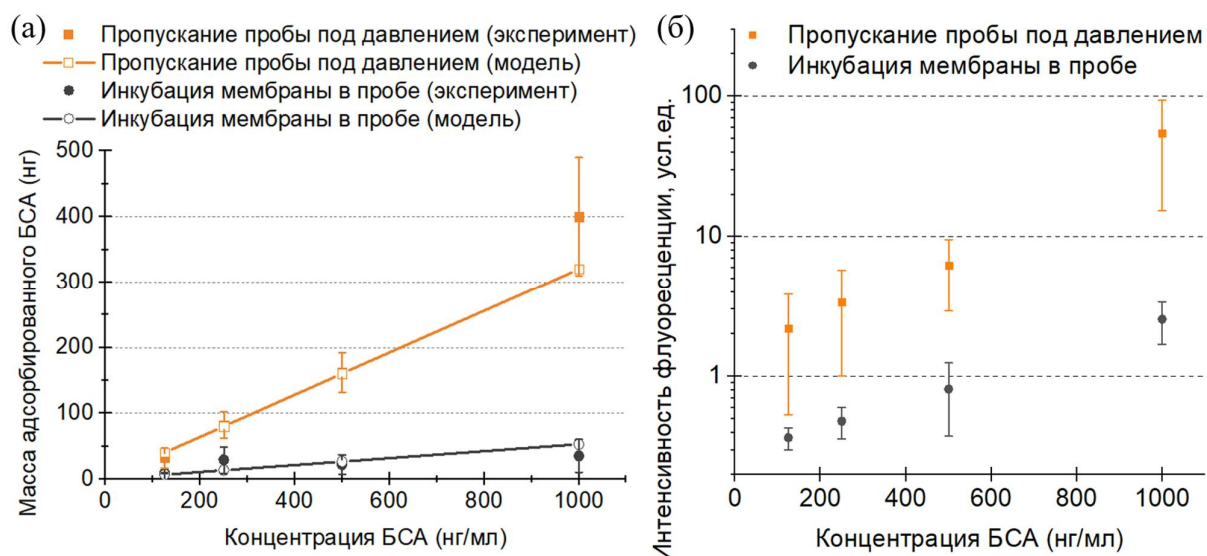


Рисунок 21 – Закономерности адсорбции БСА на электроформованные мембраны из ПДО. (а) Сравнение массы белка, адсорбированного на мембрану, при прокачке пробы (оранжевые точки) и при инкубации мембраны в пробе (серые точки). Линии соответствуют результатам моделирования. (б) Сравнение количества адсорбированного БСА по интенсивности флуоресценции мембран.

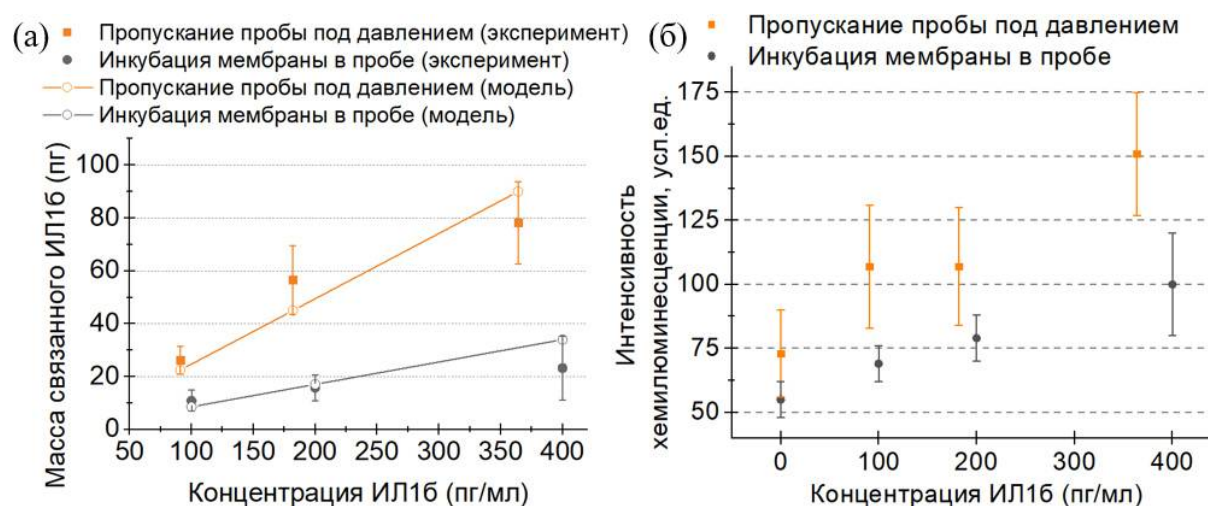


Рисунок 22 – Закономерности специфического связывания ИЛ16 с антителами, иммобилизованными на электроформованных мембранах из ПДО. (а) Сравнение массы белка, связавшегося с мембраной, при прокачке пробы (оранжевые точки) и при инкубации мембраны в пробе (серые точки). Линии соответствуют результатам моделирования. (б) Хемилюминесцентный сигнал от мембран, полученный с помощью дот-блоттинга.

Вывод об интенсивном связывании ИЛ16 с мембранами был подтвержден измерением хемилюминесцентного сигнала от них. Для этого их обрабатывали проявляющими антителами, конъюгированными с биотином, добавляли

конъюгат стрептавидина с пероксидазой хрена и хемилюминесцентный субстрат. Таким образом, на электроформованных мембранах из ПДО выполняли белковый дот-блоттинг, который подтвердил, что при пропускании пробы под давлением интенсивность связывания ИЛ16 была выше, чем при инкубации мембраны в пробе (Рисунок 22 б). С помощью теоретических оценок этот вывод также был подтвержден (Рисунок 22 а, непрерывные линии, расчеты выполнены при параметрах $k_{on}=2\cdot 10^3 \text{ (М}\cdot\text{с)}^{-1}$, $k_{off}=10^{-5} \text{ с}^{-1}$, $D_{eff}=7\cdot 10^{-8} \text{ см}^2/\text{с}$, $\Gamma_V=1.7\cdot 10^{-5} \text{ М}$, $U_{flow}=0.01 \text{ см/с}$).

Особенность описанных экспериментов состоит в том, что они количественно продемонстрировали преимущества направленного переноса аналита к поверхности как для неспецифической адсорбции ($K_d\sim 1 \text{ мкМ}$), так и для специфического связывания ($K_d\sim 1 \text{ нМ}$).

Результаты и выводы

1. С помощью комплекса четырех методов (самосборки, селективного фотоотверждения, крейзинга и электроформования) были получены тонкие волокна более пятнадцати составов: из полиэфиров, нейлонов, полиолефинов, а также некоторых белков и пептидов. Размеры и морфология полученных волокон были качественно и количественно охарактеризованы методами микроскопии высокого разрешения.

2. Предложен методический подход к визуализации поверхности полимерных пленок, которые подвергались деформации по механизму крейзинга в адсорбционно-активной среде, методом АСМ. Он позволяет измерить параметры фибриллярно-пористой структуры; его особенность состоит в том, что при измерении пленка находится в растянутом состоянии, а исследование проводится в той же среде, в которой происходила деформация, и это необходимо для визуализации нативной структуры.

3. Предложена оригинальная методика корреляционной микроскопии СЭМ-КЛСМ, которая позволяет исследовать один и тот же участок образца, содержащего флуоресцентную метку, методами СЭМ и КЛСМ последовательно. Данные о диаметрах электроформованных волокон фиброина шелка, измеренные методами СЭМ и КЛСМ, хорошо согласуются между собой (коэффициент корреляции $r=0.97$), что иллюстрирует возможность использования КЛСМ для характеристики структуры электроформованных мембран.

4. На примере трехкомпонентной системы ПЛА-БСА-ГФИП качественно и количественно проанализирована зависимость морфологии электроформованной мембраны от концентрации и состава смеси, подвергаемой электроспиннингу. При малых концентрациях смеси на коллекторе формируются отдельные гранулы или «бусины на нити», затем при повышении концентрации начинают формироваться волокна цилиндрической формы и при дальнейшем увеличении концентрации – ленты, причем эта закономерность наблюдается как для гомогенных растворов ПЛА или БСА, так и для гетерогенных смесей ПЛА и БСА.

5. При электроформовании несовместимых полимер-белковых смесей, приготовленных в общем растворителе, в одном волокне могут быть совмещены обе компоненты – полимер и белок. Это подтверждено методами рентгеновского микроанализа, флуоресцентной микроскопии и КР-спектроскопии. Для системы ПЛА-БСА-ГФИП продемонстрирована взаимосвязь между однородностью смеси, подвергаемой электроспиннингу, и однородностью пространственного распределения компонент в волокнах. Электроформованные мембраны, изготовленные из полимер-белковых смесей (ПЛА-БСА, ПОБВ-БСА), способны в течение длительного времени высвобождать белок при инкубации в водной среде.

6. Растяжение электроформованной мембраны из полилактида в спирте позволяет получить ориентированные волокна (фактор ориентации $f_g=0.92$), причем более эффективно, чем при использовании традиционного «метода зазора» (фактор ориентации $f_g=0.7$). При культивировании клеток на полимерных волокнах, выстроенных вдоль одного направления, наблюдается контактное ориентирование.

7. Пропускание раствора белка через электроформованную мембрану под давлением обеспечивает более интенсивную адсорбцию белка на волокна, чем инкубация мембраны в растворе. Это продемонстрировано как для неспецифической адсорбции (на примере альбумина), так и для специфического связывания (на примере интерлейкина-1 бета), что открывает путь к повышению чувствительности биосенсоров. Для теоретического описания этого эффекта предложена модель диффузии-адсорбции; расчёты по этой модели согласуются с экспериментальными данными и подтверждают высокую эффективность адсорбции белка на мембрану из потока жидкости.

Список цитированной литературы:

[1] Bowerman C. J., Nilsson B. L. Self-assembly of amphipathic β -sheet peptides: insights and applications // *Biopolymers*. 2012.– Vol. 98, № 3.– pp. 169–184. DOI: 10.1002/bip.22058.

[2] Nelson R., Eisenberg D. Structural Models of Amyloid-Like Fibrils // *Fibrous Proteins: Amyloids, Prions and Beta Proteins* / ed. by J. M. Squire, D. A. D. Parry, A. Kajava. Amsterdam : Academic Press, 2006.– Vol. 73.– pp. 235–282. DOI: 10.1016/S0065-3233(06)73008-X.

[3] Kaewpirom S., Boonsang S. Influence of alcohol treatments on properties of silk-fibroin-based films for highly optically transparent coating applications // *RSC Advances*. 2020. Vol. 10, № 27.– pp. 15913–15923. DOI: 10.1039/D0RA02634D.

[4] Волынский А. Л., Логинов В. С., Бакеев Н. Ф. Особенности структуры и физико-химических свойств стеклообразного полиэтилентерефталата, деформированного в адсорбционно-активной среде // *Высокомолекулярные соединения. Серия Б*. 2003.– Т. 23, № 5.– С. 371–376.

[5] Domaschke S., Zündel M., Mazza E., Ehret A. E. A 3D computational model of electrospun networks and its application to inform a reduced modelling

approach // *International Journal of Solids and Structures*. 2019.– Vol. 158.– pp. 76–89. DOI: 10.1016/j.ijsolstr.2018.08.030.

[6] Domaschke S. et al. Predicting the macroscopic response of electrospun membranes based on microstructure and single fibre properties // *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2020.– Vol. 104.– P. 103634. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2020.103634.

[7] Kurusu R. S., Demarquette N. R. Surface modification to control the water wettability of electrospun mats // *International Materials Reviews*. 2019.– Vol. 64, № 5.– pp. 249–287. DOI: 10.1080/09506608.2018.1484577.

[8] Bognitzki M. et al. Preparation of fibers with nanoscaled morphologies: Electrospinning of polymer blends // *Polymer Engineering and Science*. 2001.– Vol. 41, № 6.– pp. 982–989. DOI: 10.1002/pen.10799.

[9] Fleischer S., Shapira A., Regev O., Nseir N., Zussman E., Dvir T. Albumin fiber scaffolds for engineering functional cardiac tissues // *Biotechnology and Bioengineering*. 2014.– Vol. 111, № 6.– pp. 1246–1257. DOI: 10.1002/bit.25185.

[10] Li D., Wang Y., Xia Y. Electrospinning of polymeric and ceramic nanofibers as uniaxially aligned arrays // *Nano Letters*. 2003.– Vol. 3, № 8.– pp. 1167–1171. DOI: 10.1021/nl0344256.

[11] Lei T., Xu Z., Cai X., Xu L., Sun D. New Insight into Gap Electrospinning: Toward Meter-long Aligned Nanofibers // *Langmuir*. 2018.– Vol. 34, № 45.– pp. 13788–13793. DOI: 10.1021/acs.langmuir.8b03114.

[12] Gualandi C. et al. Ethanol disinfection affects physical properties and cell response of electrospun poly(L-lactic acid) scaffolds // *European Polymer Journal*. 2012.– Vol. 48, № 12.– pp. 2008–2018. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2012.09.016.

[13] Leclech C., Villard C. Cellular and Subcellular Contact Guidance on Microfabricated Substrates // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2020.– Vol. 8. P. 551505.– DOI: 10.3389/fbioe.2020.551505.

ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в базе ядра Российского индекса научного цитирования «eLibrary Science Index», а также в изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности и отрасли наук:

1. Bagrov D., Gazizova Y., Podgorsky V., Udovichenko I., Danilkovich A., Prusakov K., Klinov D. Morphology and aggregation of RADA-16-I peptide Studied by AFM, NMR and molecular dynamics simulations // *Peptide Science*. – 2016. – Vol. 106. – № 1. – pp. 72–81. EDN: WVVEF. Импакт-фактор 1,9 (JIF), 0.625 п.л., авторский вклад 0.6.

2. Bessonov I. V., Rochev Y. A., Arkhipova A. Y., Kopitsyna M. N., Bagrov D. V., Karpushkin E. A., Bibikova T. N., Moysenovich A. M., Soldatenko A. S., Nikishin I. I., Kotliarova M. S., Bogush V. G., Shaitan K. V., Moisenovich M. M. Fabrication of hydrogel scaffolds via photocrosslinking of methacrylated silk fibroin //

Biomededical Materials. – 2019. – Vol. 14. – № 3. – P. 034102. EDN: MIKTBY. Импакт-фактор 3,9 (JIF), 1 п.л., авторский вклад 0.1.

3. Бессонов И. В., Котлярова М. С., Копицына М. Н., Федулов А. В., Мойсенович А. М., Архипова А. Ю., Богуш В. Г., Багров Д. В., Рамонова А. А., Машков А. Е., Шайтан К. В., Мойсенович М. М. Фотоотверждаемые гидрогели, содержащие спироин или фиброин // Вестник Московского университета. Серия 16: Биология. – 2018. – Т. 73. – № 1. – С. 29–33. EDN: YMCDGZ. Импакт-фактор 0,443 (РИНЦ), 0.25 п.л., авторский вклад 0.1.

4. Bagrov D. V., Yarysheva A. Y., Rukhlya E. G., Yarysheva L. M., Volynskii A. L., Bakeev N. F. Atomic force microscopic study of the structure of high-density polyethylene deformed in liquid medium by crazing mechanism // Journal of Microscopy. – 2014. – Vol. 253. – № 2. – pp. 151–160. EDN: SKLEJR. Импакт-фактор 1,9 (JIF), 0.6 п.л., авторский вклад 0.5.

5. Ярышева А. Ю., Багров Д. В., Рухля Е. Г., Ярышева Л. М., Волынский А. Л., Бакеев Н. Ф. Первое прямое микроскопическое исследование крейзованной структуры полимера, стабилизированной жидкой средой // Доклады Академии Наук. – 2011. – Т. 440. – № 5. – с. 655–657. EDN: OJHNEN. Импакт-фактор 0,932 (РИНЦ), 0.18 п.л., авторский вклад 0.4.

6. Yarysheva A. Yu., Rukhlya E. G., Yarysheva L. M., Bagrov D. V., Volynskii A. L., Bakeev N. F. The structural evolution of high-density polyethylene during crazing in liquid medium // European Polymer Journal. – 2015. – Vol. 66. – pp. 458–469. EDN: UFQKPX. Импакт-фактор 6,8 (JIF), 0.6 п.л., авторский вклад 0.3.

7. Yarysheva A. Yu., Bagrov D. V., Kechek'yan P. A., Rukhlya E. G., Bakirov A. V., Yarysheva L. M., Chvalun S. N., Volynskii A. L. Which way do fibrils disappear? // Polymer. – 2019. – Vol. 169. – pp. 234–242. EDN: UDQZST. Импакт-фактор 7,4 (JIF), 1 п.л., авторский вклад 0.3.

8. Yarysheva A. Yu., Bagrov D. V., Bakirov A. V., Yarysheva L. M., Chvalun S. N., Volynskii A. L. Effect of initial polypropylene structure on its deformation via crazing mechanism in a liquid medium // European Polymer Journal. – 2018. – Vol. 100. – pp. 233–240. EDN: XXDBFR. Импакт-фактор 6,8 (JIF), 0.4 п.л., авторский вклад 0.3.

9. Yarysheva A. Y., Bagrov D. V., Bakirov V. A. V., Tarasevich B. N., Grohovskaya T. E., Yarysheva L. M., Chvalun S. N., Volynskii A. L. Polyethylene–Poly(ethylene oxide) Hybrid Films Obtained by Crazing and Their Structural Peculiarities // Macromolecules. – 2017. – Vol. 50. – № 7. – pp. 2881–2888. EDN: RGVYDI. Импакт-фактор 5,7 (JIF), 0.4 п.л., авторский вклад 0.15.

10. Yarysheva A., Khavpachev M., Bagrov D., Bakirov A., Efimov A., Trofimchuk E., Chvalun S. Breathable Materials and Hybrid Nanocomposites with Antimicrobial Activity Based on Porous Poly(ϵ -Caprolactone) Obtained via Environmental Crazing // Macromolecular Materials and Engineering. – 2020. – Vol. 306. – № 3. – P. 2000636. EDN: DJUUZU. Импакт-фактор 5,2 (JIF), 0.5 п.л., авторский вклад 0.1.

11. Ярышева А. Ю., Звонова А. А., Тюбаева П. М., Багров Д. В., Ярышева Л. М., Аржакова О. В. Структура и свойства нанокомпозитов полипропилена с поливиниловым спиртом, полученных методом крейзинга //

Высокомолекулярные соединения. Серия А. – 2023. – Т. 65. – № 3. – с. 205–211. EDN: ZGVGNU. Импакт-фактор 0,91 (РИНЦ), 0,375 п.л., авторский вклад 0,15.

12. Ярышева А. Ю., Багров Д. В., Рухля Е. Г., Ярышева Л. М., Волынский А. Л., Бакеев Н. Ф. Особенности делокализованного крейзинга полиэтилена высокой плотности в растворах полиэтиленоксида // Высокомолекулярные соединения. Серия А. – 2012. – Т. 54. – № 10. – с. 1507–1515. EDN: PBWEFR. Импакт-фактор 0,91 (РИНЦ), 0,5 п.л., авторский вклад 0,15.

13. Bagrov D. V. Mechanical properties and morphology of electrospun mats made of poly (ω -pentadecalactone) / Pavlova E. R., Nifant'ev I. E., Minyaev M. E., Bagrov D. V., Klinov D. V. // Journal of Physics: Conference Series. – 2019. – Vol. 1310. – P. 012013. EDN: KWKFGN. Импакт-фактор 0,18 (SJР), 0,3 п.л., авторский вклад 0,2.

14. Sokolova A. I., Pavlova E. R., Bagrov D. V., Klinov D. V., Shaitan K. V. Dye adsorption onto electrospun films made of polylactic acid and gelatin / // Molecular Crystals and Liquid Crystals. – 2018. – Vol. 669. – № 1. – pp. 126–133. EDN: DPWJWW. Импакт-фактор 0,7 (JIF), 0,4 п.л., авторский вклад 0,25.

15. Bogdanova A., Pavlova E., Polyanskaya A., Monakhova K., Volkova M., Biryukova E., Filkov G., Trofimenko A., Durymanov M., Kovaleva E., Rybalkin S., Piryazev A., Ivanov D., Klinov D., Bagrov D. Comparison of the Electrospun Mats Made of Polylactide and Polydioxanone // Journal of Polymers and the Environment. – 2025. – Vol. 33. – № 7. – pp. 3109–3123. EDN: USBIEP. Импакт-фактор 5,6 (JIF), 0,85 п.л., авторский вклад 0,2.

16. Bagrov D., Perunova S., Pavlova E., Klinov D. Wetting of electrospun nylon-11 fibers and mats // RSC Advances. – 2021. – Vol. 11. – № 19. – pp. 11373–11379. EDN: PJYEUR. Импакт-фактор 6,1 (JIF), 0,35 п.л., авторский вклад 0,6.

17. Багров Д. В. Корреляционная микроскопия СЭМ-КЛСМ и ее применение для исследования электроформованных волокон желатина / Багров Д. В., Павлова Е. Р., Богданова А. С., Мойсенович А. М., Митько Т. В., Рамонова А. А., Клинов Д. В. // Наноиндустрия. – 2024. – Т. 17. – № 3–4. – с. 208–219. EDN: IQNVWK. Импакт-фактор 0,18 (РИНЦ), 0,6 п.л., авторский вклад 0,6.

18. Сенковенко А. М., Мойсенович А. М., Маслакова А. А., Павлова Е. Р., Багров Д. В. Измерение адсорбции антител класса IgG на электроформованные мембраны из нейлона-6 // Биофизика. – 2022. – Т. 67. – № 3. – с. 555–561. EDN: AOOXHP. Импакт-фактор 0,593 (РИНЦ), 0,3 п.л., авторский вклад 0,4.

19. Багров Д. В. Структурная модель электроформованных мембран и создание синтетических СЭМ-изображений с ее помощью // Наноиндустрия. – 2026. – Т. 19. – № 1. – с. 36–45. EDN: OAGPJQ. Импакт-фактор 0,18 (РИНЦ), 0,5 п.л., авторский вклад 1.

20. Pavlova E. R., Bagrov D. V., Kopitsyna M. N., Shchelokov D. A., Bonartsev A. P., Zharkova I. I., Mahina T. K., Myshkina V. L., Bonartseva G. A., Shaitan K. V., Klinov D. V. Poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) and bovine serum albumin blend prepared by electrospinning // Journal of Applied Polymer Science. – 2017. – Vol. 134. – № 29. – P. 45090. EDN: YVCQJR. Импакт-фактор 3,1 (JIF), 0,5 п.л., авторский вклад 0,35.

21. Pavlova E., Nikishin I., Bogdanova A., Klinov D., Bagrov D. The miscibility and spatial distribution of the components in electrospun polymer–protein mats // RSC Advances. – 2020. – Vol. 10. – № 8. – pp. 4672–4680. EDN: SZZUCT. Импакт-фактор 6,1 (JIF), 0.5 п.л., авторский вклад 0.3.
22. Bagrov D. V., Nikishin I. I., Pavlova E. R., Klinov D. V. Distribution of polylactide and gelatin in single electrospun nanofibers studied by Raman spectroscopy // AIP Conference Proceedings. – 2019. – Vol. 2064. – № 1. – P. 040001. EDN: EIWBTY. Импакт-фактор 0,146 (SJР), 0.25 п.л., авторский вклад 0.7.
23. Bogdanova A. S., Sokolova A. I., Pavlova E. R., Klinov D. V., Bagrov D. V. Investigation of cellular morphology and proliferation on patterned electrospun PLA-gelatin mats // Journal of Biological Physics. – 2021. – Vol. 47. – pp. 205–214. EDN: SCDXPU. Импакт-фактор 2.0 (IF), 0.4 п.л., авторский вклад 0.35.
24. Bogdanova A., Pavlova E., Polyanskaya A., Volkova M., Biryukova E., Filkov G., Trofimenko A., Durymanov M., Klinov D., Bagrov D. Acceleration of Electrospun PLA Degradation by Addition of Gelatin // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Vol. 24. – № 4. – P. 3535. EDN: HSJEKO. Импакт-фактор 5,6 (JIF), 0.7 п.л., авторский вклад 0.15.
25. Багров Д. В. Деформация ядер кератиноцитов HaCaT на ориентированных волокнистых субстратах / Павлова Е. Р., Багров Д. В., Храмова Ю. В., Клинов Д. В., Шайтан К. В. // Вестник Московского университета. Серия 16: Биология. – 2017. – Т. 72. – № 2. – с. 99–105. EDN: YKORHH. Импакт-фактор 0,443 (РИНЦ), 0.3 п.л., авторский вклад 0.4.
26. Pavlova E. R., Bagrov D. V., Monakhova K. Z., Piryazev A. A., Sokolova A. I., Ivanov D. A., Klinov D. V. Tuning the properties of electrospun polylactide mats by ethanol treatment // Materials and Design. – 2019. – Vol. 181. – P. 108061. EDN: YYWKGS. Импакт-фактор 8,2 (JIF), 0.4 п.л., авторский вклад 0.4.
27. Sokolova A. I., Pavlova E. R., Khramova Yu. V., Bagrov D. V., Klinov D. V., Shaitan K. V. Application of fluorescence and scanning electron microscopy for the investigation of cell contact guidance // AIP Conference Proceedings. – 2019. – Vol. 2064. – № 1. – P. 020004. EDN: JERCEW. Импакт-фактор 0,146 (SJР), 0.25 п.л., авторский вклад 0.3.
28. Sokolova A. I., Pavlova E. R., Khramova Y. V., Klinov D. V., Shaitan K. V., Bagrov D. V. Imaging human keratinocytes grown on electrospun mats by scanning electron microscopy // Microscopy Research and Technique. – 2019. – Vol. 82. – № 5. – pp. 544–549. EDN: UFXXOJ. Импакт-фактор 2,1 (JIF), 0.3 п.л., авторский вклад 0.4.
29. Prusakov K. A., Bagrov D. V. Convection-Diffusion-Adsorption Model for the Description of the Analyte-Binding Reactions on a Membrane // Analytical Letters. – 2024. – Vol. 57. – № 16. – pp. 2745–2761. EDN: ZDRONM. Импакт-фактор 1,8 (JIF), 1 п.л., авторский вклад 0.5.
30. Maslakova A., Prusakov K., Sidorova A., Pavlova E., Ramonova A., Bagrov D. Pressure-Driven Sample Flow through an Electrospun Membrane Increases the Analyte Adsorption // Micro. – 2023. – Vol. 3. – № 2. – pp. 566–577. EDN: AWAPNA. Импакт-фактор 2,4 (JIF), 0.65 п.л., авторский вклад 0.5.

31. Замалутдинова С. В., Петрова П. А., Рамонова А. А., Багров Д. В. Оригинальность без привилегий: сравнительный анализ электроформованных и стандартных нитроцеллюлозных мембран в иммуноанализе на мелатонин // Наноиндустрия. – 2024. – Т. 17. – № 3–4. – с. 220–229. EDN: TZOVCSY. Импакт-фактор 0,18 (РИНЦ), 0.5 п.л., авторский вклад 0.6.

32. Прусаков К. А., Замалутдинова С. В., Сидорова А. Е., Багров Д. В. Адсорбция белков на нитроцеллюлозные мембраны из потока раствора – теория и эксперимент // Биофизика. – 2024. – Том. 69. – № 5. – с. 949–958. EDN: MLOHZK. Импакт-фактор 0,593 (РИНЦ), 0.5 п.л., авторский вклад 0.5.

33. Pavlova E., Maslakova A., Prusakov K., Bagrov D. Optical sensors based on electrospun membranes – principles, applications, and prospects for chemistry and biology // New Journal of Chemistry. – 2022. – Vol. 46. – № 18. – pp. 8356–8380. EDN: ZBYCLR. Импакт-фактор 2,6 (JIF), 1.4 п.л., авторский вклад 0.25.

Прочие публикации

34. Павлова Е. Р., Багров Д. В., Соколова А. И., Клинов Д. В. Ориентация волокон в матриксах из поли (ε-капролактона), желатина и их смеси, полученных методом электроспиннинга // Нанотехнологии: разработка, применение – XXI Век. – 2018. – Т. 1. – № 10. – с. 20–25. EDN: XOZBGX. Импакт-фактор 0,191 (РИНЦ), 0.35 п.л., авторский вклад 0.4.

Список сокращений и обозначений

ААС – адсорбционно-активная среда

АСМ – атомно-силовая микроскопия

БСА – бычий сывороточный альбумин

ГФИП – 1,1,1,3,3,3-гексафторизопропанол

ИЛ1б – интерлейкин-1 бета

КЛСМ – конфокальная лазерная сканирующая микроскопия

КР-спектроскопия – спектроскопия комбинационного рассеяния

ПДО – полидиоксанон

ПКЛ – поли(ε-капролактон)

ПЛА – полилактид

ПОВВ – поли(оксибутират-со-оксивалерат)

ПП – полипропилен

ППДЛ – поли(ω-пентадекалактон)

ПЭВП – полиэтилен высокой плотности

СЭМ – сканирующая электронная микроскопия

FITC – Fluorescein Isothiocyanate (флуоресцеин изотиоцианат)

NA – Numerical Aperture (числовая апертура)