

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию

ХОХЛОВОЙ Марии Дмитриевны

на тему:

«МЕТОД ОПТИЧЕСКОГО ПИНЦЕТА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СИЛ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ И
МИКРОМЕХАНИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК КЛЕТОК»,

представленную на соискание ученой степени

кандидата физико-математических наук

по специальности 01.04.05 – оптика

Диссертационная работа Хохловой М.Д. посвящена развитию новых экспериментальных методик на основе оптического пинцета для определения силовых характеристик микрообъектов. В работе представлены результаты по измерению сил агрегации эритроцитов пиконьютонового масштаба, а также развиты методы для определения микромеханических свойств мембран одиночных эритроцитов, взвешенных в жидкой среде.

Целями диссертационной работы являются развитие метода двухлучевого оптического пинцета для определения вязко-упругих и агрегационных свойств одиночных эритроцитов, а также для изучения механизмов агрегации эритроцитов.

Актуальность и научная значимость избранной темы диссертационной работы обусловлена необходимостью развития методов управления положением микрообъектов, диагностики свойств микрообъектов и характеристики их взаимодействия друг с другом и окружающей средой. Подобные методы активно развиваются в последние десятилетия, что обусловлено потребностями таких областей научного знания как биофизика, клеточная биология, медицина, коллоидная химия и т.п.

Диссертационная работа состоит из введения, четырех глав, заключения и списка цитируемых источников. В первой главе приведен подробный обзор литературы, в котором описывается методика фотонно-силовой микроскопии, обсуждаются различные способы калибровки оптических ловушек, приводятся примеры применения оптического пинцета для изучения широкого круга задач, а также освещаются основные существующие методики для исследования микромеханических и агрегационных свойств одиночных эритроцитов. В конце первой главы излагаются задачи диссертационной работы и обосновывается их

актуальность. Во второй главе рассмотрен вопрос об определении вязко-упругих свойств одиночных эритроцитов, взвешенных в естественной для них среде, в широком диапазоне частот внешнего воздействия на клетку от единиц Гц до 250 кГц. Предложен новый метод мониторинга микромеханических свойств клеток по анализу малых хаотичных броуновских смещений мембраны клетки в случае частот до 100 Гц и вынужденных колебаний краев эритроцита под действием внешнего периодического возмущения. Третья глава посвящена разработке оптической методики для прямого изменения сил сдвиговой дезагрегации эритроцитов в плазме крови и развития этого метода для определения разницы в агрегационных свойствах в случае нормы и для патологически измененных клеток. В четвертой главе с помощью двухлучевого оптического пинцета проведено измерение сил и особенностей агрегации эритроцитов в растворах трех основных белков плазмы крови для выявления вклада каждого из них в процесс агрегации эритроцитов. Экспериментально исследован вклад рецепторного механизма в процесс агрегации эритроцитов с использованием предложенной оптической методики. В заключении сформулированы основные научные и научно-технические результаты работы. Представленная работа оформлена в соответствии с требованиями, написана грамотно и ясно, подробно описаны параметры экспериментальных установок оптического пинцета, состав суспензий, используемых в качестве объектов исследования. В целом научная работа соискателя является качественной, подтверждает его высокий уровень квалификации, интерес к актуальным задачам физики и способность получать значимые научные результаты.

Достоверность представленных в работе экспериментальных результатов обеспечена согласием с результатами, полученным другими исследователями. Полученные результаты апробированы на ведущих международных конференциях по тематике работы, опубликованы в высокорейтинговых реферируемых научных изданиях. Все представленные научные положения и выводы, сформулированные в диссертации, **обоснованы** экспериментальными результатами.

Представленные результаты являются **новыми**. В работе впервые предложен оптический метод диагностики микромеханических свойств одиночных эритроцитов, взвешенных в жидкости и оптически захваченных в перетяжку лазерного пучка вдали от подложки, без использования вспомогательных микрочастиц, в диапазоне частот от 1 Гц до 250 кГц. Впервые методом двухлучевого оптического пинцета напрямую измерены силы агрегации одиночных эритроцитов

в парном агрегате, взвешенном в плазме крови, и показано различие в силе сдвиговой дезагрегации нормальных и патологически измененных эритроцитов на уровне одиночных клеток. Впервые экспериментально продемонстрирован вклад различных белков плазмы в агрегацию одиночных эритроцитов методом двухлучевого оптического пинцета при визуальном контроле эксперимента посредством оптической микроскопии.

Практическая значимость работы обусловлена активным развитием методик, позволяющих управлять положением, измерять силы взаимодействия и определять локальные характеристики микрообъектов. Изучение эритроцитов методом оптического пинцета может быть использовано для развития новых способов диагностики заболеваний в медицине.

Научная значимость работы заключается в совершенствовании методов управления микрообъектами, в том числе взаимодействующими биологическими клетками. Предложенная методика измерения сил агрегации эритроцитов может быть использована для изучения механизмов их взаимодействия и большего понимания физиологических изменений при патологических состояниях крови, а подходы, развитые в работе, для определения микромеханических свойств мембран эритроцитов позволяют расширить диапазон частот внешнего воздействия на клетку для анализа ее отклика на это воздействие.

При оценке диссертационной работы следует отметить некоторые недостатки:

1. В проведенных экспериментах не контролировалась степень оксигенации эритроцитов, что может влиять на их вязко-упругие свойства в растворах.
2. В тексте встречаются неточности в ссылках на рисунки. Так, например, на стр 81 говорится, что характерная микрофотография эритроцита и прикрепленной к нему микрочастицы изображена на рисунке 22ж, тогда как такая микрофотография показана на рисунке 22д.

В целом, несмотря на сделанные замечания, диссертация М. Д. Хохловой представляет собой законченное исследование, научная значимость и оригинальность которого не вызывает никакого сомнения. Работа выполнена на высоком профессиональном уровне и открывает широкие перспективы дальнейших исследований в этом направлении. Автор диссертации демонстрирует высокую

квалификацию как на этапе проведения эксперимента, так и на этапах обработки и интерпретации экспериментальных данных и представления полученных результатов.

Автореферат работы Хохловой М. Д. соответствует содержанию диссертации. Результаты в достаточном объеме опубликованы в научных журналах и представлены на научных конференциях.

Таким образом, из вышеизложенного следует, что представленная к защите диссертационная работа М. Д. Хохловой удовлетворяет требованиям ВАК, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а М.Д. Хохлова заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.05 – оптика.

Старший научный сотрудник лаборатории
Алмазных материалов ЦЕНИ ИОФ РАН

кандидат физ.-мат. наук

И.И. Власов



Власов Игорь Иванович, старший научный сотрудник федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук. Адрес: 119991, Москва, ул. Вавилова, 38, Копр. 5 комн. 100. Тел. 8 (499)503-83-55. E-mail: vlasov@nsc.gpi.ru