

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА
Д 002.034.01 НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТ АНАЛИТИЧЕСКОГО ПРИБОРОСТРОЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК (ИАП РАН), Г. САНКТ-ПЕТЕРБУРГ
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК
аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от «23» декабря 2019 г. № 17

о присуждении Тимощуку Кириллу Игоревичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата физико-математических наук.

Диссертация «Методики исследования мягких объектов в атомно-силовой микроскопии» по специальности 01.04.01 – Приборы и методы экспериментальной физики принята к защите 21.10.2019 г., протокол № 13-1 диссертационным советом Д002.034.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института аналитического приборостроения Российской академии наук (ИАП РАН), 190103, Санкт-Петербург, Рижский пр. 26, приказ 714/нк от 02.11.2012 г.

Соискатель, Тимощук Кирилл Игоревич, 1993 года рождения, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики» закончил в 2015 году, работает инженером в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук», а также инженером в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики», где и была выполнена диссертация.

Официальные оппоненты:

1. Мошников Вячеслав Алексеевич, доктор физико-математических наук, профессор, ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет «ЛЭТИ» им. В.И. Ульянова (Ленина)», профессор кафедры микро- и наноэлектроники;
 2. Егоров Владимир Валерьевич, кандидат биологических наук, ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа им. А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий лабораторией генной инженерии и экспрессии рекомбинаторных белков, ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова (ПИЯФ) НИЦ «Курчатовский институт»», старший научный сотрудник лаборатории биофизики макромолекул
- дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», в своем положительном заключении, подписанном заведующим кафедрой теоретической и прикладной механики Товстиком Петром Евгеньевичем, доктором физико-математических наук профессором кафедры теоретической и прикладной механики Бауэр Светланой Михайловной, доктором физико-математических наук, утвержденном проректором по научной работе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет» Микушевым Сергеем Владимировичем, указала на следующие замечания:

- 1) На рисунке 4.3 (стр.87) следовало бы сделать подписи на осях координат (как это сделано на других рисунках);
- 2) Параграф 4.2.4 работы посвящен выявлению оценки вклада фактора положения на консоли точки фокуса лазерного луча системы регистрации деформаций кантилевера. Описана серия экспериментов, но нет объяснений с какой погрешностью определяется эта точка фокуса.
- 3) В работе имеются опечатки и не очень удачные выражения. Например, в выводах главы 5 во фразе "...применение колхицина неожиданно увеличивает модуль Юнга..." не совсем уместно слово "неожиданно".

Соискатель имеет **18 (восемнадцать)** публикаций, из которых по теме диссертации **13 (тринадцать)** публикации, из которых **4 (четыре)** в рецензируемых научных изданиях, входящих в Перечень ВАК РФ и в изданиях, индексируемых в Международных библиометрических базах WoS и Scopus, а также **9 (девять)** тезисов докладов на конференциях.

К наиболее значительным работам, отражающим основное содержание диссертации, относятся:

1. Халисов М.М., Тимощук К.И., Анкудинов А.В., Тимошенко Т.Е. Атомно-силовая микроскопия набухания и упрочнения закрепленных на подложке интактных эритроцитов // Журнал технической физики - 2017. - Т. 87. - № 2. - С. 282-285.
2. Халисов М.М., Анкудинов А.В., Пеннийянен В.А., Няпшаев И.А., Кипенко А.В., Тимощук К.И., Подзорова С.А., Крылов Б.В. Атомно-силовая микроскопия устройства поверхностных слоев интактных фибробластов // Письма в Журнал технической физики - 2017. - Т. 43. - № 4. - С. 56-63.
3. Анкудинов А.В., Халисов М.М., Пеннийянен В.А., Подзорова С.А., Тимощук К.И., Крылов Б.В. Эффект длины зонда на кантилевере атомно-силового микроскопа в измерениях механических свойств нативных нейронов // Письма в Журнал технической физики - 2018. - Т. 44. - № 15. - С. 38-45.

4. Тимощук К.И., Халисов М.М., Пенниайнен В.А., Крылов Б.В., Анкудинов А.В. Исследование механических характеристик нативных фибробластов с помощью атомно-силового микроскопа // Письма в Журнал технической физики - 2019. - Т. 45. - № 18. - С. 44-47.
5. Халисов М.М., Анкудинов А.В., Пенниайнен В.А., Тимощук К.И. Особенности реакции сенсорных нейронов на вещества с анальгетическим эффектом, выявленные методом атомно-силовой микроскопии. // Материалы Всероссийской молодежной конференции с международной конференцией с международным участием "Современные аспекты интегративной физиологии". - 2018. - С. 111-112.
6. Анкудинов А.В., Халисов М.М., Пенниайнен В.А., Подзорова С.А., Тимощук К.И., Крылов Б.В. Вклад длины зонда атомно-силового микроскопа в значения кажущегося модуля Юнга нативных нейронов. // Методологические аспекты сканирующей зондовой микроскопии: сб. докл. XIII Междунар. конф., Минск, 16-19 окт. 2018 г. - 2018. - С. 246-250.
7. Тимощук К.И. Влияние длины зонда атомно-силового микроскопа на кажущийся модуль Юнга сенсорных нейронов. // Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2019». Электронное издание. - 2019. - Режим доступа: https://lomonosov-msu.ru/archive/Lomonosov_2019/data/16073/87820_uid337804_report.pdf, своб.

Соискателем сформулированы задачи исследований, осуществлен обзор и анализ литературных данных и организовано проведение научных исследований в области развития методик измерений рельефа морфологии и механических параметров мягких объектов методом атомно-силовой микроскопии (АСМ). Сформированы критерии классификации контакта АСМ-зонда с мягкими объектами по принципу «защемленный-скользящий» для обеспечения адекватности АСМ-измерений их механических и геометрических параметров. Разработана методика определения вклада геометрической формы кантилевера в результаты измерений кажущейся контактной жесткости и эффективного модуля Юнга мягких объектов. Разработана методика выявления состояний скольжения-залипания в контакте АСМ-зонда с индивидуальным мягким объектом.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. От Мошников Вячеслава Алексеевича, доктор физико-математических наук, профессора, ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет «ЛЭТИ» им. В.И. Ульянова (Ленина)», профессора кафедры микро- и нанoeлектроники. Замечания:
1) Не совсем удачно в названии диссертации присутствует термин "методики". "Методикой", согласно ИЮПАК, считается способ применимый только к одной специфической ситуации, например, только к образцу определенного состава.

Предложенными же автором "методиками" можно изучать целый класс так называемых мягких объектов (гидрогели, полимеры, клетки...). Т.о. правильнее было бы использовать термин "методы".

2) Практическую значимость диссертации усилил бы акт внедрения или акт использования разработанных методик.

3) В главе 4, пункте 4.2.4, посвященном изучению влияния выбора положения точки фокуса лазерного луча на консоли АСМ кантилевера назначение измеряемого сигнала, не рассмотрен вопрос точности позиционирования лазерного фокуса.

4) В главе 5 диссертационной работы, посвященной в том числе исследованию воздействия вещества "колхицин", не обоснован выбор этого препарата.

5) В тексте диссертации присутствуют орфографические и стилистические ошибки. Есть замечания и к рисункам, например, у рисунка 2.3 на странице 49 не совсем удачно выбрана цветовая палитра, затрудняющая его восприятие. Кроме того, стиль оформления рисунков эклектичен.

2. От Егорова Владимира Валерьевича, кандидата биологических наук, ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа им. А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующего лабораторией генной инженерии и экспрессии рекомбинаторных белков, ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова (ПИЯФ) НИЦ «Курчатовский институт» », старшего научного сотрудника лаборатории биофизики макромолекул. Замечание:

Принципиальных замечаний к работе и спорных положений не имеется. В тексте имеются небольшое число стилистических погрешностей, ряд ошибок в употреблении терминов. Указанные замечания не влияют на высокую положительную оценку работы.

3. От Сухановой Татьяны Евгеньевны, доктора физико-математических наук, заместителя директора по научной работе ФГУП «Ордена Ленина и ордена Трудового Красного Знамени Научно-исследовательского института синтетического каучука имени академика С.В. Лебедева». Замечания:

1) На стр. 4 автореферата сказано: "Особенно важно иметь это в виду при исследовании таких объектов, как: гидрогели, полимеры и нативные клетки". Тем не менее, в диссертационной работе приведены результаты исследований только нативных клеток. Почему автор ограничился только этим типом объектов?

2) При изложении материала третьей главы диссертации в автореферате на стр. 8-10, не достаточно четко определено, какую зависимость от λ имеет модуль Юнга в случае так называемых "скользящих" объектов?

3) На рисунках 4 и 5 (стр. 12 и 13 автореферата) представлены гистограммы средних значений модуля Юнга нативных фибробластов и интенсивности свечения актиновых волокон в них до и после воздействия препарата колхицина. Однако, на рисунках не приведены планки погрешностей, не смотря на то, что в проведенных измерениях

погрешность явно присутствует. Более того, в тексте автореферата отсутствует какая-либо информация о значениях погрешностей выполненных измерений.

4) Автореферат написан хорошим языком, логично и грамотно. Тем не менее, в тексте на стр. 11 содержатся не совсем удачные по стилю изложения фразы, так, например, автор 10 раз использует словосочетание "нативный фибробласт", и 6 раз – "интактный контрольный нативный фибробласт", что представляет собой некую тавтологию.

4. От Няпшаева Ильи Александровича, кандидата физико-математических наук, старшего технолога общества с ограниченной ответственностью «НТЦ тонкопленочных технологий в энергетике». Замечания:

1) После прочтения текста, посвященного рисункам 1 и 2, остается не ясным, кантилевер с каким λ более предпочтителен для "адекватности АСМ исследований липких объектов" (в терминологии автора). Кроме того, не сказано, какая из гистограмм на рисунке 1 ближе к истине.

2) По поводу "проскальзывания" зонда на наклонных участках образца: если длинная сторона консоли кантилевера параллельна склону, то с возможностью такого "проскальзывания" можно согласиться. Когда же параллельна склону короткая сторона консоли, "проскальзывание" не очевидно, поскольку зонд кантилевера в этом случае будет "наткаться" на склон. Каково мнение автора по этому поводу? В автореферате его, к сожалению, нет.

5. От Афонина Петра Николаевича, доктора технических наук, заведующего кафедрой технических средств таможенного контроля и криминалистики Санкт-Петербургского филиала Российской таможенной академии. Замечания:

Автор допускает стилистические ошибки, например, на странице 13 в предложении «Серия проведенных экспериментов позволила установить, что применение колхицина неожиданно увеличивает модуль Юнга и уменьшает деформацию нативных фибробластов» не вполне корректно используется слово «неожиданно».

6. От Павлова Федора Федоровича, кандидата физико-математических наук, главного специалиста Кафедры физики Факультета фундаментальной подготовки ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет телекоммуникаций им. проф. М.А. Бонч-Бруевича». Замечания:

Автор допускает стилистические ошибки, например, на страницах 3, 13 и 14 используется слово "охарактеризация", не являющееся традиционным для русского языка.

7. От Ходзицкого Михаила Константиновича, кандидата физико-математических наук, руководителя лаборатории ТГц и биомедицины Научно-исследовательского центра биоинженерии ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики». Без замечаний.

8. От Куликова Кирилла Геннадьевича, доктора физико-математических наук, профессора высшей школы биомедицинских систем и технологий ФГАОУ ВО «Санкт-

Петербургский политехнический университет Петра Великого». Замечания отсутствуют.

9. От Возиановой Анны Викторовны, кандидата физико-математических наук, доцента факультета фотоники и оптоинформатики ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики». Без замечаний.

Все отзывы, как содержащие, так и не содержащие замечаний, положительные.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается большим опытом работы в областях, относящихся к проблематике диссертационной работы, таких как: оптическая и сканирующая зондовая микроскопия, биохимия и биофизика, теоретическая механика.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработаны и **апробированы** два новых метода атомно-силовой микроскопии, обеспечивающих адекватность измерений вязко-упругих характеристик (в частности, модуля Юнга) мягких объектов: один – для среднестатистического анализа измеряемых параметров у группы однотипных объектов, второй – для описания и классификации каждого отдельного объекта;

показано, что АСМ-зонд залипает (защемляется) на среднестатистическом нативном нейроне и эритроците, а на большинстве нативных фибробластов скользит;

выявлено уменьшение измеряемого в АСМ модуля Юнга E_A с ростом отношения высоты зонда к длине консоли при АСМ-исследовании Si- и Si₃N₄-зондами мягких образцов (на примере) нативных нейронов куриного эмбриона в жидкой питательной среде, что указывает на преобладание латеральных сил над нормальными в контакте зонд-образец;

установлено, что рост кажущейся деформации на наклонных участках однородного образца свидетельствует о проскальзывании на нем АСМ-зонда, что обеспечивает адекватность измерений механических параметров такого образца;

с помощью разработанных методов **продемонстрирован** побочный эффект действия колхицина на нативные фибробласты, который удалось проявить в снижении их податливости благодаря применению разработанных АСМ-методик сортировки объектов исследования на липкие и скользкие (как для среднестатистического, так и для индивидуального объекта).

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что применительно к проблематике диссертации **результативно, с получением обладающих новизной результатов:**

установлено, что наличие зависимости измеряемого модуля Юнга, E_A , от отношения высоты зонда к длине консоли используемого АСМ-кантилевера, λ , характеризует контакт

АСМ-зонда со среднестатистическим объектом из группы однотипных объектов как заземленный (липкий), отсутствие – как скользящий;

показано, что вклад нормальных сил F_z в изгиб консоли кантилевера преобладает над вкладом латеральных сил трения F_y , т.е., $F_z/F_y \gg \lambda$, где λ – это отношение высоты зонда кантилевера к длине консоли;

предложено идентифицировать скользящий тип контакта АСМ-зонда с мягким объектом по возрастанию на его наклонных участках кажущейся деформации, детектируемой как параметр силовой кривой при АСМ-исследовании объекта.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики **подтверждается** тем, что

разработанные для установки BioScope Catalyst с режимом PeakForce QNM компании Bruker **методы** универсальны, и их **можно применять** на приборах с аналогичными режимами других производителей (HybriD mode, НТ-МДТ СИ; Quantitative Imaging (QI), JPK Instruments; Digital Pulsed Force Mode, WITec; Fast Force Mapping Mode, Asylum Research);

показана необходимость контроля параметра λ – отношения длины зонда к длине консоли кантилевера при накоплении статистических АСМ-данных по величине модуля Юнга объекта исследования для обеспечения достоверности измерений;

установлено, что при отсутствии информации об удельном вкладе латеральных и нормальных компонент силы взаимодействия АСМ-зонда с образцом, следует для изучения механических параметров образца выбирать АСМ-кантилеверы с минимальным λ ;

предложенный метод классификации контакта АСМ-зонда с индивидуальным объектом по принципу «заземленный-скользящий» позволяет оценивать адекватность представленных в литературе результатов АСМ-измерений вязко-упругих характеристик мягких объектов;

разработанный метод определения заземленного или скользящего контакта АСМ-зонда с мягким объектом по зависимости $E_A(\lambda)$ позволил детектировать фибробласты, тип контакта АСМ-зонда с которыми является скользящим, и достоверно **установить** увеличение их жесткости после воздействия колхицина.

Оценка достоверности результатов диссертационного исследования **выявила**, что представленные результаты подтверждены и верифицированы тестированием. Экспериментальные данные получены в контролируемых условиях, воспроизводятся и согласуются с проведенными расчетными оценками. Экспериментальные результаты и теоретические оценки имеют четкую физическую интерпретацию и не противоречат современным представлениям о предмете исследования.

Личный вклад соискателя заключается в проведении научных исследований; в анализе литературных данных; формировании критерия, позволяющего классифицировать мягкие объекты как «липкие» или «скользкие»; разработке и апробации двух методов, позволяющих с учетом такой классификации исследуемых объектов обеспечить единство и повысить адекватность измерений вязко-упругих характеристик, один из которых применим к группе однотипных объектов, другой – к любому индивидуальному мягкому объекту. При подготовке публикаций вклад соискателя был соизмерим со вкладом соавторов.

На заседании 23.12.2019 г. Диссертационный совет принял решение присудить Тимощуку Кириллу Игоревичу ученую степень кандидата физико-математических наук.

При проведении тайного голосования Диссертационный совет в количестве 16 человек, из них 16 докторов наук, участвовавших в заседании, из 23 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за – 16, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель Диссертационного совета,
д.т.н., проф.

В.Е. Курочкин

Ученый секретарь Диссертационного совета,
д.ф.-м.н.

А.Л.Буляница

