

## Заключение

диссертационного совета Д 520.009.01 на базе Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» по диссертации Попова А.М. «**Микрофлюидные устройства для исследования структуры белков и механизмов их кристаллизации на источнике синхротронного излучения**», представленной на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.01 – «Приборы и методы экспериментальной физики»

Диссертационный совет на основании выполненных соискателем исследований отмечает, что:

**1) Разработана** технологическая цепочка для оперативного прототипирования и создания разборных микрофлюидных устройств (МФУ) из полиметилметакрилата (ПММА) методами лазерной абляции и термической спайки. При этом достигнуто существенное упрощение процесса изготовления МФУ в сравнении с другими существующими альтернативами, что создает перспективы удешевления и ускорения процедуры прототипирования МФУ. Разработанная технология включает следующие элементы:

- Формирование микроканалов в ПММА методом лазерной гравировки СО<sub>2</sub>лазером.
- Термическое спаивание (бондинг) пластин с микроканалами.
- Обработка микроканалов для придания им гидрофобных и гидрофильных свойств.
- Формирование проводящих электродов.
- Совмещение многослойных МФУ.

**2) Выявлено**, что надежный бондинг профилированных пластин ПММА с отверстиями и микроканалами может быть достигнут на температуре 120°C при малых давлениях 1000–1500 мбар. Ключевым фактором для проведения спайки при столь малых давлениях и температурах является удаление неровностей, образующихся на поверхности ПММА при профилировании методом лазерной абляции. Удаление неровностей и наплывов проводится посредством механической полировки. Предварительная обработка поверхности ПММА озоном и ультрафиолетовым излучением позволяет проводить бондинг при температуре ниже 100°C.

**3) Показана** возможность многократного (до трёх раз) вскрытия МФУ из ПММА для извлечения пробы исследуемого материала и повторной термической спайки.

- 4) Показано**, что разработанная технология создания МФУ позволила изготовить:
- Микрофлюидный чип (МФЧ) для кристаллизации белка методом микробатч;
  - Микрофлюидную ячейку (МФЯ) для проведения *in situ* исследований белковых растворов методом малоуглового рентгеновского рассеяния (МУРР);

- прототип микрофлюидной электрохимической ячейки для улавливания радиоактивного изотопа  $^{18}\text{F}$ ;

- микрофлюидный генератор кислорода с использованием *Chlorella vulgaris*.

**5) Установлено**, что использование МФЧ из ПММА позволяет осуществлять кристаллизацию белка из растворов методом микробатч и проводить рентгеноструктурный анализ (РСА) полученных кристаллов непосредственно в МФЧ с использованием синхротронного излучения, в том числе:

- идентифицировать белковые кристаллы, отличать их от квазикристаллов или кристаллов плохой морфологии;

- отбирать кристаллы наилучшего кристаллического совершенства (дифракционного качества) непосредственно в чипе;

- определять структуру кристаллизованного белка с пространственным разрешением лучше  $3\text{Å}$ , не извлекая кристалл из чипа.

**6) Показано**, что МФЯ из ПММА с плоскопараллельными кварцевыми окнами позволяет проводить *in situ* исследования процессов кристаллизации белков из растворов методом МУРР с использованием синхротронного излучения. Ячейки подобной конструкции позволяют снизить объем исследуемого препарата более чем в 7 раз по сравнению со стандартными кварцевыми капиллярами, применяемыми в МУРР для изучения белковых растворов при сопоставимом соотношении сигнал/шум. При использовании в качестве рентгенопрозрачного окна особо чистого кварцевого стекла толщиной 60 мкм собственный уровень фона рассеяния ячейкой в диапазоне измеряемых углов меньше, чем у кварцевых капилляров, что обеспечивает возможность увеличения точности измерений.

**7) Научная и практическая значимость** диссертации заключается в том, что в ходе исследования была разработана технологическая цепочка для оперативного прототипирования и создания разборных МФУ из ПММА методами лазерной абляции и термической спайки. При этом достигнуто существенное упрощение процесса изготовления МФУ в сравнении с другими существующими альтернативами, что создает перспективы удешевления и ускорения процедуры прототипирования МФУ для различных научных приложений и принципиально новых направлений исследований. Также экспериментальные результаты, полученные с помощью микрофлюидного чипа и ячейки, заметно дополняют и расширяют существующие научные работы по РСА белковых макромолекул и исследованию белковых растворов методом МУРР на источниках синхротронного излучения.

**8) Достоверность результатов и выводов** диссертационной работы подтверждаются использованием взаимодополняющих экспериментальных методик и многократной воспроизводимостью экспериментов, проведенных на различном

лабораторном и измерительном оборудовании. Сформулированные в диссертационной работе научные положения и выводы непротиворечивы и согласуются с фундаментальными физическими принципами.

**9) Личный вклад автора** заключается в участии при постановке задач исследований и выборе методов их решения. Также личный вклад автора состоит в самостоятельной разработке технологической цепочки для создания МФУ из ПММА и проведения всех экспериментальных работ по изготовлению МФУ, анализе полученных экспериментальных результатов и разработке предложенных в работе научно-технических подходов. Автор принимал непосредственное участие в подготовке всех публикаций по выполненной работе.

\* \* \*

Диссертационный совет пришел к выводу, что диссертационная работа Попова А.М. «Микрофлюидные устройства для исследования структуры белков и механизмов их кристаллизации на источнике синхротронного излучения» на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.01 – «Приборы и методы экспериментальной физики» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, которая соответствует критериям, установленным Положением о присуждении ученых степеней, утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842.

На заседании **14 марта 2019 г.** Диссертационный совет принял решение присудить **Попову Антону Михайловичу** ученую степень кандидата физико-математических наук.

При проведении тайного голосования Диссертационный совет в количестве 16 человек, из них 6 докторов наук по специальности диссертации, участвовавших в заседании из 23 человек, входящих в состав совета, проголосовал:

- за присуждение ученой степени – 14,
- против присуждения ученой степени – 1,
- недействительных бюллетеней – 1.

Протокол счетной комиссии утвержден открытым голосованием **единогласно**.