

ВІДГУК

офіційного опонента

на дисертаційну роботу ГЛИБИЦЬКОГО Дмитра Михайловича

«Текстури плівок біополімерно-сольових систем:

кількісний аналіз при фізичних і хімічних впливах»,

подану на здобуття наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук

за спеціальністю 03.00.02 – біофізика (фізико-математичні науки)

Одним з важливих напрямків сучасної біофізики є дослідження модельних систем, які, з одного боку, до певної міри імітують умови, що реалізуються в реальних біологічних об'єктах, а з іншого боку – дозволяють застосувати різноманітні методи фізико-хімічних досліджень та можуть надати інформацію про поведінку біологічних молекул у такому середовищі. Зокрема, викликає інтерес моделювання процесів, коли структура біополімерів може змінюватися під дією зовнішніх впливів – фізичних чинників або хімічного оточення. Істотним джерелом інформації тут можуть бути розчини ДНК і білків, які висушуються на твердій підкладці в певному молекулярному оточенні (наприклад, при варійованому складі водно-сольових розчинів). Процеси дегідратації колоїдних розчинів біополімерів та утворення відповідних плівок на підкладках, з урахуванням можливих проявів надмолекулярної самоорганізації, є предметом численних досліджень в світовій літературі. Тому тема і задача роботи Д. М. Глибицького – виявлення зв'язку між впливом хімічних і фізичних факторів на текстури плівок, отриманих з водно-сольових розчинів біополімерів, та з'ясування механізмів впливу зовнішніх умов та стану біополімеру на утворенні текстури – є вельми актуальною. Важливість таких досліджень є безсумнівною як з точки зору загальних питань молекулярної біофізики, так і для практичних застосувань в плані визначення впливу біологічно активних речовин та розроблюваних фармпрепаратів на стан біополімерів. Не викликає

сумніву також і відповідність дисертації спеціальності 03.00.02 – біофізика (фізико-математичні науки).

У вступній частині дисертації (анотація, вступ) дисертант чітко сформулював актуальність, мету і задачі роботи та дав короткий, але конкретний і змістовний виклад основних результатів, новизни та наукового і практичного значення роботи.

У першому розділі дано детальний і ґрунтовний аналіз сучасного стану досліджень біоколоїдних систем в умовах випаровування та плівкоутворення. Проаналізовано як застосовувані теоретичні підходи, так і численні експериментальні дослідження. Підкреслено важливість розгляду не тільки випаровування крапель на плоскій підкладці, але й в умовах, коли розчин заповнює кювету. Особливу увагу приділено аналізу текстур утворюваних плівок, зокрема, спробам кількісного аналізу утворюваних оптичних патернів. Докладно обговорено наявні відомості про вплив на ДНК і білки як неорганічних катіонів та аніонів, так і органічних сполук, а також іонізуючого випромінювання і температури. На основі висновків з наведеного аналізу літератури було сформульовано конкретні задачі досліджень дисертаційної роботи.

У другому розділі дисертації описано використані в роботі експериментальні методи (приготування вихідних розчинів, отримання плівок з використанням оригінальної сушильної установки, УФ-, ІЧ- та люмінесцентна спектроскопія, динамічне та електрофоретичне розсіювання світла, діелектрометрія тощо). Описано також методи кількісного аналізу зображень текстур, утворюваних при випаровуванні розчину. При цьому застосовано вдосконалене програмне забезпечення для аналізу сегментів зигзагоподібних структур, а також проведено чисельне моделювання процесу випаровування. В останньому випадку отримані дані узгоджуються з висунутим загальним припущенням, що площа утворюваних текстур на плівці залежить від локальної концентрації біополімеру, а тенденція до

утворення зигзагоподібних патернів переважає на ділянках з високою швидкістю висушування. Обґрунтовано використані методи визначення фрактальної розмірності текстур, а також розроблено чіткі процедури обчислення характеристик зигзагоподібних патернів з відповідним статистичним аналізом. Особливий інтерес викликає моделювання випаровування в квадратній кюветі, що, на мій погляд, може бути використано і при дослідженнях інших біоколоїдних (а також і інших колоїдних) систем. Дано також теоретичний опис процесів дифузії іонів і молекул в таких системах.

Основним змістом третього розділу було визначення впливу компонентів буферних розчинів (якими в цій роботі слугували т. зв. «Трис», тобто трис(гідроксиметил)амінометан, та ЕДТО – етилендіамінтетраоцтова кислота). На основі проведених експериментів було зроблено чіткі висновки про те, що, по-перше, органічні компоненти буферних розчинів Трис і ЕДТО перешкоджають формуванню текстур, що не дозволяє використовувати такі розчини для приготуванні плівок, а, по-друге, є певна специфіка дії іонів. Так, катіони натрію не є конче необхідними для формування Z-патернів і можуть бути замінені на катіони калію чи рубідію, тоді як при заміні аніонів хлору на аніони фтору чи бром утворення Z-патернів не спостерігається, і саме концентрація іонів хлору визначає середню довжину утворюваних сегментів. Отримані результати узгоджуються з уявленнями про те, що комплекси біополімер-вода-сіль визначають структуру плівок як в ділянках з текстурами, так і в ділянках без видимих текстур, і самі ці текстури відповідають неоднорідностям розподілу цих комплексів по поверхні підкладки внаслідок агрегації чи часткової кристалізації у пересиченому розчині.

Центральне місце в роботі займає четвертий розділ, в якому детально проаналізовано зміни стану ДНК і БСА на основі змін у кількісних характеристиках відповідних текстур внаслідок дії іонів Al^{3+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , іонів та наночастинок срібла, а також органічної сполуки ФМН

(флавінмононуклеотид). Особливий інтерес тут викликають результати, отримані з використанням різних форм срібла, враховуючи різноманітні прояви як терапевтичної, так і токсичної дії срібла в різних біомедичних застосуваннях. Констатовано руйнівний вплив срібла на структуру ДНК, що проявляється у зменшенні площі утворених текстур. Запропонований механізм припускає негативний вплив пошкоджених молекул ДНК, з відповідним послабленням їх здатності до формування патернів на плівці. Іони цинку і міді перешкоджають утворенню зигзагоподібних патернів, не впливаючи при цьому на інші типи формованих текстур. Показано негативний вплив на формування зигзагоподібних структур як агрегації молекул БСА, так і утворення продуктів гідролізу солей. З іншого боку, низькомолекулярні органічні сполуки не впливають на утворення зигзагоподібних патернів при концентраціях, що не перевищують певних критичних значень.

У п'ятому розділі автор розглядає зміни текстур плівок внаслідок денатурації, фрагментації та агрегації білка. При підвищенні температури від 60 до 90 °С спостерігається поступове зникнення зигзагоподібних патернів, що узгоджується з різними стадіями агрегації БСА та з тенденцією до загального збільшення розмірів агрегатів. Умови формування зигзагоподібних патернів також порушуються внаслідок дії іонізуючого випромінювання. В цілому, на основі результатів великої кількості конкретних експериментів, зроблено висновок, що часткове пошкодження біополімеру знижує ймовірність утворення Z-структур, а питома довжина та кількість сегментів зигзагів чутливі до особливостей структурного стану біополімерів.

Характеризуючи роботу в цілому, треба відзначити глибоке розуміння і творче застосування автором різноманітних експериментальних методів, з використанням оригінального обладнання, оптимально пристосованого до вирішення поставлених задач, а також вдале поєднання експериментальних підходів з числовими розрахунками. Особливо треба відзначити творчий

розвиток автором методів кількісної інтерпретації патернів, отримуваних методами оптичної мікроскопії. Отримані результати є відтворюваними, вони добре узгоджуються як між собою, так і з загальноприйнятими уявленнями біофізики, молекулярної фізики та фізики колоїдних систем, а також з результатами, отриманими іншими авторами на подібних системах. Це дозволяє вважати результати роботи цілком обґрунтованими, надійними і достовірними. Матеріал дисертації чітко і логічно викладений державною мовою, істотних зауважень до оформлення немає.

Не викликає сумнівів також і наукова новизна роботи. Низку важливих результатів було отримано вперше. Зокрема, вперше показано, що формування текстур на плівках, отримуваних випаровуванням водно-сольових розчинів ДНК та певних білків, пригнічується внаслідок дії різних хімічних та фізичних факторів, що призводять до пошкодження структури та агрегації біополімерів. Для детальних досліджень цих явищ вперше розроблено, обґрунтовано і застосовано програму кількісного аналізу параметрів зигзагоподібних патернів на плівках. Пріоритет автора чітко засвідчено в 7 публікаціях у фахових журналах, три з яких входять до Scopus та Web of Science. Результати роботи пройшли успішну апробацію на представницьких наукових конференціях, де вони завжди викликали значний інтерес колег і здобули високу оцінку наукової спільноти.

Певна річ, що така цікава і змістовна робота також викликає деякі питання і дає привід для певних зауважень.

1. В роботі не приділено достатньої уваги співставленню (порівняльному аналізу) змін, які виявляються в текстурах висушених плівок водно-сольових розчинів біополімерів під дією фізико-хімічних факторів, і змін структури цих біополімерів в нативних умовах, тобто, не цілком зрозуміло, наскільки досліджувані плівкові системи можуть вважатися дійсно адекватними моделями реальних біополімерів в середовищі живого організму.

2. В літературному огляді автор слушно дає посилання на відомі роботи з випаровування крапель біологічних рідин та колоїдних систем, зокрема, роботи школи Ю. Ю. Тарасевича. Проте наведений в розділі 2.2 опис експериментальної установки є, на мою думку, занадто стислим. Треба було б докладніше зупинитися на принципових відмінностях використаного методу в порівнянні з відомими роботами з випаровування крапель колоїдних розчинів.

3. Автор розглядає БСА (бичачий сироватковий альбумін) як типовий представник білкових молекул, який розглядається в роботі поряд з біомолекулою ДНК. Було б бажаним, по-перше, більш детально обґрунтувати цей вибір, а також навести результати для систем з іншими білковими молекулами – таке порівняння дало б можливість краще оцінити загальну значимість методу і можливості його широкої застосовності.

4. Поряд з катіонами натрію, калію та рубідію, було б бажаним також дослідити системи з іонами цезію, оскільки цей елемент є дуже важливим з точки зору екології (радіоактивний Cs-137 як наслідок Чорнобиля, а також використання цезію в промисловому виробництві лужно-галоїдних сцинтиляторів).

5. В розділі, присвяченому впливу гамма-опромінювання за допомогою установки «Дослідник», треба було б детальніше зупинитися на процедурі визначення експозиційної та ввібраної (поглинутої) дози в умовах конкретного експерименту.

Ці зауваження, безумовно, не є істотними і не знижують загальну високу оцінку роботи.

Дисертація Д. М. Глибицького виконана на високому науковому рівні, низку важливих результатів отримано вперше, сформульовані висновки є повною мірою обґрунтованими. Внесок цієї роботи в розвиток науки є значним як з точки зору фундаментальних питань біофізики, молекулярної фізики та фізики колоїдних систем, так і для потенційних практичних

застосувань – зокрема, для оцінки дії хімічних та фізичних чинників на структуру біополімерів. Д. М. Глибицький зарекомендував себе як визнаний фахівець високого рівня в галузі біофізичних досліджень.

Результати роботи можуть бути використані як в наукових установах, що займаються фундаментальними біофізичними дослідженнями, так і в установах, що працюють над практичними питаннями, пов'язаними з дією лікарських препаратів на біополімери, а також з розробками плівкових органічних матеріалів, отримуваних методами висушування (Інститут біоколоїдної хімії НАН України, м. Харків; Інститут фізики НАН України, м. Київ (відділ фізики біологічних систем); Інститут кріобіології та кріомедицини НАН України, м. Харків; Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна тощо).

Практичне значення дисертації полягає, зокрема, в тому, що отримані результати (зокрема, захищені патентом України) становлять підґрунтя для широкого застосування запропонованої методики для оптимізації складу лікарських препаратів за їхнім впливом на стан біополімерів.

Дисертація Глибицького Д. М. «Текстури плівок біополімерно-сольових систем: кількісний аналіз при фізичних і хімічних впливах», подана на здобуття наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук, повністю відповідає паспорту спеціальності 03.00.02 – біофізика (фізико-математичні науки). Вона є завершеною самостійною науково-дослідною роботою, в якій вперше отримані нові науково обґрунтовані результати, які в сукупності вирішують конкретну важливу і актуальну задачу сучасної біофізики – встановлення зв'язку між змінами стану біополімерів у водно-сольовому розчині під дією фізичних і хімічних факторів та змінами чисельних характеристик текстур на плівках.

Автореферат адекватно відображає зміст дисертації. Ознак плагіату не виявлено. Дисертація повністю задовольняє вимогам Порядку присудження наукових ступенів, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567, які висуваються до кандидатських дисертацій, а її автор – Глибицький Дмитро Михайлович – безумовно, заслуговує на присудження йому наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика (фізико-математичні науки).

Офіційний опонент

доктор фізико-математичних наук,
професор,
провідний науковий співробітник
відділу наноструктурних матеріалів
Інституту сцинтиляційних
матеріалів НАН України



Л. М. Лисецький

Підпис Л. М. Лисецького засвідчую:

Учений секретар ІСМА НАН України
к.т.н.



Ю. М. Дацько