

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию **Беликова Евгения Александровича** на тему «Атомное и электронное строение биогибридных материалов на основе бактериоферритина Dps», представленную на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности

1.3.8. Физика конденсированного состояния

Современная наука и технологии демонстрируют устойчивую тенденцию к расширению исследований в области новых функциональных материалов. Это продиктовано практикой поиска новых решений во всех областях практического применения таких материалов. С другой стороны, миниатюризация является одним из краеугольных камней достижения таких важных в технике и технологиях характеристик как время срабатывания и оптимальное энергопотребление. Металлические и металл-оксидные наночастицы не являются исключением. Наночастицы системы железо-кислород являются потенциально выгодными объектами микроэлектроники, в частности спинтроники, удачным выбором для реализации каталитических свойств, могут использоваться в диагностике и медицине. Наконец, биогибридные материалы здесь, представляющие собой интеграцию биологических и неорганических частей, например клеток или наноразмерных молекул белка, это новый, очень особый и перспективный случай применения микрообъектов живой природы для задач наукоемких технологий. В самом деле возможности унифицированного формирования наночастиц оксидов железа, минимально затратного и экологичного, с возможностью стабильного длительного хранения и точечного, адресного применения на практике определяет **актуальность** работы диссертанта, особенно с учетом того, что функциональные характеристики биогибридных материалов могут быть предварительно заданы и контролируемы на этапе синтеза. Для реализации таких возможностей безусловно нужны подробные исследования указанных объектов - биогибридных материалов содержащих, или даже формирующих,

наночастицы системы железо-кислород. Исследования, раскрывающие неизвестные к настоящему моменту морфологические свойства, атомное строение, особенности электронного спектра, состав и структуру биогибридных материалов на основе бактериоферритина Dps, включая установление возможности их применения для функционализации развитых поверхностей. Перечисленное составляет **новизну** материалов диссертации.

Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения и списка литературы. Работа представлена на 163 страницах, содержит 72 рисунка. Список литературы включает 144 источника, в том числе статьи диссертанта с результатами работы.

По диссертационной работе можно сделать вывод о том, что Беликов Е.А. провел углубленное изучение большого количества известных данных об исследуемых объектах. **Введение** диссертации содержит обоснование важности темы исследования, включает постановку цели и задач исследования, кратко раскрывает актуальность работы и формулирует основные положения, выносимые на защиту. Также во введении указывается, в чем заключается научная новизна и практическая польза полученных результатов. Приводятся сведения о публикациях автора и апробации работы.

Первая глава посвящена обзору литературных данных о биогибридных материалах на основе бактериоферритина Dps. В ней рассматриваются свойства биогибридных материалов, созданных с использованием белка Dps, а также биогибридных систем на основе бактерии кишечной палочки, известной как *Escherichia coli* (E.coli). Анализируются возможные области практического применения ферритин-содержащих наноструктур, то есть структур биологического происхождения, имеющих в своем составе частицы оксидов железа, и не только. Обоснованно и с примерами описываются современные методы их исследования. Завершается глава выводами по обзору литературы и формулировкой цели диссертационной работы.

Во второй главе представлена методическая информация о режимах формирования объектов исследования диссертации: молекул

бактериоферритина Dps с наночастицами оксидов железа, клеток E.coli как источника таких молекул, нитевидного кремния как модельного объекта с развитой поверхностью. Приводится достаточная информация об исследовательских методах работы: различных видах электронной микроскопии, спектроскопических методах (рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия, спектроскопия поглощения синхротронного рентгеновского излучения), новом методе фотоэмиссионной электронной микроскопии и других.

В третьей главе представлены результаты изучения атомной и электронной структуры биогибридных материалов, созданных на основе белковых молекул бактериоферритина Dps. Рассматриваются результаты формирования этих материалов и их морфологические характеристики. Проанализировано электронное строение, состав и структура полученных биогибридных материалов. Особое внимание уделено изучению атомного строения поверхности материалов на основе молекул белка Dps. Показан размер природных контейнеров для наночастиц – полых молекул белка бактериоферритина Dps, с «внешним» размером около 10 нм и внутренней полостью около 7 нм, способность молекул организовываться в одномерные слои. Продемонстрировано, что наночастицы оксидов железа могут достигать размеров внутренних полостей молекул. Методами рентгеноэлектронной спектроскопии, в том числе с применением синхротронного излучения, показано, что в составе наночастиц обнаруживаются ионы железа Fe^{2+} и Fe^{3+} в различной координации, которые под воздействием отжигов или ионной обработки могут быть восстановлены до Fe^0 .

Четвертая глава содержит результаты анализа морфологии, атомной и электронной структуры биогибридных материалов на базе клеток кишечной палочки E.coli как источника молекул белка бактериоферритина Dps и биогибридных структур на их основе. Изучение морфологии клеток E.coli совместно с применением рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии позволило автору показать, что при нахождении клеток в состоянии

суперпродукции белка возможно успешное многократное (без разрушения) использование бактерий (клеток) *E.coli* для получения молекул белка и гибридных объектов на его основе, в отличии от традиционного подхода, который основан на разрушении клеток. Эта возможность подтверждена точно, с использованием спектромикроскопического подхода синхротронного метода РЕЕМ. Показана устойчивость клеток *E.coli* к сверхвысокому вакууму, необходимому для рентгеноспектральных исследований методами XANES (в т.ч. РЕЕМ), и XPS, воздействию интенсивного электромагнитного излучения лабораторного и синхротронного источника излучения, высокого напряжения.

Изучив биогбридный объект «неорганическая наночастица – контейнер молекулы белка», его источник – клетку *E.coli*, автор, в **пятой главе**, переходит к демонстрации применения молекулярной культуры для функционализации развитых поверхностей, используя в качестве модели массивы нитевидного кремния. Изучение морфологии массивов нитевидного кремния после интеграции с белком бактериоферритина Dps методом растровой электронной микроскопии РЭМ показывают успешное проникновение и покрытие развитой поверхности нитей кремния вплоть до подложки, с подтверждением этого результата методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии XPS. Комбинация РЭМ и XPS показала влияние наличия остаточных солей раствора хранения белка на состав формирующегося покрытия и возможность удаления солей с сохранением белка, распределенного по поверхности нитей.

Основные результаты работы, обладающие **научной и практической значимостью**, заключаются в следующем:

- Состав неагломерирующих неорганических наночастиц с размерами 2-7 нм в биогбридных материалах (контейнерах – полых молекулах белка Dps), образован ионами железа в зарядовых состояниях Fe^{2+} и Fe^{3+} , которые могут быть восстановлены до металлического железа путем термообработки в водороде или посредством воздействия ионами аргона, а сами наноразмерные

молекулы белка бактериоферритина Dps способны формировать квазиупорядоченные одномолекулярные слои;

- Впервые исследованы клетки кишечной палочки E.coli в качестве многократно используемого источника белковых молекул Dps. Продемонстрировано, что молекулы бактериоферритина Dps, представляющие основу биогибридного материала с ионами железа в состояниях Fe^{2+} и Fe^{3+} , могут быть получены без разрушения клеток, путем многократного использования бактерий E.coli, находящихся в режиме суперпродукции белка. Клетки устойчивы к воздействию рентгеновского (синхротронного) излучения, после вакуумирования, а также приложения высокого напряжения;

- Впервые выявлена способность молекул белка Dps проникать в глубину трехмерной развитой поверхности массивов нитевидного кремния, что открывает перспективы функционализации всей высоты массива от подложки до верхней границы. Установлено влияние остаточных солей из буферной среды на физико-химические характеристики интегрированных структур с развитой поверхностью кремниевых нитей, а также продемонстрирована возможность эффективного удаления этих солей при сохранении белкового покрытия на поверхности нитей кремния;

Достоверность и обоснованность научных положений и выводов, **надежность** полученных результатов диссертационной работы обеспечивается использованием современного высокотехнологичного оборудования и передовых методик исследования, включая синхротронные методы анализа изучаемых объектов, подтверждается их воспроизводимостью, взаимным независимым согласованием данных различных методов исследования и корректной обработкой данных экспериментальных измерений, согласующимися с современными научными представлениями, а также оценками экспертов при рецензировании в научных журналах ВАК и индексируемых международными базами данных, в которых опубликованы статьи, содержащие основные результаты работы.

Замечания по диссертации:

1. Метод просвечивающей электронной микроскопии с микродифракцией электронов мог быть использован для изучения структур на основе клеток *E.coli* несмотря на их размер, подобные методики хорошо известны и развиты. Однако этого сделано не было.

2. ТЕМ изображения на рис. 3.2 (стр. 89) трудно сравнить по причине разного масштаба изображений.

3. Рис. 3.16 (стр. 108). Не до конца ясно, что мы изучаем после ионного травления? Размер молекулы бактериоферритина Dps, исходя из рис.3.5 (гранула плюс капсула) 10 нм, гранула оксида железа имеет минимальный показанный размер до 2 нм. Ионное травление, как указывается в работе, убирает за 30 минут 180 нм. Почему необходимо было удалить слой именно такой толщины? Не обсуждается механизм восстановления гранул, в чем он заключается? Это преимущественное удаления атомов кислорода при ионной бомбардировке наночастицы? Это разогрев частицы за счет ее малых размеров с последующим разложением оксида?

4. Утверждение на стр. 112 «Показало, что в процессе переноса образцов, отожженных в водороде, в камеру спектрометра происходит полное окисление железа. Последующее применение ионного травления удаляет оксидный слой, что подтверждает наличие структуры типа "ядро-оболочка" и выявляет внутреннюю неокисленную составляющую небольших кластеров, состоящих из атомов железа.» выглядит не очень убедительно. Размер гранул оксида железа несколько нм. Наночастицы были отожжены в водороде и восстановлены. В процессе переноса наночастицы, соприкасающиеся с воздушной средой окислились. А внутри должны оказаться неокисленные участки частицы. Ионами мы удалили верхние частицы, но как может произойти окисление на глубину 180 нм? Должны ли остаться неокисленные наночастицы перед ионным травлением? Их ли мы фиксируем на спектрах после отжига и ионного травления? Возможно ли то, что естественное окисление частиц менее устойчивое, чем окисел исходных образцов, и поэтому наблюдается сигнал от

неокисленных частиц. Непросто представить, что можно было бы распылить окисел с поверхности частиц оксида железа, даже в структуре "ядро-оболочка" при размере 2-3 нм ионным травлением, на глубину 180 нм, как утверждает автор.

5. В данной работе не хватает технологического перехода от биологического синтеза наночастиц оксида железа в клетках кишечной палочки и выделения белка как органического носителя частицы, к выделению частицы в свободном состоянии, без привязки к органическому носителю.

6. В главе 5 рассматривается покрытие нитевидного кремния молекулами белка Dps, но не биогибридными объектами, содержащими наночастицы оксида железа.

Сделанные замечания имеют рекомендательный и уточняющий характер, значимость диссертационной работы, которая выполнена на самом высоком научном уровне с применением современных исследовательских методов не вызывает сомнений, как и ценность полученных результатов для науки и практического применения.

Материалы работы прошли хорошую апробацию, полученные результаты отражены в 7 научных статьях в ведущих рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК для публикации результатов диссертационных работ (три из которых в журналах первого квартала Web of Science) и 38 тезисах, опубликованных в материалах конференций.

В качестве **заключения** необходимо отметить, что диссертация представляет собой законченную научно-исследовательскую работу, актуальность, новизна, практическая и теоретическая значимость которой, достоверность и надежность полученных результатов полностью соответствуют квалификационным требованиям "Положения о присуждении учёных степеней", утверждённого постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 года (со всеми последующими изменениями), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата физико-

математических наук по специальности 1.3.8 Физика конденсированного состояния.

Считаю, что соискатель Беликов Евгений Александрович заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.8. Физика конденсированного состояния.

Согласен на обработку моих персональных данных.

Официальный оппонент:

доктор физико-математических наук (01.04.10 – Физика конденсированного состояния), профессор

Федеральное государственное бюджетное

образовательное учреждение высшего образования

«Воронежский государственный технический университет»,

факультет радиотехники и электроники,

кафедра твердотельной электроники им. В.Г. Колесникова, профессор

Ситников Александр Викторович

28.11.2025 г.

Адрес места работы:

394026, г. Воронеж, Московский пр., 14, корп. 1, к. 229, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего

образования «Воронежский государственный технический университет»,

факультет радиотехники и электроники, кафедра твердотельной электроники

им. В.Г. Колесникова

тел.: +7(919)241-12-01, e-mail: sitnikov04@mail.ru

подпись сотрудника А.В. Ситникова удостоверяю

Ученый секретарь

совета университета



Рогова Наталия Владимировна