

УТВЕРЖДАЮ

Директор Института катализа СО РАН,
академик РАН,
д.х.н., профессор Бухтияров В.И.



[Handwritten signature]
» декабря 2025 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки

«Федеральный исследовательский центр «Институт катализа

им. Г.К. Борескова Сибирского отделения Российской академии наук»

на диссертационную работу Беликова Евгения Александровича на тему

«Атомное и электронное строение биогибридных материалов на основе бактериоферритина Dps», представленную на соискание учёной степени

кандидата физико-математических наук по специальности

1.3.8. Физика конденсированного состояния

Железосодержащие наночастицы представляют собой один из наиболее перспективных классов наноматериалов, привлекающих значительное внимание исследователей и практиков в различных областях науки и технологий. Уникальное сочетание магнитных, каталитических и биосовместимых свойств делает их незаменимыми в современной медицине для магнитно-резонансной томографии, адресной доставки лекарственных препаратов и гипертермической терапии опухолей. В микроэлектронике и спинтронике железосодержащие наноструктуры открывают новые возможности для создания устройств хранения и обработки информации сверхвысокой плотности. Кроме того, их применение в катализе, очистке воды от загрязнений и экологическом мониторинге существенно дополняет multifunctionality и широту практического использования этих материалов.

Разработка эффективных, воспроизводимых и экономически целесообразных методов получения, установления и контроля свойств железосодержащих наночастиц является одной из приоритетных задач современных научных областей, в том числе физики конденсированного состояния. Традиционные физические и химические методы синтеза часто сталкиваются с проблемами полидисперсности, сложности контроля размера и состава частиц, а также необходимости использования токсичных реагентов. В этой связи поиск альтернативных подходов, включая природоподобные технологии, основанные на использовании природных белковых матриц и биологических систем, становится крайне востребованным. Такие подходы обещают не только улучшение контроля и тонкого управления свойствами наночастиц, но и обеспечение экологической безопасности процесса их получения, что особенно важно для практического использования, например, в катализе, электронике и биомедицинских применениях. Комплексным исследованиям атомного и электронного строения биогибридных объектов молекул белка Dps с неорганической железосодержащей составляющей посвящена диссертационная работа Беликова Евгения Александровича, а сказанное выше составляет ее **актуальность**.

Общая характеристика работы

Диссертационная работа состоит из списка используемых сокращений, введения, пяти глав, заключения и перечня использованной литературы. Материал представлен на 163 страницах, включает 72 рисунка. Список литературы охватывает 144 наименования, среди которых присутствуют статьи с результатами выполненной работы.

Во введении к диссертационной работе представлено обоснование значимости темы исследования, определены и обоснованы цели, задачи и выбор объектов исследования. Приводятся положения, выносимые на защиту, научная новизна и практическая ценность достигнутых результатов. Приведена информация о публикациях и апробации работы.

В первой главе диссертационной работы содержится детальный обзор литературных данных, касающихся биогибридных структур, формируемых на

основе неорганических наночастиц и белковых молекул ферритина Dps, а также бактериальной культуры клеток кишечной палочки *Escherichia coli* (*E.coli*) в качестве биологического источника получения данных молекул. Рассмотрены структурные особенности и функциональные свойства белков семейства ферритинов, их природные функции, а именно формирование неорганических железосодержащих ядер во внутренней полости, что определяет перспективность их применения в создании наноразмерных биогибридных систем. Проанализированы существующие подходы к получению и характеристике таких структур, а также обсуждены их потенциальные области применения. Кроме того, в главе представлены основы используемых экспериментальных методов, включая просвечивающую (TEM) и сканирующую (SEM) электронную микроскопию, относительно новый перспективный метод фотоэмиссионной электронной спектроскопии (PEEM), а также поверхностно-чувствительные рентгеноэлектронные спектроскопические методы: синхротронная спектроскопия ближней тонкой структуры края рентгеновского поглощения (XANES) и рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия (XPS).

Вторая глава диссертационной работы является методической. Она посвящена подробному изложению методологии получения образцов белковых молекул ферритина Dps. Описаны процедуры выделения и очистки белка из бактериальной культуры клеток *E.coli*, условия формирования биогибридных структур с неорганическими наночастицами, а также способы подготовки образцов для последующих исследований. Далее систематически представлены параметры и условия применения экспериментальных методов исследования полученных образцов. Для каждого метода указаны режимы работы оборудования, условия проведения измерений и особенности пробоподготовки. В частности, определены параметры съемки для просвечивающей (TEM) и сканирующей (SEM) электронной микроскопии, условия измерений методом фотоэмиссионной электронной спектроскопии (PEEM), а также режимы регистра-

ции спектров методами XANES и XPS, обеспечивающие получение достоверной информации о структуре, атомном и электронном строении исследуемых биогибридных систем.

В третьей главе основное внимание уделяется результатам исследования размерных характеристик, морфологии, состава и локального атомного строения биогибридных материалов, полученных с использованием белковых молекул бактериоферритина Dps. Разработаны и усовершенствованы методики синтеза и пробоподготовки биогибридных материалов на основе молекулярной культуры белка Dps бактерий кишечной палочки *E.coli*, включая подготовку образцов для синхротронного рентгеноэлектронного эксперимента. Впервые с применением метода криоэлектронной микроскопии высокого разрешения без использования контрастирования экспериментально установлено, что в нативном состоянии природный контейнер неорганических наночастиц представляет собой молекулу белка Dps с внешними размерами до 10 нм и диаметром внутренней полости до 7 нм. Обнаружено, что неорганические наночастицы, локализованные внутри полый части молекул и не превышающие по размерам ее внутренний диаметр, не подвергаются агрегации. Установлено, что в нативном состоянии молекулы белка Dps способны формировать квазиупорядоченные слои толщиной в одну молекулу. Продемонстрировано, что ионы железа в различных зарядовых состояниях Fe^{2+} и Fe^{3+} формируют сложный состав неорганических наночастиц биогибридных материалов, при этом выявлена возможность восстановления ионов железа до металлического состояния посредством термической обработки в водороде и/или ионной бомбардировки.

Четвертая глава посвящена результатам исследования клеток *E.coli* в качестве источника молекулярной культуры белка бактериоферритина Dps, которая может служить основой для формирования биогибридных материалов. Впервые показана применимость химически селективного метода фотоэмиссионной электронной спектроскопии (PEEM) для высоко-разрешающих исследований природных биогибридных материалов на основе клеточных культур *E.coli* при ис-

пользовании высокопроизводительного источника лабораторного или синхротронного излучения, что обеспечило получение синхротронных рентгеноспектральных характеристик поверхности (мембраны) индивидуальной клетки. Обнаружено, что вакуумная обработка биогибридных материалов, продолжительное облучение высокоинтенсивным электромагнитным излучением, в том числе синхротронным с потоком до 10^{12} фот./сек на протяжении до 10 часов, и приложение высокого напряжения до 12 кВ в зоне концентрации клеточного материала не приводят к значительным изменениям морфологии бактерий и, соответственно, физико-химических характеристик исследуемых образцов. Определено, что биогибридный материал на основе клетки кишечной палочки, являющейся источником молекул белка Dps, содержит ионы железа в различных зарядовых состояниях Fe^{3+} и Fe^{2+} , причём жизнеспособная клетка может многократно служить источником биогибридного материала без потери структурной целостности.

Пятая глава посвящена исследованию процесса интеграции белковых молекул бактериоферритина Dps с развитой поверхностью массивов нитевидного кремния. Продемонстрирована успешная интеграция белковых молекул бактериоферритина Dps с развитой поверхностью массивов нитей кремния. С применением комплекса методов рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (XPS) и растровой электронной микроскопии (SEM) установлено, что белок Dps из *E.coli* способен эффективно заполнять субмикронные межнитевые пространства в кремниевых структурах, образуя равномерное покрытие на их поверхности. Выявлена зависимость характера заполнения пор от морфологических особенностей исходных массивов нитевидного кремния. Совокупность полученных экспериментальных данных закладывает фундамент для создания технологий контролируемой функционализации развитых поверхностей, например кремниевых наноструктур с использованием белковых молекул ферритина. Разработанный подход обеспечивает возможность применения таких систем в качестве наноконтейнеров для целевой доставки веществ и формирования гибридных нанобиоматериалов, пер-

спективных для биомедицинских и биотехнологических применений, иных способов целевой практической реализации перспективного функционального материала.

Заключение и выводы из работы дают основные полученные научные результаты.

Научная новизна полученных результатов состоит в следующем:

- Разработаны универсальные методики подготовки биологических образцов для синхротронных исследований в условиях сверхвысокого вакуума, основанные на осаждении наноразмерных частиц из исходных растворов на предварительно очищенные и подготовленные подложки и структуры нитевидного кремния;

- С помощью просвечивающей электронной микроскопии, включая криоэлектронную микроскопию, определены размерные параметры белковых наноконтейнеров бактериоферритина Dps и характеристики неорганических железосодержащих ядер в их составе;

- Посредством растровой и фотоэмиссионной электронной микроскопии доказана возможность получения белка Dps из клеток E.coli в режиме его суперпродукции и успешной интеграции данного белкового материала с трехмерной развитой поверхностью кремниевых наноструктур;

- Показана эффективность применения сверхвысоковакуумных рентгеноспектральных методов эмиссии (XPS) и поглощения (XANES), включая использование синхротронных источников, для детального изучения состава, структуры, атомного и электронного строения биологических и гибридных материалов на основе белка Dps и клеток E.coli;

- Проведено моделирование тонкой структуры электронных спектров свободных электронных состояний (синхротронные спектры XANES) биогибридных материалов, которое выявило формирование наночастиц с атомами железа в различных зарядовых состояниях Fe^{3+} и Fe^{2+} и координации;

- Исследовано атомное строение биогибридных материалов на основе молекул белка Dps и клеток E.coli методом фотоэлектронной спектроскопии в эффективной комбинации с ионным удалением нанослоев поверхности;

- Продемонстрирована применимость метода фотоэмиссионной электронной микроскопии (PEEM) для изучения биогибридных материалов с использованием лабораторного и синхротронного источника электромагнитного излучения, получены химически селективные синхротронные данные об атомном и электронном строении поверхности отдельной клетки E.coli как источника биогибридного молекулярного материала.

Научная и практическая значимость диссертационной работы

Научная ценность проведенного комплексного исследования заключается в формировании, систематизации и упорядочении принципиально новых представлений о физических характеристиках перспективных функциональных материалов и наноразмерных структур. Эти структуры созданы на базе неорганических наночастиц, «упакованных» в естественные биологические оболочки – белковые молекулы бактериоферритина Dps, выделенные из бактериальных клеток E.coli. Особое внимание уделено изучению их фундаментальных физических свойств, включая морфологические характеристики, структуру, состав, особенности расположения атомов в ближайшем окружении и электронное строение.

Практическая ценность исследования определяется возможностью применения полученных результатов для стабильного, управляемого и контролируемого синтеза наночастиц с установленными характеристиками. Речь идет о создании наноструктур с контролируруемыми параметрами: определенными геометрическими размерами, составом, особенностями атомной организации и электронной структуры. Такие наночастицы пригодны для продолжительного хранения, структурных преобразований или целенаправленного применения с минимальными экономическими затратами и экологической безопасностью. Области их потенциального использования охватывают микроэлектронную промышленность и спинтронные технологии, медицинскую сферу,

целевую транспортировку для модификации высокоразвитых поверхностей и другие направления.

Достоверность и научная обоснованность полученных результатов обеспечивается использованием передовых взаимодополняющих методов исследования образцов. К ним относятся: просвечивающая электронная микроскопия, включая крио-электронную микроскопию; растровая электронная микроскопия; спектроскопия тонкой структуры вблизи края рентгеновского поглощения, рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия; фотоэмиссионная электронная микроскопия и другие методы. Достоверность полученных результатов подтверждается систематической воспроизводимостью всех полученных данных исследований при многократной экспериментальной проверке. В работе детально представлены методики подготовки образцов, характеристики используемого оборудования обоснованные процедуры и подходы к проведению экспериментов. Интерпретация данных базируется на признанных физических концепциях. Сформулированные научные положения и выводы логически обоснованы и соответствуют современным научным представлениям.

Апробация диссертационной работы

Представленные в научной работе выводы получили тщательное обоснование и солидную апробацию. Результаты были представлены научному сообществу на многочисленных международных и всероссийских конференциях, в том числе междисциплинарных. Опубликовано 38 тезисов докладов по материалам конференций. Диссертантом подготовлено 7 научных публикаций, содержащих основные материалы диссертации в журналах, прошедших рецензирование и включенных в международные базы данных Scopus и Web of Science, которые также входят в перечень ВАК.

Замечания по диссертации

1. В работе не указано в какой форме использовалась соль Мора для регистрации спектров XANES и почему.
2. В работе не отображены модельные спектры XANES с учетом данных о FeO(OH) и соли Мора.

3. В главах 3 и 4 дается интерпретация фотоэлектронных спектров без их разложения на компоненты, что позволило бы более детально уточнить состав изученных объектов.

4. Данные электронной микроскопии в 4 главе без обоснования даны в разных масштабах (с различным увеличением).

5. В завершении главы 1 (литературный обзор) поставлена цель диссертации, однако задачи не отражены. Задачи, однако, приведены во введении к работе.

6. Работа содержит опечатки, некорректные или слишком общие формулировки, небрежности и неточности, ряд изображений электронной микроскопии низкого качества.

Однако, следует отметить, что сделанные замечания не носят принципиальный характер, а являются уточняющими или рекомендательными к работе и не снижают научной и практической ценности диссертации Е.А. Беликова, которая выполнена на высоком научном уровне и представляет собой законченное научное исследование. Результаты работы позволяют судить о том, что поставленная цель была достигнута, а все задачи – выполнены. Автореферат к диссертационной работе выполнен в соответствии с требованиями ВАК и в полной мере отражает ее актуальность, новизну и основное содержание.

Заключение

Диссертация Беликова Евгения Александровича «Атомное и электронное строение биогибридных материалов на основе бактериоферритина Dps» представляет собой законченную научно-исследовательскую работу, выполненную на высоком научном уровне.

Диссертация Е.А. Беликова соответствует паспорту специальности 1.3.8 Физика конденсированного состояния.

На основании вышеизложенного можно заключить, что диссертация Беликова Евгения Александровича «Атомное и электронное строение биогибридных материалов на основе бактериоферритина Dps» полностью отвечает критериям "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.

Автор диссертационной работы Беликов Евгений Александрович заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.8. Физика конденсированного состояния.

Научный доклад по диссертации Беликова Евгения Александровича «Атомное и электронное строение биогибридных материалов на основе бактериоферритина Dps» и отзыв на диссертацию были заслушаны и обсуждены на семинаре отдела физико-химических исследований на атомно-молекулярном уровне ИК СО РАН 12 декабря 2025. Отзыв ведущей организации на диссертационную работу Беликова Евгения Александровича утвержден на заседании Ученого совета ИК СО РАН 12 декабря 2025 (протокол № 15).

Отзыв составил:

доктор химических наук (1.4.14 – Кинетика и катализ),
ведущий научный сотрудник,
ГНЦ ФГБУН «Федеральный исследовательский центр
«Институт катализа им. Г.К. Борескова
Сибирского отделения Российской академии наук»
телефон: +7 (383) 326-97-74
e-mail: avb@catalysis.ru

Бухтияров Андрей Валерьевич
«12» декабря 2025 г.

Контактные данные:

630090, г. Новосибирск, пр-т Академика Лаврентьева, д. 5,
ГНЦ ФГБУН «Федеральный исследовательский центр
«Институт катализа им. Г.К. Борескова
Сибирского отделения Российской академии наук»
тел.: +7 (383) 330-67-71
e-mail: bic@catalysis.ru

Подпись Бухтиярова А.В. заверяю

Учёный секретарь ИК СО РАН, к.х.н.
Должность и место работы лица, заверяющего сведения

Подпись