

## Відгук

офіційного опонента на дисертаційну роботу Декалюк Марії Олегівни «Нові нановуглецеві флуорофори: синтез, оптичні властивості та їх взаємодія з клітинами», що представлена на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія

Стрімкий розвиток нанобіотехнологій може стати визначальним кроком людства на шляху до створення нових методів та препаратів для лікування різноманітних захворювань, а нові можливості в медицині, які стануть доступними за допомогою розвинутих нанотехнологій, простягаються від діагностики організму людини до реальних засобів цільової доставки ліків та практичної терапії. Зокрема, створення наноліків дозволить проводити більш специфічну терапію і забезпечити місцеву дію, що збільшить ефективність лікування та знизить побічні ефекти. Тому розробка нових наноматеріалів для застосувань в системах доставки ліків стає останнім часом дедалі більш затребуваним напрямком завдяки унікальним оптичним, електронним, хімічним і механічним властивостям цих матеріалів.

Зважаючи на це, розробка нових нанорозмірних вуглецевих структур (вуглецевих наноточок) для застосування в нанобіотехнології, які б мали бажані унікальні структурні та оптичні властивості, є дуже перспективним напрямком. Актуальною проблемою залишається оптимізація процесів синтезу нанорозмірних часток та запобігання їх цитотоксичного впливу на живі об'єкти. Важливим аспектом також є надання додаткових корисних властивостей наночасткам, наприклад здатності до стабільної флуоресценції. Вирішення цих питань дозволило б більш широке їх використання у сучасних біологічних, медичних та екологічних напрямках досліджень. Автором дисертаційної роботи здійснено синтез нового класу вуглецевих наноматеріалів, так званих вуглецевих точок, та запропоновано їх застосування для клітинної візуалізації.



Тому, дисертаційна робота, метою якої було створення, ґрунтовне дослідження та визначення напрямків застосування нового типу вуглецевих флуорофорів, як сенсорних елементів для клітинних досліджень, є **безумовно актуальною**.

У ході виконання роботи дисертантом було розроблено кілька підходів до синтезу флуоресцентних вуглецевих наночасток, проведено детальне дослідження їхніх структурних особливостей. Значна увага була приділена встановленню флуоресцентних параметрів та дослідженню можливостей їх зміни.

Дисертаційна робота Декалюк М.О. побудована за класичною схемою, вона складається зі вступу, розділів «Огляд літератури», «Матеріали та методи досліджень», «Результати досліджень», «Обговорення результатів», Висновків та Переліку використаних джерел, який включає 154 найменування. Дисертаційну роботу викладено на 128 сторінках машинописного тексту та проілюстровано 46 рисунками та 4 таблицями.

Вступ містить обґрунтування актуальності роботи, постановку мети та завдань дослідження, наведено об'єкт та предмет досліджень, сформульовано наукову новизну та практичне значення отриманих результатів, відмічено особистий внесок здобувача.

У розділі «Огляд літератури» розглянуто загальну характеристику відомих вуглецевих наноматеріалів, які широко використовуються у сучасних біологічних та фізико-хімічних дослідженнях. Обговорюються основні підходи до створення нановуглецевих структур та оцінки можливостей їх подальшого застосування.

Експериментальна робота Декалюк М.О виконана з застосуванням сучасних методів досліджень, таких як спектрофлуорометрія, різноманітні види мікроскопії (атомно-силова, трансмісійна, конфокальна, високої роздільної здатності), культура клітин, протокова цитофлуорометрія, які представлені у розділі «Матеріали та методи». Це дає підставу стверджувати, що одержані

експериментальні дані є достовірними та виконані на високому сучасному рівні.

Наукова новизна результатів дисертаційної роботи полягає в наступному. Дисертантом розроблено нові методи синтезу вуглецевих наноточок, які демонструють особливі флуоресцентні властивості. Проведено дослідження для встановлення спектроскопічних характеристик наноматеріалу та оцінено можливість варіації параметрів флуоресценції. Вперше було встановлено флуоресцентні властивості вуглецевих точок на рівні індивідуальних часток та проведено порівняльний аналіз з їхніми властивостями у водному розчині. Виявлені у цій роботі оптичні та структурні характеристики наночасток створили підґрунтя для розробки методів їх ефективного використання у біотехнології.

У ході експериментальної роботи автором детально досліджено вплив наночасток на живі клітини (HeLa, Vero) в культурі *in vitro*. З цією метою було застосовано декілька сучасних підходів до встановлення цитотоксичного ефекту, а саме колориметричний МТТ тест та метод цитофлуориметрії з флуоресцентним міченням клітин. Встановлено, що навіть за високих концентрацій вуглецевих наноточок у клітинному середовищі, ці наночастки є малотоксичними та не спричиняють розвитку апоптозу клітин.

Ґрунтуючись на вище відміченому, дисертантом було запропоновано та продемонстровано можливість використання вуглецевих наночасток як сенсорних елементів для клітинних досліджень. А саме, здійснено розробку методу флуоресцентного виявлення апоптичних клітин із застосуванням техніки цитометрії, флуориметрії та мікроскопії. Також розроблено новий метод контрастування клітин у мікроскопії високої роздільної здатності за допомогою вуглецевих наноточок.

Практичне значення проведених досліджень перш за все полягає в отриманні фундаментальних знань стосовно нового класу вуглецевих наноматеріалів. Ідеї та підходи, розвинуті у дисертаційній роботі, можуть активно використовуватись як методична основа застосування вуглецевих

точок як економічно та екологічно вигідних аналогів комерційних органічних барвників та неорганічних квантових точок.

Результати дисертаційної роботи добре висвітлені у 6 наукових статтях в міжнародних журналах з високим імпаکت індексом та були представлені на 11 міжнародних конференціях. Актуальність роботи ще раз підтверджується великою кількістю цитувань наукових робіт дисертанта. Висновки роботи є аргументованими та логічно витікають з отриманих автором результатів. Автореферат дисертації відповідає її змісту. Все це свідчить про те, що робота заслуговує схвалення та підтримки.

Але, не зважаючи на загальне позитивне враження від роботи, до дисертанта є низка питань та зауважень, які представлені за розділами дисертації:

### **ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ**

1. Одним із аргументів на користь використання карбонових точок, як флуорофорів, є їхня ціна. Тому цікаво було б представити в огляді хоча б приблизну порівняльну ціну різних матеріалів, які використовуються як флуорофори.

### **МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ**

1. Не представлено інформації відносно того, як проводилась статистична обробка даних.

### **РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ**

1. З чим пов'язані випадкові зсуви спектрів індивідуальних карбонових наноточок?
2. Чи порівнювали проникнення в клітину вільних CNDs та в складі ліпосом? Чи відрізняється проникнення? Якщо так, то як?
3. В підрозділі 3.3.2.1, де досліджували цитотоксичність карбонових наноточок, автори використовували контроль з клітинами без добавок, як негативний, а клітини з добавкою актиноміцину Д, як негативний. Мені здається, що правильніше було б навпаки.

4. Чи доказано чітко механізм проникнення CNDs в інтактні клітини, а саме за допомогою ендоцитозу?
5. Деякі рисунки, наприклад 3.34, 3.35, 3.36 та ін., не описані детально, що ускладнює сприйняття матеріалу.
6. Чи може метод SOFI використовуватись для обробки зображень, отриманих з органічними барвниками?

### **ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ**

1. Обговорення особистих результатів автора проведено якісно, без використання кількісних характеристик, та без порівняння з результатами інших авторів. Хоча, необхідно відмітити, в розділі РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ таке порівняння з результатами інших авторів було проведено.

### **ВИСНОВКИ**

1. Висновки 1 і 4 сформульовано не зовсім вдало, вони не містять конкретики.
2. Висновок 5 сформульовано занадто узагальнено. Результати по цитотоксичності наноматеріалів, отримані всього на двох клітинних лініях, переносяться на всі клітини та організм взагалі.

### **СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ**

1. Автор посилається на 154 джерела літератури, з яких жодного посилання на україномовні публікації. Про що це свідчить? Про низьку активність українських науковців в даній галузі? Чому?
2. Назви журналів в переліку публікацій повинні бути представлені з загальноприйнятими скороченнями, або без скорочень. Кожне слово в назві англomовного журналу повинно починатися з великої літери.

Зроблені зауваження та рекомендації стосуються, в основному, покращення викладення матеріалу, не носять принципового характеру та не знецінюють якість виконаної роботи. Значна кількість і якість отриманих експериментальних даних свідчать про високий рівень дисертаційної роботи та

ефективність використаних методів. Висновки, зроблені дисертантом, повністю базуються на експериментальному матеріалі і є достатньо обґрунтованими.

Висновок по дисертації: Дисертаційна робота «Нові нановуглецеві флуорофори: синтез, оптичні властивості та їх взаємодія з клітинами», що представлена на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія», є завершеним науковим дослідженням. Дисертанту вдалося повністю виконати всі поставлені завдання. За актуальністю, науковою новизною, обґрунтованістю висновків дисертаційна робота Декалюк Марії Олегівни відповідає п.12 «Положення про присудження наукових ступенів і присвоєння вчених звань» та вимогам ВАК України стосовно кандидатських дисертацій за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія, а її автор, без сумніву, заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук.

Завідувач лабораторії біомолекулярної електроніки



Інституту молекулярної біології та генетики НАН України,  
Доктор біол. наук, проф., чл.-кор. НАН України

Солдаткін О.П.

Підпис Солдаткін О.П.  
посвідчується  
Зав.каб. І. Мокриць