

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по науке и инновациям  
НИТУ МИСИС,  
профессор,  
доктор технических наук

М.Р. Филонов



« 20 » июня 2023 г.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС» по диссертационной работе А.В. Ивановой «Синтез и применение наночастиц сложных оксидов железа в исследовании клеточных структур методом просвечивающей электронной микроскопии», представляемой на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 2.6.6. – Нанотехнологии и наноматериалы

Диссертационная работа «Синтез и применение наночастиц сложных оксидов железа в исследовании клеточных структур методом просвечивающей электронной микроскопии» выполнена в лаборатории «Биомедицинские наноматериалы» Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС» (далее НИТУ МИСИС).

В 2019 году Иванова Анна Валерьевна закончила Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «МИРЭА-Российский технологический университет», где получила степень магистра по направлению 04.04.01-Химия. С 01.09.19 по 31.08.2023 обучалась в очной аспирантуре Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС» по специальности 2.6.17 - материаловедение. Диплом (№ 107704 0412348), подтверждающий успешное освоение программы подготовки научно-педагогических кадров высшей

квалификации в аспирантуре по направлению 22.06.01 – Технологии материалов, выдан 30 июня 2023 года решением государственной экзаменационной комиссии НИТУ МИСИС.

**Научные руководители:** доцент, кандидат химических наук, заведующий лабораторией «Биомедицинские наноматериалы» Абакумов Максим Артемович.

Тема диссертационного исследования, научный руководитель утверждены на заседании Ученого совета ИНМиН НИТУ МИСИС (протокол от 26.09.2019 г. № 6-19).

**Рецензенты:** Инженер научного проекта 1 категории лаборатории «Биомедицинские наноматериалы», к.б.н. Гаранина Анастасия Сергеевна.

**В обсуждении участвовали:**

зав. каф. физ. матер., к.ф.-м.н. Савченко Александр Григорьевич

доцент, к.ф.-м.н. Перминов Александр Сергеевич

профессор, д.ф.-м.н. Лилеев Алексей Сергеевич

доцент, к.ф.-м.н. Введенский Вадим Юрьевич

доцент, к.х.н. Абакумов Максим Артемович

доцент, к.ф.-м.н. Шуваева Евгения Александровна

доцент, к.т.н. Горшенков Михаил Владимирович

студент Михеев Владислав Сергеевич

**По докладу были заданы следующие вопросы:**

*доцент, к.ф.-м.н. Перминов А.С.* Почему выбрали в качестве основного модифицирующего агента для покрытия наночастиц 3,4-догидроксифениуксусную кислоту? Как регулировали загрузку красителя Су5? По какому механизму была произведена загрузка полиэтиленгликоля? Почему был выбран такой метод присоединения?

*зав. каф. физ. матер., к.ф.-м.н. Савченко А.Г.* Почему в работе были выбраны наночастицы сложных оксидов железа? Почему не использовали наночастицы Ag, Au, Pt? Почему наночастицы в дибензиловом эфире получают нестехиометрического состава?

*доцент, к.т.н., Горшенков М.В.* Почему в работе были выбраны клетки рака

предстательной железы РСЗ? В какой области и для каких целей будете использовать полученные высокоспецифичные зонды? Как получали ультратонкие срезы клеточных образцов? Почему в качестве мишеней были выбраны внутриклеточные структуры, такие как митохондрии?

Докладчик дала исчерпывающие ответы на все вопросы.

**Выступали:** инженер 1 кат. научного проекта, к.б.н. Гаранина А.С.-рецензент (Отзыв положительный): Отметила высокий научный уровень представленной работы и её **полное соответствие** требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям. При этом отмеченные ею некоторые стилистические погрешности в тексте диссертационной работы и автореферата не влияют на общее положительное впечатление от работы. Рекомендую работу Ивановой А.В. к защите по специальности 2.6.6 - Нанотехнологии и наноматериалы на соискание ученой степени кандидата химических наук.

**Актуальность проблемы.** Исследование распределения и взаимодействия биомолекул (белков, ДНК, РНК, и др.) между собой в клетке для различных биохимических применений является актуальной задачей, не решенной в полной мере до сих пор. Традиционными методами локализации биомолекул являются методы флуоресцентной и конфокальной микроскопии, разрешающая способность которых ограничена дифракционным пределом и не превышает 200-300 нм. Развитие методов конфокальной микроскопии сверхвысокого разрешения привело к возможности получать изображения объекта с улучшенным разрешением до 20-50 нм, однако даже такое разрешение не позволяет визуализировать большинство биомолекул, размер которых составляет от 1 до 20 нм. Получать изображения с разрешением меньше дифракционного предела световой микроскопии стало возможным с появлением ЭМ. В данной работе впервые предполагается использование метода ПЭМ ЭДСР для визуализации, биомолекул с использованием МАТ, маркированных МНЧ сложных оксидов железа. Связывание МАТ с белковыми антигенами позволит избирательно доставлять МНЧ, содержащие в кристаллической решетке катионы металлов, к исследуемой мишени, тогда как энергодисперсионный анализ позволит

установить их локализацию с точностью до нескольких нм, таким образом, обеспечивая эффективную визуализацию связывания МАТ с белковым антигеном с разрешением, превышающим дифракционный предел световой микроскопии. Разрешающая способность ЭМ позволит проводить визуализацию белковых антигенов в составе клеточных структур с разрешением до нескольких нанометров, тогда как уникальные энергодисперсионные спектры различных металлов, входящих в состав индивидуальных МНЧ позволят осуществлять параллельный анализ нескольких антигенов.

**Цель и задачи работы.** Цель работы – создание конъюгатов МНЧ, на основе сложных оксидов железа с различными двухвалентными катионами металлов, с МАТ для визуализации белковых молекул в клеточных структурах методом ПЭМ. Для достижения поставленной цели, были сформулированы и решены следующие задачи:

1. Разработать методики синтеза МНЧ сложных оксидов железа, таких как  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  с размером менее 20 нм, с элементным соотношением катионов металлов  $\text{Mn}^{2+}, \text{Co}^{2+}, \text{Zn}^{2+}:\text{Fe}^{3+}$  максимально приближенным к 1:2;
2. Разработать функциональные покрытия, позволяющие получать стабильные коллоидные суспензии МНЧ, несущих функциональные группы для модификации с МАТ;
3. Исследовать иммунохимическую активность МАТ после конъюгации с модифицированными МНЧ  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , МНЧ  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$ , МНЧ  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ , МНЧ  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ ;
4. Показать возможность визуализации биомолекул в клеточных структурах с использованием конъюгатов МНЧ с МАТ методом ПЭМ.

**Научная новизна.** Была разработана оригинальная методика синтеза МНЧ  $\text{MFe}_2\text{O}_4$  ( $\text{M}=\text{Mn}, \text{Co}, \text{Zn}$ ) в БС, а также исследовано влияние БС и ДБЭ совместно с ОК на элементный состав получаемых МНЧ. Показано, что использование молекул ДФУК и ПЭГ-СООН для функционализации поверхности МНЧ дает возможность получать стабильные водные коллоидные растворы МНЧ, позволяющие провести конъюгацию с МАТ с сохранением их иммунохимической

активности. Показано, что конъюгаты МНЧ с МАТ способны связываться с белковыми антигенами в клеточных компартментах и могут быть визуализированы методом ПЭМ. Кроме того, впервые был проведен ЭДСР анализ в тандеме с СПЭМ HAADF, который позволил обнаружить с высоким разрешением единичные МНЧ  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ , связанные с белковым антигеном, презентированным в митохондриях, и удалось достоверно идентифицировать катионный состав таких МНЧ.

**Личный вклад автора.** Представленные в работе данные получены лично автором. Вся синтетическая часть работы, ключевые физико-химические исследования, культуральная работа, а также пробоподготовка, получение и исследование ультратонких срезов на ПЭМ была проведена лично автором. Автор лично сформулировал цель и задачи работы, проанализировал весь массив полученных данных, на основании которых сделал соответствующие заключения и соответствующие выводы по проделанной работе.

**Степень достоверности и апробации работы.** Степень достоверности представленных количественных данных определяется инструментальной погрешностью использованного аналитического оборудования и статистической обработкой полученных результатов.

Результаты работы были представлены в виде устных и стендовых докладов на всероссийских и международных научных конференциях, в числе которых: VII Троицкая конференция с международным участием "Медицинская физика" (ТКМФ-7) (Троицк, Россия, 2020); Международный молодежный научный форум «Ломоносов-2020» (Москва, Россия, 2020); Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2021» (Москва, Россия, 2021); XXIV Международная научная конференция «Новое в магнетизме и магнитных материалах» (Москва, Россия, 2021); Современные тенденции развития функциональных материалов (Сочи, Федеральная территория «Сириус», Россия, 2021); Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2022» (Москва, Россия, 2022); IX Всероссийская научная школа-конференция «Химия, физика, биология: пути интеграции»

(Москва, Россия, 2022); Современные тенденции развития функциональных материалов. (Сочи, Федеральная территория «Сириус», Россия, 2022); Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2023» (Москва, Россия, 2023).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликована 16 печатных работ, в числе которых 1 статья в издании из перечня ВАК, 3 статьи входящие в базы данных научного цитирования Scopus/Web of science, 10 тезисов докладов всероссийских и международных научных конференций, 1 ноу-хау, 1 патент на изобретение.

#### **Публикации в научных изданиях, индексируемых в базе данных РИНЦ**

1. **Иванова А.В.** Исследование гидродинамических параметров коллоидов наночастиц методом динамического светорассеяния/ **А.В. Иванова**, А.А. Никитин, М.А. Абакумов // Известия Российской академии наук. Серия физическая. – 2020. – Т.84, №11. – С. 1580-1586.

#### **Публикации в научных изданиях, индексируемых в базах данных Scopus/Web of Science**

1. Synthesis and intensive analysis of antibody labeled single core magnetic nanoparticles for targeted delivery to the cell membrane. / **A.V Ivanova**, A.A. Nikitin, A.N. Gabashvily, D.A. Vishnevskiy, M.A. Abakumov // Journal of Magnetism and Magnetic Materials. – 2021. – P. 1-40.

2. 3,4-Dihydroxyphenylacetic acid-based universal coating technique for magnetic nanoparticles stabilization for biomedical applications / A. Semkina, A. Nikitin, **A. Ivanova**, N. Chmelyuk, N. Sviridenkova, P. Lazareva, M. Abakumov // Journal of Functional Biomaterials. – 2023. – Vol. 14(9). – P. 461.

3. Thermal decomposition of acetylacetonates for highly reproducible synthesis of M-ferrite (Mn, Co and Zn) nanoparticles with tunable magnetic properties. / **A.V Ivanova**, E.V. Ivanova, A.A. Nikitin, V.M. Cherepanov, M.A. Abakumov // Journal of Alloys and Compounds, (в печати).

#### **Публикации в сборниках материалов и тезисов научных конференций**

1. Визуализация макромолекул методом просвечивающей электронной микроскопии высокого разрешения, комбинированной с элементным анализом / **Иванова А.В.**, Никитина А.А., Габашвили А.Н., Абакумов М.А. // VII Троицкая конференция с международным участием "Медицинская физика" (ТКМФ-7) : сборник тезисов / ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). – Москва, 2020. – С. 132–133.

2. Синтез и применение наночастиц сложных оксидов железа для визуализации клеточных структур / **Иванова А.В.**, Никитин А.А., Габашвили А.Н., Абакумов М.А // «Ломоносов - 2021», секция «Химия»: материалы

международного молодежного научного форума / отв. ред. Дзубан А.В., Коваленко Н.А. – М. – М.: Издательство «Перо», 2021 – С. 1164.

3. Синтез наночастиц ферритов кобальта и марганца для применения в биологии и медицине / Зайчатникова К.И., Кононова А.Н., **Иванова А.В.**, Никитин А.А., Абакумов М.А. // «Ломоносов - 2020»: материалы международного молодежного научного форума / отв. Ред. И.А. Алешковский, А.В. Андриянов, Е.А. Антипов. – М. :МАКС Пресс, 2020 – 1 электрон. опт. диск (DVD-ROM); 12 см. – ISBN 978-5-317-06519-5.

4. Синтез наночастиц феррита марганца для применения в биологии и медицине / **Иванова А.В.**, Кононова А.Н., Абакумов М.А. // XXIV Международная научная конференция Новое в магнетизме и магнитных материалах: сборник докладов / МИРЭА - Российский технологический университет. – Москва, 2021. – С. 675–678.

5. Синтез и применение наночастиц сложных оксидов железа для визуализации клеточных структур в сверхвысоком разрешении / **Иванова А.В.** // Современные тенденции развития функциональных материалов: материалы докладов международной молодежной научной конференции / под ред. Иванов Д.А., Ахьямова А.Ф., Бовсуновская П.В., Пирязев А.А., Есаулова И.Г. – Сочи: Научно-технологический университет «Сириус», 2021. – С. 50.

6. Синтез и функционализация поверхности наночастиц сложных оксидов железа моноклональными антителами для визуализации внутриклеточных структур методом просвечивающей электронной микроскопии / **Иванова А.В.**, Абакумов М.А. // «Ломоносов - 2022»: материалы международного молодежного научного форума / отв. Ред. И.А. Алешковский, А.В. Андриянов, Е.А. Антипов, Е.И. Зимакова. – М. :МАКС Пресс. – Москва, 2022. – С. 32.

7. Наночастицы сложных оксидов железа для визуализации внутриклеточных структур в сверхвысоком разрешении / **Иванова А.В.**, Абакумов М.А. // IX Всероссийская научная школа-конференция «Химия, физика, биология: пути интеграции»: сб. тезисов / Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук (ФИЦ ХФ РАН). – Москва, 2022. – С. 68.

8. Синтез и применение наночастиц магнетита для визуализации внутриклеточных структур / Иванова Е.В., **Иванова А.В.**, Абакумов М.А. // IX Всероссийская научная школа-конференция «Химия, физика, биология: пути интеграции»: сб. тезисов / Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук (ФИЦ ХФ РАН). – Москва, 2022. – С. 69.

9. Синтез и применение магнитных наночастиц для микроскопии сверхвысокого разрешения / **Иванова А.В.**, Иванова Е.В. // Современные тенденции развития функциональных материалов: материалы докладов международной молодежной научной конференции / под ред. Иванов Д.А., Ахьямова А.Ф., Бовсуновская П.В., Пирязев А.А., Есаулова И.Г. – Сочи: Научно-технологический университет «Сириус», 2022. – С. 32.

10. Применение наночастиц ферритов цинка и марганца для визуализации биомолекул в клетке / Иванова Е.В., **Иванова А.В.**, Абакумов М.А. // «Ломоносов

– 2023»: материалы международного молодежного научного форума / отв. Ред. И.А. Алешковский, А.В. Андриянов, Е.А. Антипов, Е.И. Зимакова. – М. :МАКС Пресс. – Москва, 2023. – С. 1180.

### **Патент РФ**

1. Патент № 2787203 Российская Федерация, МПК C10G 49/00 (2006.01), C01G 51/00 (2006.01), B82B 3/00 (2006.01), B82Y 40/00 (2011.01). Способ получения наночастиц феррита кобальта: №2022123700 заявл. 06.09.2022. опубл. 29.12.2022 Бюл. №1 / **А. В. Иванова**, М.А. Абакумов. – 9 с.: ил.

### **Ноу-хау**

1. **Иванова А.В.**, Абакумов М.А. Национальный исследовательский университет «МИСиС». «Способ одновременной визуализации биологических структур сверхвысокого разрешения» / Ноу-хау № 05-645-2020 от 02.12.2020 г.

По тематике, методам исследования, предложенным новым научным положениям диссертация полностью соответствует паспорту специальности научных работников **2.6.6** Нанотехнологии и наноматериалы (Химические науки) в части **3.1.** Экспериментальные исследования процессов получения и технологии наноматериалов, формирования наноструктур на подложках, синтеза порошков наноразмерных простых и сложных оксидов, солей и других соединений, индивидуальных металлов и сплавов, в том числе редких и платиновых металлов; **3.2.** Выявление влияния размерного фактора на функциональные свойства и качества наноматериалов; **3.6.** Совершенствование существующих и разработка новых методов анализа структуры и свойств наноматериалов; **3.7.** Исследование структуры, свойств и технологии композиционных наноструктурированных материалов; **3.8.** Исследование физико-химических свойств неорганических наполнителей и **3.9.** Новые технологические процессы с участием наноструктурированных сред и наноматериалов.

**Связь работы с государственными программами.** Результаты работы были получены в рамках грантов Министерства образования и науки РФ № К2-2019-044; Фонда содействия инновациям по программе «УМНИК» № 16101ГУ/2020; РФФИ № 21-1300438.

**Структура и объем работы.** Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследований,



экспериментальной части, описывающей материалы методики синтеза МНЧ, модификации и функционализации их поверхности и методы их исследования *in vitro*, результатов и их обсуждения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 131 странице печатного текста, содержит 17 таблиц и 49 рисунков. Список литературы включает 239 источников.

**По итогам обсуждения было принято следующее заключение:**

Диссертация Ивановой Анны Валерьевны является завершённой научно-квалификационной работой, содержащей результаты, полученные на основании исследований, проведенных на высоком научном и техническом уровне с применением современных методов исследования. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные автором, теоретически обоснованы и не вызывают сомнений. Представленные в работе результаты принадлежат Ивановой А.В., они оригинальны, достоверны и отличаются научной новизной и практической значимостью.

С учетом научной зрелости автора, актуальности, научной новизны и практической значимости работы, а также ее соответствия требованиям пп. 3.1, 3.2, 3.6 – 3.9 паспорта специальности научных работников 2.6.6 и пп. 9 – 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», предъявляемым к подобным работам, диссертация на тему: «Синтез и применение наночастиц сложных оксидов железа для визуализации внутриклеточных структур методом просвечивающей электронной микроскопии» **рекомендуется к защите** на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 2.6.6 Нанотехнологии и наноматериалы (Химия).

Заключение принято на заседании кафедры физического материаловедения НИТУ «МИСИС», состоявшемся 21 июня 2023 года, протокол № ФМ-13/пр.

На заседании присутствовали: зав. каф. физ. матер., к.ф.-м.н. *Савченко А.Г.* (председатель заседания), проф., д.ф.-м.н. *Лилеев А.С.*, доц., к.ф.-м.н. *Перминов А.С.* (зам. зав. кафедрой по общим вопросам – Секретарь заседания), доц., к.х.н. *Абакумов М.А.*, доц., к.ф.-м.н. *Введенский В.Ю.*, доц., к.ф.-м.н. *Шуваева Е.А.*, ст. преп. *Захарова Е.А.* (Учёный секретарь кафедры), доц., к.ф.-м.н. *Введенский В.Ю.*,

доц., к.т.н. Горшенков М.В., доц., к.т.н. Задорожный В.Ю., доц., к.ф.-м.н. Новиков А.И., доц., к.т.н. Щетинин И.В., доц., к.ф.-м.н. Могильников П.С., доц., к.ф.-м.н. Малютина Е.С., учебн. мастер 1 кат. Бордюжин И.Г., асп., инж. Иванова А.В., асп., лабор. Чмелюк Н.С., асп. Федотов К.А., асп. Савин Н.А., асп. Тимошенко Р.В., студ. Михеев В.А.

В голосовании приняло участие – **21** человек.

Результаты голосования: «за» – **21** человек, «против» – **нет**, «воздержались» – **нет**; протокол от 21 июня 2023 г. № ФМ-13/пр.

Председатель заседания

А.Г. Савченко

Секретарь заседания

А.С. Перминов