

ВІДГУК

офіційного опонента

на дисертаційну роботу ШАФРАНЬОША Мирослава Івановича

«Непружні зіткнення електронів з молекулами

азотистих основ нуклеїнових кислот»,

представлену на здобуття наукового ступеня доктора фізико-математичних наук
зі спеціальності 01.04.04 – фізична електроніка (Природничі науки)

Актуальність теми дисертаційної роботи.

В останні десятиріччя зростає інтерес до вивчення взаємодії повільних електронів зі складними органічними молекулами (у т. ч. біологічно важливими). Винятково швидкий прогрес у розвитку таких досліджень зумовлений декількома причинами, головна з яких – практичні потреби розвитку цивілізації. На сьогодні органічні молекули стали основним джерелом отримання нових матеріалів, ліків, засобів захисту рослин, барвників, паливних матеріалів та інших речовин, життєво необхідних для суспільства. Інформація про процеси при електрон-молекулярній взаємодії необхідна для розуміння ролі фізико-хімічних процесів у забезпеченні життєдіяльності біосистем та для розробки нових біотехнічних пристроїв, зокрема в галузі молекулярної електроніки. На сьогоднішній день в астрономічному середовищі ідентифіковано декілька видів органічних молекул, які містять основні функціональні групи, необхідні для зародження складної органічної хімії, і вказують на те, що в космосі синтезуються набагато складніші молекули. Зокрема, астробіологічну та астрохімічну спільноту цікавить аденін через можливість його утворення у космосі.

За сучасними уявленнями постійно зростаюча кількість іонізуючого випромінювання, якому піддається людство в сучасному суспільстві, є основною причиною пошкодження живих клітин. Електрони є одним із найпоширеніших вторинних видів, що утворюються після первинного радіаційного впливу зі швидкістю приблизно 5×10^4 на 1 MeV вкладеної енергії падаючого випромінювання та кінетичної енергії < 20 eV. Також у випадку іонно-променевих інструментів для терапії раку було показано, що переважна більшість вироблених вторинних електронів має кінетичну енергію < 30 eV. Саме вторинні електрони, які є низькоенергетичними, з енергіями від 0,1 до десятків електрон-вольт, спричиняють більшість змін у живих клітинах, при цьому основними мішенями є

генетичні макромолекули РНК і ДНК, основними будівельними блоками яких є п'ять канонічних нуклеотидів (аденін, цитозин, гуанін, тимін і урацил). Ці електрони можуть реагувати з молекулярними компонентами клітини, утворюючи позитивні і негативні іони та радикали, та суттєво сприяти пошкодженню клітини. Таким чином, основні процеси пошкодження та відновлення біологічно важливих молекул, таких як РНК і ДНК, мають велике значення і є предметом інтенсивних досліджень. Особливо це стосується досліджень процесів, індукованих низькоенергетичними електронами, які мають вирішальне значення для забезпечення більш точних прогнозів іонно-променевої терапії раку, захисту космічних польотів людини, прогнозування наслідків впливу радіації тощо. Однак, для розуміння радіаційного пошкодження і його повного опису необхідно знати всю послідовність подій, що призводять до кінцевого хімічного стану молекул, і розуміти задіяні механізми. Електронні збудження та іонізація, викликані електронним ударом, є ключовими процесами в механізмах радіаційно-індукованого пошкодження матеріалів біологічного значення, які лежать в основі важливих медичних і технологічних застосувань, включаючи радіотерапію, захист від радіації в пілотованих космічних місіях і технології виготовлення нанопристроїв. Повний набір молекулярних констант (абсолютних перерізів, енергетичних порогів збудження та іонізації, механізми фрагментації), отриманих у результаті зіткнень електронів низьких енергій з молекулами нуклеотидних основ нуклеїнових кислот, необхідний як вхідні дані для біохімічних моделей, для моделювання треків частинок за методом Монте-Карло, що використовується для вивчення пошкоджень живих клітин, індукованих іонізуючим випромінюванням, нано- і мікродозиметрії, а також терапії раку. Оскільки експериментальні дослідження процесів електронної взаємодії для кожного відповідного біоматеріалу є достатньо трудомістким завданням, а теоретичні моделі недостатньо точні, залишається ще багато невирішених питань: практично відсутня чітка картина перебігу даних процесів навіть для найпростіших двоатомних молекул, а запропоновані механізми не в змозі пояснити більшість ефектів, що спостерігаються. З огляду на це обрана тема дисертаційної роботи є **актуальною** як з точки зору загальнонаукового (фундаментального), так і прикладного аспекту.

Актуальність теми підтверджується також і тим, що результати дисертаційної роботи є складовими частинами чотирьох держбюджетних науково-дослідних тем, затверджених Міністерством освіти і науки України, які виконувалися у Проблемній науково-дослідній лабораторії фізичної електроніки Ужгородського національного університету.

Структура та зміст дисертації.

Дисертаційна робота складається зі вступу, п'яти розділів, висновків до кожного розділу, загальних висновків, переліку посилань, що налічує 403 найменування. Загальний обсяг дисертаційної роботи становить 381 сторінок, 167 рисунків та 30 таблиць.

У цілому дисертація має досить логічну структуру, її мова відповідає рівню наукових видань, застосована в роботі наукова термінологія є загально визнаною і, в основному, використовується коректно, стиль викладу зручний для аналізу, ясний для розуміння, сприйняття та використання. Оформлення дисертації виконано відповідно до вимог державних стандартів України, зокрема згідно з наказом МОН України №40 від 12.01.2017 року «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації».

Мета, завдання, об'єкт і предмет дисертаційної роботи є чітко сформульованими. Для досягнення поставленої мети автором проведено детальне вивчення широкого спектру вітчизняних і зарубіжних наукових джерел з проблематики дисертації, а також вирішено ряд науково-технічних задач. У дисертації логічно розкрито поставлені завдання дослідження, що свідчить про досягнення обраної мети і завершеність опрацювання проблеми. Загальні висновки структуровані, відповідають завданням і у концентрованому вигляді коректно відображають основні досягнення здобувача, чим доводиться, що мета роботи досягнута і всі поставлені завдання виконано.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій.

Обґрунтованість наукових положень, представлених на захист, підтверджується проведеним здобувачем всебічним аналізом експериментальних результатів із врахуванням фізико-хімічних властивостей досліджуваних молекул, бази даних Національного інституту стандартів США (NIST) та інших робіт з даного напрямку досліджень. Це дало змогу автору дисертації не лише узагальнити та систематизувати існуючі результати досліджень, але й визначити дискусійні й

недостатньо опрацьовані аспекти обраної теми, окреслити новий напрям дослідження. Усі положення й висновки є переконливими, адже спираються на емпірично підкріплений та теоретично обґрунтований аналіз.

Достовірність одержаних результатів, наукових положень і висновків дисертаційної роботи гарантована застосуванням при проведенні вимірювань сучасного експериментального обладнання та його ретельного налаштування коректним використанням апробованих раніше методик досліджень, застосуванням сучасних вимірювальних засобів високої чутливості, їх ретельними налаштуваннями, проведенням контрольних вимірів, відтворюваністю результатів у повторних вимірах, аналізом та оцінюванням невизначеності вимірювань, узгодженням даних з теоретичними розрахунками.

Коректне використання автором експериментальних методів дослідження та різних квантово-хімічних розрахунків стало підґрунтям отримання результатів, які містять наукову новизну та мають практичну цінність.

Наукова новизна.

Наукова новизна одержаних результатів полягає в тому, що у результаті систематичних прецизійних досліджень непружних процесів при зіткненнях повільних електронів з молекулами азотистих основ нуклеїнових кислот було вперше отримано цілий ряд науково обґрунтованих результатів, визначено перерізи процесів та інші молекулярні константи, відпрацьовано наукові аспекти, які мають важливе значення для розуміння механізмів елементарних процесів зіткнень електронів з біомолекулами та фізичних явищ, що супроводжують ці процеси. Із всієї сукупності вперше одержаних результатів і положень найбільш принциповий характер мають такі:

- 1) На підставі отриманих спектрів люмінесценції нуклеотидних основ тиміну, урацилу, цитозину, аденіну і гуаніну в діапазоні довжин хвиль від 200 до 600 нм та проведеній ідентифікації інтенсивних молекулярних смуг в емісійних спектрах вказаних молекул встановлено, що під дією електронного удару в молекулах нуклеотидних основ відбуваються різні фізичні процеси: збудження синглетних і триплетних станів молекул, фрагментація, дисоціативне збудження та іонізація. Показано, що переважна частина спектральних артефактів пов'язана із процесами дисоціативного збудження та дисоціативного збудження з іонізацією. Експериментально виявлено пряме збудження триплетних метастабільних станів

біомолекул електронним ударом. Досліджено енергетичні залежності перерізів збудження (функції збудження) молекулярних смуг та встановлено енергетичні пороги збудження іонних фрагментів.

2) Вперше експериментально визначено абсолютні величини перерізів утворення позитивних іонів пуринових основ нуклеїнових кислот аденіну та гуаніну в інтервалі енергій електронів від порогу до 200 еВ, енергетичні пороги утворення позитивних іонів, а також абсолютні величини перерізів формування іонів-фрагментів (парціальні перерізи) аденіну та гуаніну. Показано, що найбільші перерізи (ймовірності) утворення позитивних іонів при даних енергіях електронів властиві молекулярним іонам, що свідчить про відносну стабільність молекулярних носіїв генетичної інформації.

3) Вперше експериментально визначено абсолютні величини ефективних перерізів утворення негативних іонів аденіну і гуаніну у діапазоні енергій електронів від 0,3 до 5 еВ. Показано, що процеси утворення негативних іонів при зіткненнях низькоенергетичних електронів з біомолекулами мають нелінійний резонансний характер. На основі співставлення експериментальних результатів з теоретичними розрахунками, виконаними напівемпіричним квантово-хімічним методом, встановлено домінуючі шляхи дисоціації негативних іонів нуклеотидних основ. Показано, що електронне захоплення молекулами аденіну і гуаніну відбувається за механізмом Фешбахівського коливально-збудженого резонансу.

4) Вперше виміряні інфрачервоні спектри поглинання контрольних та підданих дії ультрафіолетового світла ($E = 3,68$ еВ) плівок цитозину, гуаніну та їх комплексу, отриманих методом вакуумного термічного напилення, у діапазоні від 1100 до 3600 cm^{-1} . З'ясовано, що в усіх плівках наявні різнотипні гідратовмісні асоціати. Запропоновано можливі механізми впливу ультрафіолету з $E = 3,68$ еВ на молекулярні плівки: опромінення провокує перерозподіл відносного вмісту гідратоасоціатів азотистих основ, імовірно за рахунок УФ-стимульованої додаткової абсорбції плівками молекул води з повітря. На підставі квантово-хімічних розрахунків встановлено, що при збільшенні кількості молекул в асоціаті зростає інтенсивність поглинання у довгохвильовій області ($E < 4$ еВ), що вказує на можливість прямої дії на досліджувані молекули ультрафіолету даного діапазону.

5) На підставі результатів досліджень впливу довгохвильового ультрафіолетового випромінювання на ДНК *in vivo* на біологічній моделі за критеріями зміни швидкості регенерації показано, що УФ промені з $E = 3,68$ eV сповільнюють швидкість регенерації. Це свідчить про те, що наведений фактор впливу пригнічує функціональну активність ДНК, в тому числі і завдяки зміні міжмолекулярних взаємодій.

Практичне значення.

Результати дисертаційної роботи є базою для визначення та прогнозування ролі низькоенергетичних електронів в послідовності подій, що призводять до радіобіологічних уражень, сприяють розумінню дії радіації на живі організми в широкому діапазоні початкових енергій радіації, можуть бути використані як рекомендації з метою оптимізації радіотерапевтичних методик, ціленаправленого радіаційного мутагенезу, для адекватної оцінки проблеми ефективності невеликих доз радіації та поняття відносності порогових доз. Вони можуть бути використані також у біотехнологіях, біофізиці, генетиці, медицині, в аналітичній техніці, а також мають широку перспективу для застосування при проектуванні широкого класу технічних пристроїв і технологій контролю якості та складу речовини. Дані про вплив ультрафіолетового випромінювання на ДНК і її складові в конденсованому стані і *in vivo* можуть використовуватися для розробки методів керування процесами поділу клітин, регенерації, пригнічення росту пухлин. Перспективні в цьому напрямку дослідження комплексів біомолекул з барвниками (в тому числі і природного походження), коли реалізуються нелінійні ефекти за рахунок двоквантового поглинання світла. Подальше практичне застосування результатів роботи доцільно також у навчально-освітньому процесі закладів вищої освіти України. Окремі теоретичні та науково-методичні положення дисертаційної роботи вже впроваджено в навчальний процес ДВНЗ «Ужгородський національний університет», а розділ 2 може бути рекомендований як навчально-методична розробка для проведення лабораторних робіт зі спеціальностей «Фізика та астрономія, «Біотехнології та біоінженерія» та «Мікро- та наносистемна техніка».

Повнота викладення результатів досліджень у наукових публікаціях за темою дисертації.

Основні результати дисертації за темою дисертації опубліковані у 24 статтях у вітчизняних і міжнародних наукових журналах, з яких 14 реферуються наукометричними базами даних Scopus і Web of Science (у т.ч. 1 стаття у виданні, віднесеному до першого квартилю (Q1) та 3 статті у виданнях, віднесених до третього квартилю (Q3), 10 – у фахових виданнях, 1-й монографії, додатково у 2-х підручниках. Отримані результати пройшли також апробацію на 53 національних та міжнародних конференціях. Наукові результати дисертації, викладені у публікаціях, у повній мірі відображають основні результати дослідження.

Автореферат дисертації відповідає вимогам і повною мірою відображає зміст та основні положення і висновки, сформульовані у дисертації, містить визначення особистого внеску здобувача у спільно опублікованих працях, що доводить самостійність його дослідницької праці.

Відсутність порушення академічної доброчесності.

Одним з об'єктивних елементів доказу відсутності порушення академічної доброчесності є наукові публікації М.І. Шафраньоша в рецензованих журналах, які перевіряють подані публікації на відсутність запозичень. Крім того, підтвердженням дотримання автором вимог академічної доброчесності є протокол програми 5 StrikePlagiarism від 03.07.2024 року, згідно якого дисертаційна робота відповідає нормам академічної доброчесності.

Загальні недоліки і зауваження.

Як і кожне новаторське самостійне дослідження, дисертація не позбавлена певних недоліків, з яких випливають наступні зауваження:

1. При визначенні відносної інтенсивності спектральних ліній і смуг у спектрах люмінесценції молекул у широкому діапазоні довжин хвиль (200–600 нм) внаслідок дії електронного удару необхідним є врахування спектральної чутливості експериментальної установки. *Однак, у роботі не зазначено, яким чином визначалася така характеристика та як вона враховувалася при визначенні істинного розподілу інтенсивності.*
2. Як відомо, під дією високої температури відбувається термодеструкція біомолекул. З огляду на це, величина потужності, яка вводиться для отримання парів біомолекул у газорозрядній трубці не повинна до цього призводити. У

роботі (п. 2.4) чітко не зазначено процедуру та параметри проведення такого експерименту, зокрема, який тип розряду для цього використовувався?

3. У п. 3.2 на рис. 3.5–3.7 наведено функції збудження окремих спектральних смуг урацилу. Однак, у тексті не надано жодного пояснення механізмів виявлених особливостей на експериментальних кривих, не вказано значення енергетичних порогів.

У цьому ж пункті дисертаційної роботи у випадку, коли як мішень використовувалася молекула цитозину, автор констатує: «Нами були досліджені енергетичні залежності відносних перерізів збудження (функції збудження) випромінювання при енергіях електронів від 0 до 300 еВ для десяти смуг». Однак, у роботі не наведено відповідних енергетичних залежностей функцій збудження у графічному вигляді, що, значно звужує аналіз отриманих результатів.

4. Одними з основних результатів дисертаційної роботи є фундаментальні молекулярні константи, зокрема абсолютні перерізи формування позитивних іонів та іонів-фрагментів. Такі дані приведено для молекули аденіну (Таблиця 4.1) та гуаніну (Таблиця 4.2). Однак, у роботі не надано чіткого пояснення, яким чином визначалися парціальні перерізи утворення іонів найбільш ймовірних фрагментів цих молекул.
5. Посилання на результати своїх досліджень у переважній більшості автором подаються у загальному форматі, тим більше на початку розділу, що призводить до незручностей при сприйнятті інформації, оскільки виникає постійна потреба звертатися до списку використаних джерел для визначення авторства тексту. Тому, на нашу думку, замість написання у тексті дисертації «у роботах []» варто було б писати «у наших дослідженнях []».
6. У роботі не завжди приводиться пояснення використаних скорочень. Варто було б на початку дисертаційної роботи привести Перелік умовних позначень, символів, одиниць, скорочень і термінів.

Не вдалося уникнути здобувачу деяких термінологічних неточностей, описок русизмів; подекуди мають місце граматичні та друкарські помилки.

Вказані вище зауваження не мають принципового значення, скоріше носять методичний та технічний характер, не зменшують наукову та практичну цінність

результатів роботи і не впливають на загальні позитивні висновки про дисертаційну роботу.

Загальні висновки.

Таким чином, можна констатувати, що дисертаційна робота Мирослава Івановича Шафраньоша «**Непружні зіткнення електронів з молекулами азотистих основ нуклеїнових кислот**» є завершеним науковим дослідженням, яке виконано автором на належному методичному і науковому рівні. У роботі вирішено наукову проблему – встановлення механізмів перебігу фізичних процесів і структурних змін у азотистих основах нуклеїнових кислот, спричинених низькоенергетичними електронами ($10^{-1} - 10^2$ eV) та фотонами ультрафіолетового діапазону, з огляду на що можна стверджувати, що отримані результати містять наукову новизну та мають фундаментальну і практичну цінність національного та міжнародного значення.

Дисертація відповідає спеціальності 01.04.04 – фізична електроніка.

За актуальністю розглянутих завдань, обсягом досліджень, науковою новизною і практичною цінністю отриманих результатів, кількістю та якістю публікацій, дотриманням принципів академічної доброчесності дисертаційна робота повністю відповідає вимогам п.7, 9 «Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук» (Постанова Кабінету Міністрів України від 17 листопада 2021 року №1197 (зі змінами)), а Мирослав Іванович Шафраньош заслуговує присудження йому наукового ступеня доктора фізико-математичних наук зі спеціальності 01.04.04 – фізична електроніка.

Офіційний опонент,
доктор фізико-математичних наук,
старший науковий співробітник,
член кореспондент НАН України,
директор Інституту електронної фізики
НАН України

Ганна ГОМОНАЙ

Підпис Ганни Миколаївни ГОМОНАЙ засвідчую:

Вчений секретар
Інституту електронної фізики НАН України,
кандидат хімічних наук, старший дослідник



Людмила РОМАНОВА