

КАНТИЛЕВЕРНЫЕ СЕНСОРЫ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ АГЕНТОВ

стр. 5 – 8

И.В. Яминский^{1,2,3}, А.И. Ахметова^{1,2,3}¹Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова:
119991, ГСП-1, Москва. Ленинские горы, МГУ имени М.В.Ломоносова, дом 1, строение 2²ООО НПП «Центр перспективных технологий»³ООО «Энергоэффективные технологии»**Контактные данные:** Яминский И.В., yaminsky@nanoscopy.ru

Резюме: В статье представлен обзор кантилеверных датчиков, основанных на технике зондовой микроскопии. Кантилеверные биосенсоры являются привлекательными инструментами для обнаружения химических и биологических молекул благодаря таким преимуществам, как быстрый ответ, более высокая чувствительность, простая процедура пробоподготовки и небольшой объем пробы для анализа.

Ключевые слова: кантилеверные датчики, электромеханические сенсоры, динамический и статический режим, зондовая микроскопия, резонансная частота

CANTILEVER SENSORS FOR DETECTING BIOLOGICAL AGENTS

page 5 – 8

I.V. Yaminsky^{1,2,3}, A.I. Akhmetova^{1,2,3}¹Lomonosov Moscow State University²Advanced Technologies Center³Energy Efficient Technologies

Summary: The article provides an overview of cantilever sensors based on the probe microscopy technique. Cantilever biosensors are attractive tools for detecting chemical and biological molecules thanks to such advantages as quick response, higher sensitivity, simple sample preparation procedure and small sample volume for analysis.

Keywords: cantilever sensors, electromechanical sensors, dynamic and static mode, probe microscopy, resonant frequency

Кантилеверные датчики активно исследуются на предмет чувствительного обнаружения биологических и химических частиц. Принцип их работы основан на том, что процессы, происходящие на кантилевере, преобразуются в механические сигналы, например, изгиб кантилевера [1, 2], сдвиг резонансной частоты [3], изменение пьезорезистентности [4], которые можно контролировать с помощью оптических и других методов [5, 6, 7]. Поверхность кантилеверов покрыта тонкой пленкой рецепторных молекул, которые могут реагировать с мишенью с определенной чувствительностью и специфичностью.

Thundat и его коллеги [8] впервые сообщили об отклонении кантилевера атомно-силового микроскопа (АСМ)

из-за изменений относительной влажности, что выявило новые возможности кантилеверов АСМ в качестве химических и биологических сенсоров. Они также подтвердили адсорбцию ртути на кантилевере с разрешением в пикограммы. С тех пор были проведены исследования и эксперименты для обнаружения различных мишеней, включая биомаркеры различных заболеваний: вируса папилломы человека [9], и опухолевого маркера нуклеолина [10] и др.

Мы продемонстрировали положительное обнаружение вируса гриппа А с помощью оптической регистрации сигнала при концентрациях ниже 10^6 вирусов на мл [11].

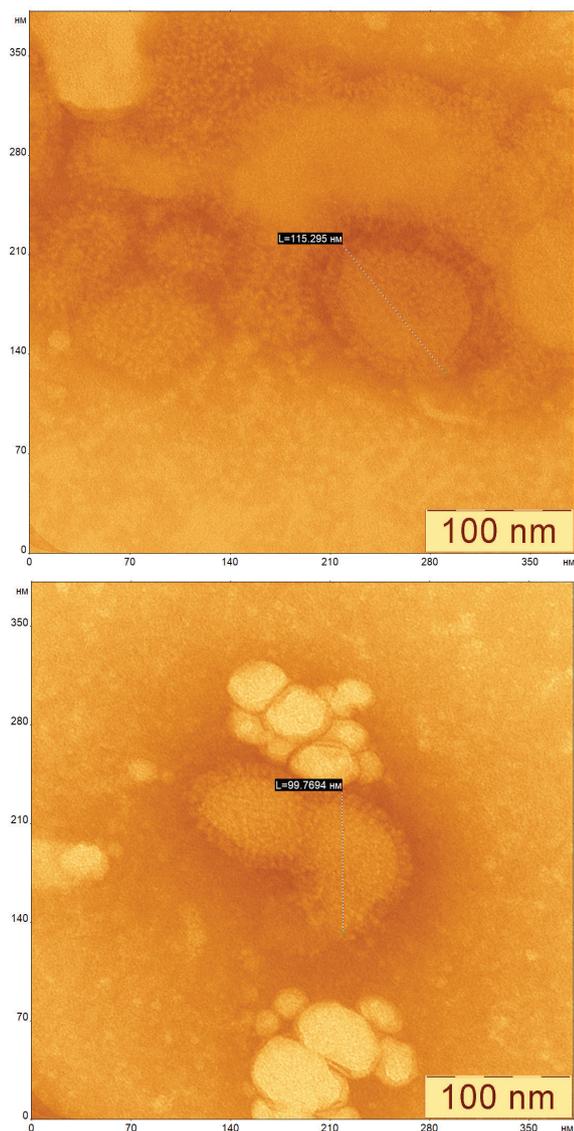


Рис. 1. Вирус гриппа А Н3N6. Просвечивающая электронная микроскопия, обработка изображения в ПО ФемтоСкан Онлайн

В отличие от датчиков для обнаружения химических веществ и молекул газа, датчики, разработанные для обнаружения биологических видов, таких как белки и антигены, часто страдают низкой чувствительностью и низкими порогами обнаружения [12]. В случае кантилеверных сенсоров величины отклонения и изменения поверхностного напряжения часто являются небольшими при малых концентрациях искомого вещества, что приводит к меньшему отношению сигнал / шум. Предпринимаются разные попытки улучшения пороговой чувствительности в биосенсорах на основе режима отклонения, но не все они бывают эффективными. К тому же из-за эффекта демпфирования в жидкости довольно проблематично делать измерения в режиме отклонения. По этой причине в нашей группе исследуется возможность детектирования биологических агентов на основе измерения продольных колебаний пьезокерамического биочипа [13].

Добротность продольных колебаний тонкой мембраны в жидкости практически не падает, что существенно для детекции биологических объектов. В недавней работе было продемонстрировано обнаружение бактериального гена *Clostridium difficile* с помощью пьезоэлектрического сенсора в сочетании с проточной системой и двумя температурными зонами, чувствительность и специфичность составляет 95%, что сравнимо с коммерчески доступным методом на основе ПЦР [14].

В результате взаимодействия моноклональных антител с сенсорным слоем на поверхности пьезокерамического диска изменяется жесткость поверхностного слоя, что может быть зарегистрировано в виде увеличения резонансной частоты [15].

Смещение резонансной частоты линейно согласуется с концентрацией осевших на кантилевере частиц, что было подтверждено экспериментом по обнаружению клеток дрожжей с помощью пьезоэлектрических датчиков [16]. Увеличение резонансной частоты в зависимости от осевших частиц на поверхности биочипа говорит о том, что существенный вклад в изменение резонансной частоты вносит изменение жесткости, а не массы. В соответствии с работой [17] изменение жесткости может быть существеннее более чем в 300 раз по сравнению с изменением массы.

Электромеханические биосенсоры становятся популярными благодаря их высокой чувствительности и возможности проведения количественных измерений при низкой стоимости, портативности, проведении детекции в реальном времени и без использования дополнительных меток и химических реагентов.

Помимо детектирования объектов, зондовая микроскопия позволяет исследовать живые объекты в буфере благодаря использованию в качестве зонда капилляра. Данное направление получило название капиллярная (или ион-проводящая) микроскопия. Разработанная в нашей группе установка ФемтоСкан Хі (рис.2) позволяет проводить параллельные измерения как в зондовой, так и в капиллярной микроскопии, тем самым получать данные не только о морфологии поверхности образца, но и проводить многопараметрический анализ клетки [18, 19, 20]. При этом стоимость самой установки сопоставима со стоимостью зондового микроскопа. Мы всегда нацелены на активное сотрудничество со специалистами из разных областей знаний, поэтому готовы продемонстрировать работу установок, провести исследования образцов или обучить работе с приборами и в программном обеспечении.

Различные модели сканирующих зондовых микроскопов, сканирующих капиллярных микроскопов и кантилеверных биосенсоров имеются в Центре молодежного инновационного творчества «Нанотехнологии» физического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова и Центра перспективных технологий. Подробная информация представлена на сайте www.startinnovation.com

Подробнее об установке ФемтоСкан Xi и программном обеспечении ФемтоСкан Онлайн, а также получить бесплатную пробную версию ПО можно на сайте www.nanoscopy.ru.



Рис.2. Разработанная установка для совмещенной зондовой и капиллярной микроскопии ФемтоСкан Xi, установленная на инвертированный оптический микроскоп Nikon Ti-U

Благодарности

Авторы выражают благодарность Фонду содействия инновациям (договор 422ГРНТИС/44715), Российскому научному фонду, проект №20-12-00389 и Российскому фонду фундаментальных исследований, проект №20-32-90036

Конфликт интересов отсутствует.

There is no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Y. Zhao, B. Ganapathysubramanian, P. Shrotriya, Cantilever deflection associated with hybridization of monomolecular DNA film, *J. Appl. Phys.* 111, (2012).
2. S.L. Biswal, D. Raorane, A. Chaiken, et al., Nanomechanical detection of DNA melting on microcantilever surfaces, *Anal. Chem.* 78, 7104–7109 (2006).
3. T. Thundat, E.A. Wachter, S.L. Sharp, et al., Detection of mercury-vapor using resonating microcantilevers, *Appl. Phys. Lett.* 66, 1695–1697 (1995).
4. H.H. Kim, H.J. Jeon, H.K. Cho, et al., Highly sensitive microcantilever biosensors with enhanced sensitivity for detection of human papilloma virus infection, *Sens. Actuators B: Chem.* 221, 1372–1383 (2015).
5. N.V. Lavrik, M.J. Sepaniak, P.G. Datskos, Cantilever transducers as a platform for chemical and biological sensors, *Rev. Sci. Instrum.* 75, 2229–2253 (2004).

6. J. Fritz, Cantilever biosensors, *Analyst* 133 (7), 855–863 (2008).
7. Y. Arntz, J.D. Seelig, H.P. Lang, et al., Label-free protein assay based on a nanomechanical cantilever array, *Nanotechnology* 14, 86–90 (2003).
8. T. Thundat, R.J. Warmack, G.Y. Chen, et al., Thermal and ambient-induced deflections of scanning force microscope cantilevers, *Appl. Phys. Lett.* 64, 2894–2896 (1994).
9. H.H. Kim, H.J. Jeon, H.K. Cho, et al., Highly sensitive microcantilever biosensors with enhanced sensitivity for detection of human papilloma virus infection, *Sens. Actuators B: Chem.* 221, 1372–1383 (2015).
10. H. Li, X. Bai, N. Wang, et al., Aptamer-based microcantilever biosensor for ultrasensitive detection of tumor marker nucleolin, *Talanta* 146, 727–731 (2016).
11. P. V. Gorelkin, A. S. Erofeev, G. A. Kiselev, D. V. Kolesov, E. V. Dubrovin, and I. V. Yaminsky, Synthetic sialylglycopolymer receptor for virus detection using cantilever-based sensors. *The Analyst*, 140(17), 6131–6137 (2015).
12. H.F. Ji, B.D. Armon, Approaches to increasing surface stress for improving signal-to-Noise ratio of microcantilever sensors, *Anal. Chem.* 82, 1634–1642 (2010).
13. И. Яминский, А. Ахметова, И. Назаров, Детектирование вируса гриппа А с применением пьезокерамических кантилеверов. *Медицина и высокие технологии*, 1, 5-9 (2017).
14. Song Hana, Mehmet C. Soylua, Ceyhun E. Kirimlia, et al, Rapid, label-free genetic detection of enteropathogens in stool without genetic isolation or amplification. *Biosensors and Bioelectronics* 130, 73–80 (2019).
15. А. Ахметова, И. Назаров, Г. Преснова, М. Ю. Рубцова, А. Егоров, И. Яминский, Обнаружение белковых биомакромолекул с помощью пьезокерамического биочипа. *Наноиндустрия*, №8 (79), 44–49, (2017).
16. Jeong W. Yi, Wan Y. Shih, R. Mutharasan, Wei-Heng Shih, In situ cell detection using piezoelectric lead zirconate titanate-stainless steel cantilevers. *Journal of Applied Physics* 93, 619 (2003).
17. Wan Y. Shih, Qing Zhu, Wei-Heng Shih, *Journal of Applied Physics* 104, 074503, (2008).
18. Яминский И. В., Сканирующая капиллярная микроскопия. *Наноиндустрия* 1 (63), 76–79 (2016).
19. Ахметова А. И., Яминский И. В., Сканирующая капиллярная микроскопия. *Наноиндустрия* 7 (78), 42–47 (2017).
20. И. Яминский, А. Ахметова, Г. Мешков, Ф. Салехи, Совмещенная капиллярная и зондовая микроскопия. *Наноиндустрия* 1 (80), 44–48 (2018).

Поступила 14.07.2020
УДК 004.418

REFERENCES

1. Y. Zhao, B. Ganapathysubramanian, P. Shrotriya, Cantilever deflection associated with hybridization of monomolecular DNA film, *J. Appl. Phys.* 111, (2012).
2. S.L. Biswal, D. Raorane, A. Chaiken, et al., Nanomechanical detection of DNA melting on microcantilever surfaces, *Anal. Chem.* 78, 7104–7109 (2006).

3. **T. Thundat, E.A. Wachter, S.L. Sharp, et al.**, Detection of mercury-vapor using resonating microcantilevers, *Appl. Phys. Lett.* 66, 1695–1697 (1995).
4. **Н.Н. Kim, Н.Н. Jeon, Н.К. Cho, et al.**, Highly sensitive microcantilever biosensors with enhanced sensitivity for detection of human papilloma virus infection, *Sens. Actuators B: Chem.* 221, 1372–1383 (2015).
5. **N.V. Lavrik, M.J. Sepaniak, P.G. Datskos**, Cantilever transducers as a platform for chemical and biological sensors, *Rev. Sci. Instrum.* 75, 2229–2253 (2004).
6. **J. Fritz**, Cantilever biosensors, *Analyst* 133 (7), 855–863 (2008).
7. **Y. Arntz, J.D. Seelig, H.P. Lang, et al.**, Label-free protein assay based on a nanomechanical cantilever array, *Nanotechnology* 14, 86–90 (2003).
8. **T. Thundat, R.J. Warmack, G.Y. Chen, et al.**, Thermal and ambient-induced deflections of scanning force microscope cantilevers, *Appl. Phys. Lett.* 64, 2894–2896 (1994).
9. **Н.Н. Kim, Н.Н. Jeon, Н.К. Cho, et al.**, Highly sensitive microcantilever biosensors with enhanced sensitivity for detection of human papilloma virus infection, *Sens. Actuators B: Chem.* 221, 1372–1383 (2015).
10. **H. Li, X. Bai, N. Wang, et al.**, Aptamer-based microcantilever biosensor for ultrasensitive detection of tumor marker nucleolin, *Talanta* 146, 727–731 (2016).
11. **P. V. Gorelkin, A. S. Erofeev, G. A. Kiselev, D. V. Kolesov, E. V. Dubrovin, and I. V. Yaminsky**, Synthetic sialylglycopolymer receptor for virus detection using cantilever-based sensors. *The Analyst*, 140(17), 6131–6137 (2015).
12. **H.F. Ji, B.D. Armon**, Approaches to increasing surface stress for improving signal-to-Noise ratio of microcantilever sensors, *Anal. Chem.* 82, 1634–1642 (2010).
13. **I. Yaminsky, A. Akhmetova, I. Nazarov**, Detection of influenza A virus using piezoceramic cantilevers. *Medicine and high technologies*, 1, 5-9 (2017).
14. **Song Hana, Mehmet C. Soylua, Ceyhun E. Kirimlia, et al.** Rapid, label-free genetic detection of enteropathogens in stool without genetic isolation or amplification. *Biosensors and Bioelectronics* 130, 73–80 (2019).
15. **A. Akhmetova, I. Nazarov, G. Presnova, M. Yu. Rubtsova, A. Egorov, I. Yaminsky**, Detection of protein biomacromolecules using a piezoceramic biochip. *Nanoindustry*, 8 (79), 44–49, (2017).
16. **Jeong W. Yi, Wan Y. Shih, R. Mutharasan, Wei-Heng Shih**, In situ cell detection using piezoelectric lead zirconate titanate-stainless steel cantilevers. *Journal of Applied Physics* 93, 619 (2003).
17. **Wan Y. Shih, Qing Zhu, Wei-Heng Shih**, *Journal of Applied Physics* 104, 074503, (2008).
18. **Yaminsky IV**, Scanning capillary microscopy. *Nanoindustry* 1 (63), 76–79 (2016).
19. **Akhmetova AI, Yaminsky IV**, Scanning capillary microscopy. *Nanoindustry* 7 (78), 42–47 (2017).
20. **I. Yaminsky, A. Akhmetova, G. Meshkov, F. Salehi**, Combined capillary and probe microscopy. *Nanoindustry* 1 (80), 44–48 (2018).

Received 14.07.2020
UDC 616.727

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

1. **Яминский Игорь Владимирович** – Профессор, д.ф.-м.н., кафедры физики полимеров и кристаллов, Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова. 119991, ГСП-1, Москва. Ленинские горы, МГУ имени М.В.Ломоносова, дом 1, строение 2, Физический факультет, Россия., Генеральный директор ООО НПП «Центр перспективных технологий», 119311, Москва, ул. Строителей 4-5-47, Директор ООО «Энергоэффективные технологии», 119234, Москва, Ленинские горы, дом 1, владение 75Г
2. **Ахметова Ассель Иосифовна** – инженер Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова, 119899, Москва, Ленинские горы, 1, строение 40, ведущий специалист ООО НПП «Центр перспективных технологий»

AUTHORS' INFORMATION

1. **Yaminsky Igor Vladimirovich** – Prof., Doctor of science in Physics, Chair of Polymer and Crystal Physics, Lomonosov Moscow State University, Faculty of Physics. Leninskie Gory, Moscow 119991, CEO, Advanced Technologies Center, 4-5-47, Stroiteley str., Moscow, 119311, RF; Director, Energy Efficient Technologies, 1-75G, Leninskie Gory, Moscow, 119234, RF. E-mail: yaminsky@nanoscopy.net
2. **Akhmetova Assel Iosifovna** – engineer of the A.N.Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology of the Lomonosov Moscow State University, 119899, Moscow, Leninskiye Gory, 1, Building 40, leading specialist of Advanced Technologies Center and Energy Efficient Technologies. E-mail: pr@atcindustry.ru