

## Разработка сенсорных элементов системы мониторинга взаимодействий химических веществ и биополимеров

В. Г. МАТЮШИН

*Конструкторско-технологический институт вычислительной техники СО РАН,  
Новосибирск, Россия  
e-mail: VDB-CV@yandex.ru*

Представлена конструкция новых оптических сенсорных элементов на основе металлических нанокластеров. Область применения разработки — высокопроизводительные наносенсоры для мониторинга присутствия и концентрации опасных веществ, системы типа “искусственный нос”, дешёвые одноразовые белковые биосенсоры для экспресс-анализов.

*Ключевые слова:* металлические нанокластеры, оптическое поглощение, наносенсор, биосенсор.

### Введение

Технология наносенсоров является бурно развивающейся дисциплиной в области инновационных подходов к молекулярному анализу [1]. Наносенсорные датчики обладают потенциалом, чтобы обеспечить мощную и значительно менее дорогую альтернативу традиционным лабораторным методам в фармацевтической и пищевой промышленности, медицине, системах мониторинга окружающей среды и в биотехнологии. Применение в составе наносенсоров ДНК, РНК, белков или ферментов в качестве молекулярных сенсоров способствует их чрезвычайно высокой селективности.

Цель данной работы — создание нового сенсорного элемента на основе эффекта электронного резонанса. Резонансное усиление поглощения света металлическим нанокластером является эффективным средством для создания новых нанооптических устройств. Усиление оптического поглощения достигается за счёт применения резонансной системы, состоящей из четырёх компонентов. Эти компоненты: металлическое зеркало, дистанционный слой полимера или стекла, слой реактивных биомолекул и слой связанных с ними металлических нанокластеров. Ключевым параметром для данной измерительной системы является нанометровая точность сборки слоёв, которая обеспечивает взаимодействие местных полей, окружающих кластер, со своим зеркальным диполем. Собранный прибор позволяет получить оптический сигнал в видимом и ближнем ИК-диапазоне.

Изготовленные по приведённой схеме наносенсорные элементы используются для мониторинга взаимодействий и структурных изменений нуклеиновых кислот, белков и полимеров. Сенсор реагирует на связывание лиганда с мишенью через конформационные изменения полимера дистанционного слоя. Эти изменения меняют расстояние

между компонентами сенсора и таким образом влияют на его оптическое поглощение. Рассмотрена возможность создания массива сенсорных элементов. Потенциальные приложения представленного сенсорного элемента — высокопроизводительные системы мониторинга в реальном времени присутствия в жидких средах специфических молекул или веществ (например, потенциально химически или биологически опасных агентов), системы типа “искусственный нос”, дешёвые одноразовые белковые биосенсоры для экспресс-анализов.

## 1. Структура и механизм действия сенсора

Представленный сенсорный элемент состоит из металлического зеркала, прозрачной прослойки (которая в данном случае представляет собой дистанционный слой активного полимера) и плёнки металлических нанокластеров в качестве самого верхнего слоя (рис. 1).

Когда происходит связывание зонда с мишенью, в плёнке индуцируется набухание или усадка макромолекул. При этом за счёт специальной оптической структуры конструкция сенсорного элемента показывает характерные спектральные сдвиги (рис. 2).

Оптический сигнал в отражённом свете (при освещении белым светом) зависит от толщины резонансного слоя и отчётливо заметен на расстояниях до одного микрометра оптической толщины (толщина умножается на индекс преломления). Контраст цвета при изменении толщины в несколько нанометров достаточен для визуального определения состояния взаимодействия зонд — мишень в дистанционном слое. Инструменталь-

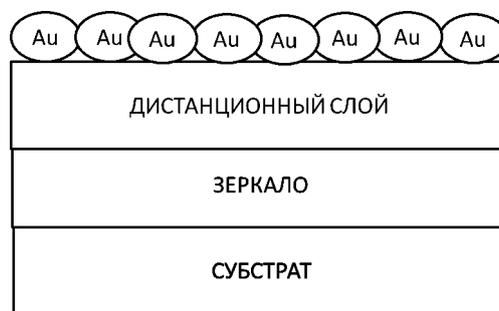


Рис. 1. Схема сенсорного элемента

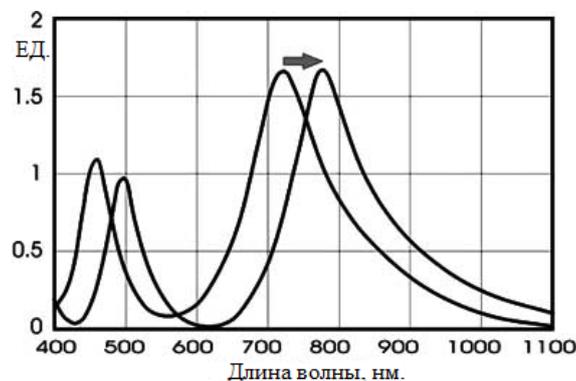


Рис. 2. Оптический сигнал сенсорного элемента — спектральный сдвиг на поверхности сенсора при связывании зонда с мишенью (собственные данные)

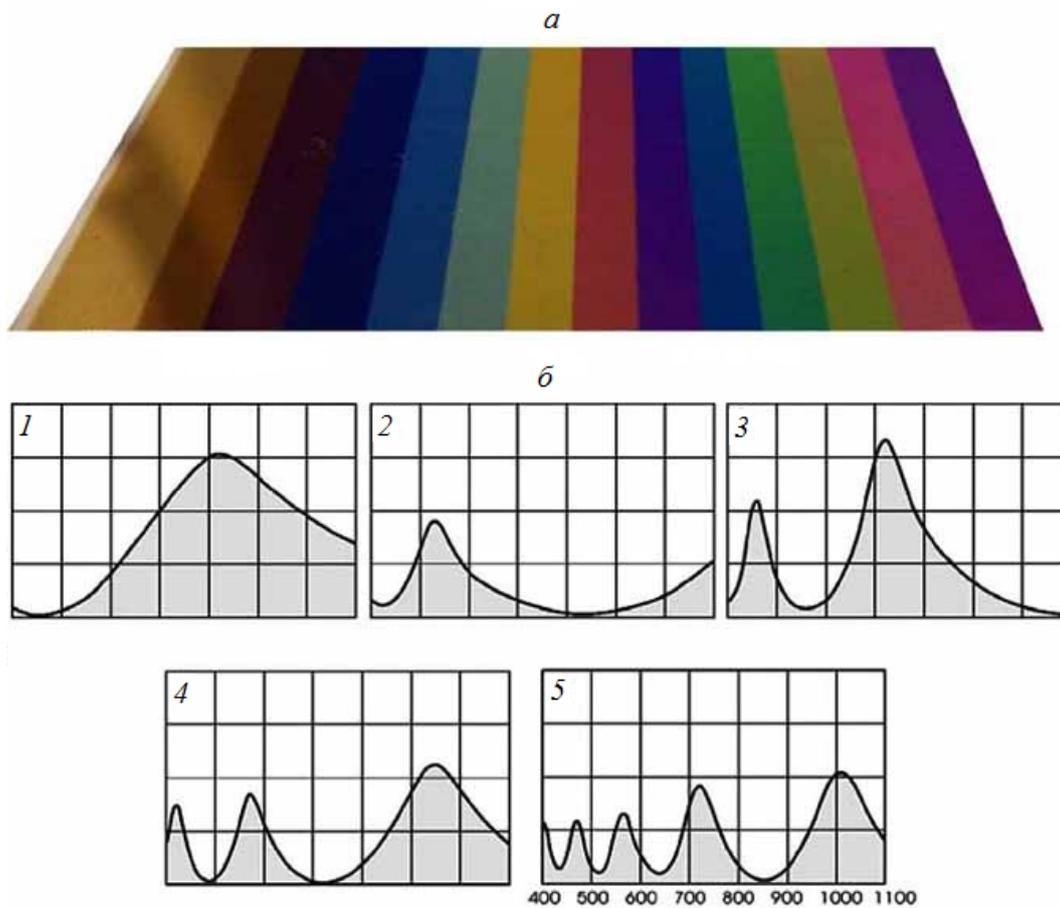


Рис. 3. Получение цветового (а) и спектрального (б) оптического сигнала наносенсора (собственные данные)

ное измерение оптического сигнала позволяет фиксировать изменения толщины дистанционного слоя величиной менее одного нанометра (рис. 3). Изменение цвета (рис. 3, а) происходит из-за спектрального сдвига по причине увеличения толщины дистанционного слоя слева направо, в диапазоне 0–200 нм — от светло-коричневого цвета слева до темно-фиолетового справа. Снимок сделан цветной ПЗС-камерой. Спектры отражения (рис. 3, б) с поверхности чипа получены с использованием фотометра.

## 2. Мониторинг взаимодействий

Белки, например антитела, могут быть использованы в качестве дистанционного слоя. Однако, поскольку большинство белков имеют глобулярную форму, их необходимо сплечь в целях формирования тонкой плёнки. Полученный белковый гель может существовать длительное время без разрушения 3D структуры белка. Белковый гель должен иметь возможность специфически взаимодействовать с белками-мишенями, но никогда не растворяться (рис. 4). Такой подход позволяет создавать узкоспецифичные биосенсоры. Для повышения производительности скрининга взаимодействий можно измерить множество точек на одном сенсоре одновременно. Каждая точка состоит из иммобилизованных на поверхности сенсора антител. Антигены-мишени в растворе ковалентно связаны с нанокластерами металла. Интенсивность взаимодействия антигенов с анти-

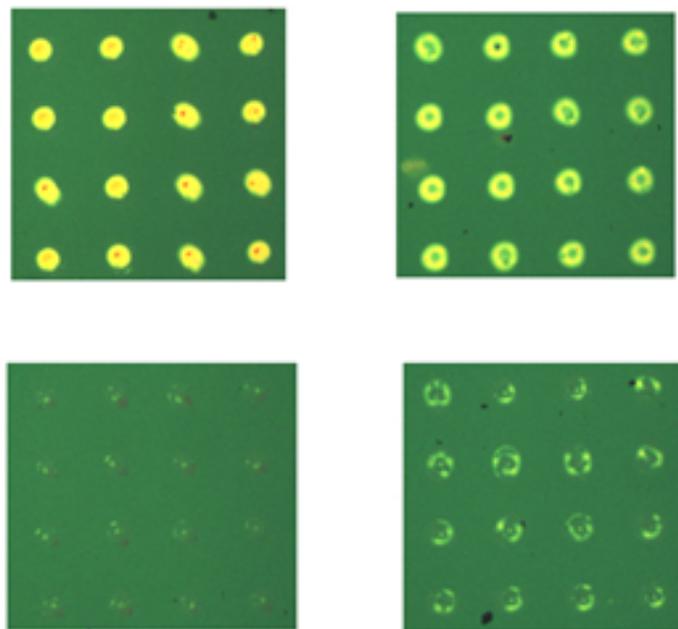


Рис. 4. Мониторинг присутствия специфического белка (собственные данные)

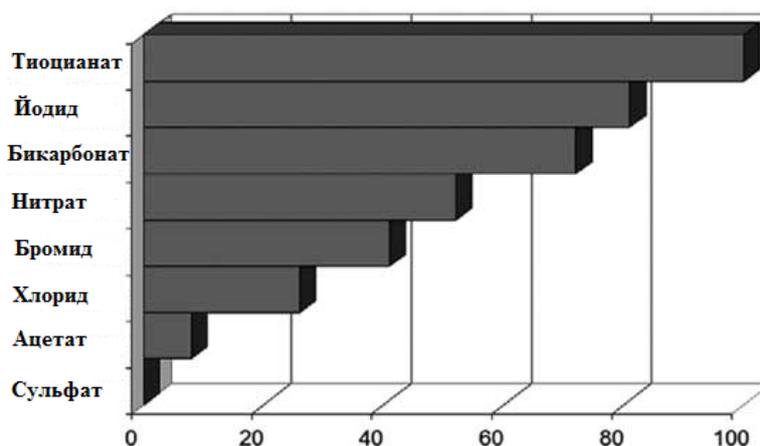


Рис. 5. Мониторинг присутствия веществ в водном растворе. По горизонтали — относительные изменения толщины слоя реактивного геля (собственные данные)

телами зависит от концентрации антигенов в растворе. Мониторинг взаимодействия осуществляется с помощью ПЗС-камеры.

Сенсор с реактивным гелем в качестве дистанционного слоя можно использовать для мониторинга присутствия химических веществ в воде (рис. 5).

### 3. Обработка данных

Снятие оптического сигнала с поверхности сенсора можно проводить путём измерения сдвига максимума пика (рис. 2) или, зафиксировав определённую длину волны на одной из сторон пика, путём измерения количественного увеличения или уменьшения отражения (рис. 6).

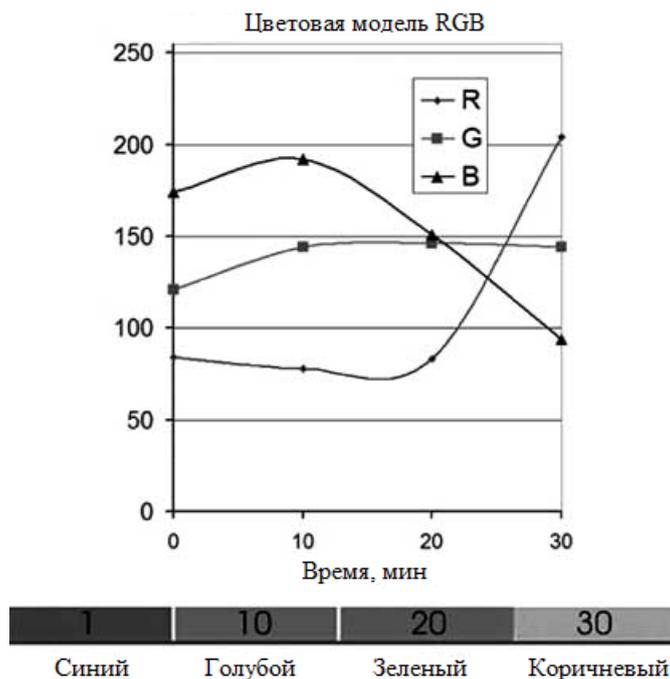


Рис. 6. RGB-сигнал с ДНК-сенсора. Измерение активности фермента ДНКаза1 в пробе (собственные данные)

Изучение спектрального сдвига с помощью оптоволоконных датчиков предполагается использовать в системах мониторинга присутствия веществ в реальном времени. С помощью измерения RGB-сигнала с использованием ПЗС-камеры предлагается оценивать функциональную активность ферментов или микроорганизмов.

## Заключение

Резонансное усиление поглощения света позволяет количественно преобразовывать любые изменения расстояния в нанометровом масштабе, включая изменения молекулярной структуры (например, конформации полимера), в оптический сигнал, который можно наблюдать непосредственно как изменение цвета поверхности сенсора, а также с помощью ПЗС-камеры (ПЗС — прибор с зарядовой связью) или фотометра. Считывание оптического сигнала такого сенсора можно провести как в аналоговом, так и в цифровом виде. При этом простота конструкции сенсорного элемента определяет малую себестоимость его производства.

Представленная измерительная система позволяет достаточно легко варьировать формат наносенсора от простого одиночного датчика на заданное вещество [2] или высокопроизводительного биосенсора на одном чипе [3] до сложного массива сенсорных элементов.

## Список литературы

- [1] AGRAWAL S. Nanosensors and their pharmaceutical applications: A review // Intern. J. of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology. 2012. Vol. 4, Issue 4. P. 1528–1535. Review Article.

- [2] STICH N., GANDHUM A., MATYUSHIN V. ET AL. Phage display antibody-based proteomic device using resonance-enhanced detection // J. of Nanoscience and Nanotechnology. 2002. Vol. 2, No. 3/4. P. 375–381.
- [3] MATYUSHIN V., RAUTER H., SCHALKHAMMER T. ET AL. Biosensors based on reactive thin films // 8th Intern. Conf. on Nanometer Scale Science and Technology (NANO-8), Venice, Italy, 2004. P. 122–128.

*Поступила в редакцию 29 ноября 2013 г.*