

II ежегодная всероссийская молодежная конференция
по методам и приборам для анализа биологических объектов

АналитБиоПрибор 2023

Сборник тезисов докладов

23-24 ноября 2023 г., Санкт-Петербург

Вторая ежегодная всероссийская молодежная конференция
по методам и приборам для анализа биологических объектов
«АналитБиоПрибор-2023»

Тезисы докладов
Второй ежегодной всероссийской молодежной
конференции по методам и приборам
для анализа биологических объектов
«АналитБиоПрибор-2023»

Санкт-Петербург
Издательско-полиграфическая ассоциация
высших учебных заведений
2023

УДК 53, 57, 60, 61, 62, 68

ББК 22.3, 28, 34.9

T29

Рецензенты:

А. С. Бердников, заведующий Лабораторией экологической масс-спектрометрии, главный научный сотрудник Института аналитического приборостроения РАН, д-р физ.-мат. наук

А. Л. Буляница, ведущий научный сотрудник Лаборатории информационно-измерительных био- и хемосенсорных микросистем Института аналитического приборостроения РАН, д-р физ.-мат. наук

Тезисы докладов Второй ежегодной всероссийской молодежной конференции по методам и приборам для анализа биологических объектов «АналитБиоПрибор-2023». — СПб.: Издательско-полиграфическая ассоциация высших учебных заведений, 2023. — 198 с.

23–24 ноября 2023 г. в Санкт-Петербургском национальном исследовательском академическом университете им. Ж. И. Алферова РАН проходила Вторая ежегодная всероссийская молодежная конференция по методам и приборам для анализа биологических объектов «АналитБиоПрибор-2023». На конференции были представлены новейшие результаты и достижения молодых ученых, которые сопровождались докладами ведущих специалистов в области аналитического приборостроения. На круглом столе прошла дискуссия о возможностях и перспективах развития российского научного приборостроения для решения актуальных биологических и медицинских задач. В сборнике представлены тезисы 67 докладов участников конференции.



Публикуется в авторской редакции

Составители и технические редакторы: А. С. Букатин, М. А. Иванова
Дизайн: Е. А. Кополева, А. В. Кретинаина, С. Е. Григорьева

Конференция проводится при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках проекта Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы (Соглашение № 075-15-2021-1057).

© Коллектив авторов, 2023
© Издательско-полиграфическая ассоциация высших учебных заведений, 2023

ISBN 978-5-91155-247-3

DOI 10.52565/9785911552473

Организаторы конференции

Институт аналитического приборостроения
Российской академии наук
Санкт-Петербургский национальный исследовательский
Академический университет им. Ж.И. Алферова
Российской академии наук
Санкт-Петербургский политехнический университет
Петра Великого

Индустриальный партнер

Научно-производственная компания Синтол

Программный комитет

А. А. Евстапов – *председатель*, д.т.н., директор ИАП РАН
А. С. Букатин – *секретарь*, к.ф.-м.н., доцент, зам. директора по научной работе ИАП РАН, с.н.с., СПбАУ РАН им. Ж.И. Алферова
В. Е. Курочкин – д.т.н., проф., руководитель научного направления «Методы и приборы генетического анализа» ИАП РАН
Я. И. Алексеев – к.б.н., директор по науке ООО «Синтол»
П. Н. Мелентьев – к.ф.-м.н., заведующий лабораторией Института спектроскопии РАН
А. И. Петров – к.т.н., ведущий инженер ИАП РАН
А. Ю. Зайцева – к.ф.-м.н., заведующая лабораторией ИАП РАН
И. С. Мухин – д.ф.-м.н., доцент, заведующий лабораторией СПбАУ РАН им. Ж.И. Алферова, директор Высшей инженерно-физической школы СПбПУ
А. В. Васин – д.б.н., профессор РАН, директор Института биомедицинских систем и биотехнологий СПбПУ

Организационный комитет

А. С. Букатин – *председатель*
В. В. Романова – *секретарь*
А. В. Крестина
И. С. Мухин

ПРОГРАММА КОНФЕРЕНЦИИ

23 НОЯБРЯ

9:30–10:00

Регистрация участников

10:00–10:10

Торжественное открытие конференции

10:10–10:30

Пленарный доклад

Рынок научных приборов для генетических исследований.

Конкурировать можно.

Алексеев Яков Игоревич

к.б.н., директор по науке ООО «Синтол»

10:30–11:30

Секция № 1

Приборы для молекулярно-генетических исследований

Модератор – директор по науке ООО «Синтол», к.б.н. Я. И. Алексеев

10:30–10:45 **Разработка оптического одномолекулярного секвенатора ДНК**

Букатин Антон Сергеевич

к.ф.-м.н., заместитель директора по научной работе

Института аналитического приборостроения РАН,

старший научный сотрудник Алферовского университета

10:45–11:00 **Матричный синтезатор олигонуклеотидов**

Гадиров Руслан Магомедтахирович

к.х.н., заведующий лабораторией аддитивных технологий

и инженерной биологии Томского государственного

университета систем управления и радиоэлектроники

11:00–11:15 **Разработка мультиплексной платформы на основе белкового биочипа в формате микропланшета для дифференциальной диагностики острых респираторных инфекций вирусной и бактериальной этиологии**
Васин Андрей Владимирович
д.б.н., профессор РАН, директор Института биомедицинских систем и биотехнологий СПбПУ, руководитель Отдела молекулярной биологии вирусов НИИ гриппа им. А. А. Смородинцева

11:15–11:30 **Биоаналитика - метрология в биологии**
Вонский Максим Сергеевич
к.б.н., руководитель НИО государственных эталонов и стандартных образцов в области биоаналитических и медицинских измерений ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева»

11:30–12:00

Кофе-брейк

12:00–13:30

Секция №2

Современные российские разработки в области биомедицинского приборостроения

Модератор – д.т.н., директор ИАП РАН А. А. Евстапов

12:00–12:15 **Современные приборы и методы пробоподготовки генетического материала**
Петров Дмитрий Григорьевич
к.т.н., заведующий сектором в лаборатории методов и приборов иммунного и генетического анализа Института аналитического приборостроения РАН

12:15–12:30 **Система мультиплексного анализа биомаркеров QuattroPlex Chip**
Монахова Полина Андреевна
инженер ООО «Айвок»

- 12:30–12:45 **Автоматический считыватель результатов ELISPOT анализа**
Воробьев Антон Александрович
инженер ООО «Троицкий инженерный центр»
- 12:45–13:00 **Автоматизированный мониторинг движения органелл и репликации клеток как основа нового аналитического подхода для биомедицинских и экологических задач**
Андреев Дмитрий Станиславович
PhD, генеральный директор ООО ИНЛАБС, старший научный сотрудник НИИ гриппа им. А. А. Смородиной
- 13:00–13:15 **Метод лазерной дифракции в цитологических исследованиях клеток крови**
Миндукшев Игорь Викторович
д.б.н., заведующий лабораторией Клеточные механизмы гомеостаза крови ИЭФБ РАН, научный руководитель ООО «Биомедицинские системы»
- 13:15–13:30 **Носимые датчики удаленного биомониторинга и их функциональные возможности**
Зайцева Анна Юрьевна
к.ф.-м.н., заведующий лабораторией Медико-аналитических методов и приборов Института аналитического приборостроения РАН

13:30–14:30

Обед

14:30–16:00

Секция №3

Микрофлюидные технологии в биомедицинском приборостроении

Модератор – к.ф.-м.н., доцент, заместитель директора по научной работе ИАП РАН А. С. Букатин

- 14:30–14:45 **Микрофлюидная платформа для синтеза монодисперсных водных микрокапель, микро- и наночастиц для биомедицинских применений**
Филатов Никита Алексеевич
к.т.н., основатель и генеральный директор ООО «ФЛИКСБИО», младший научный сотрудник Алферовского университета
- 14:45–15:00 **Микрофлюидная платформа для систем «орган-на-чипе»**
Рыжков Виталий Витальевич
научный сотрудник НОЦ «Функциональные Микро/Наносистемы» МГТУ им. Н. Э. Баумана
- 15:00–15:15 **Архитектура и методы изготовления систем «орган-на-чипе»**
Муравьева Любовь Николаевна
инженер НОЦ «Функциональные Микро/Наносистемы» МГТУ им. Н. Э. Баумана
- 15:15–15:30 **Автоматическая платформа для «point-of-care» или прикроватной диагностики на одноразовом картридже**
Пономарев Владимир Александрович
к.х.н., руководитель отдела ООО «Троицкий инженерный центр»
- 15:30–15:45 **Разработка высокочувствительных сенсоров на основе комбинации фотонных интегральных схем и микрофлюидных каналов для биомедицинских применений**
Кузин Алексей Юрьевич
аспирант Центра Фотоники и фотонных технологий Сколковского института наук и технологий

15:45–16:00 **Микрофлюидная интегрально-оптическая лаборатория-на-чипе для диагностики и сопровождения лечения заболеваний**
Чернышев Василий Сергеевич
PhD, заведующий Лабораторией биофотоники в ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В. И. Кулакова Минздрава РФ

16:00–16:30

Кофе-брейк

16:30–18:00

Круглый стол

Перспективы развития российского научного приборостроения для биомедицинских исследований

Модератор – к.ф.-м.н., доцент, заместитель директора по научной работе ИАП РАН А. С. Букатин

24 НОЯБРЯ

9:30–10:00

Регистрация участников

10:00–10:30

Пленарный доклад

Оптические методы для неинвазивного и непрерывного мониторинга в биологии и медицине

Горин Дмитрий Александрович
д.х.н., профессор, заведующий Лабораторией биофотоники Центра Фотоники и фотонных технологий Сколковского института наук и технологий

10:30–11:30

Секция №4

Наноструктуры для биомедицинских исследований

Модератор – д.ф.-м.н., доцент, директор Высшей инженерно-физической школы СПбПУ, заведующий лабораторией Возобновляемых источников энергии Алферовского университета И. С. Мухин

10:30–11:00 **Структуры на основе люминесцирующих квантовых точек для детектирования: возможности и ограничения**

Орлова Анна Олеговна

д.ф.-м.н., доцент, ведущий профессор, главный научный сотрудник, руководитель лаборатории «Гибридные наноструктуры для биомедицины» в НОЦ физики наноструктур Университета ИТМО

11:00–11:15 **Нитевидные полупроводниковые кристаллы как перспективная платформа сенсорики**

Большаков Алексей Дмитриевич

к.ф.-м.н., старший научный сотрудник Алферовского университета, заведующий лабораторией функциональных наноматериалов МФТИ

11:15–11:30 **Защита результатов интеллектуальной деятельности в области приборов и методов генетического анализа**

Белов Дмитрий Анатольевич

к.т.н., научный сотрудник Института аналитического приборостроения РАН

11:30–12:00

Кофе-брейк

12:00–13:30

Секция №5

Оптические методы исследования биологических систем

Модератор – д.ф.-м.н., заведующий лабораторией Института спектроскопии РАН П. Н. Мелентьев

- 12:00–12:15 **Плазмонные наноструктуры для неинвазивной диагностики живых клеток/органелл методом гигантского комбинационного рассеяния**
Новиков Сергей Михайлович
к.ф.-м.н., старший научный сотрудник МФТИ
- 12:15–12:30 **Комбинация фотонного кристалла и чувствительного монослоя из субмикронных частиц диоксида кремния для анализа выдыхаемого воздуха**
Зайцев Валерий Дмитриевич
аспирант Лаборатории наноматериалов Центра Фотоники и фотонных технологий Сколковского института наук и технологий
- 12:30–12:45 **Изменение проводимости единичной твердотельной нанопоры с помощью оптического излучения**
Лебедев Денис Владимирович
к.ф.-м.н., старший научный сотрудник Алферовского университета
- 12:45–13:00 **Опτικο-электронная система для анализа микроциркуляции в новообразованиях кожи**
Букова Валерия Игоревна
стажер-исследователь Научно-технологического центра уникального приборостроения РАН
- 13:00–13:15 **Голографическая релаксометрия и лазерная микроскопия люминесцирующих наночастиц и молекул**
Бородина Любовь Николаевна
аспирант МНОЦ Физики наноструктур, младший научный сотрудник лаборатории «Гибридные наноструктуры для биомедицины» Университета ИТМО
- 13:15–13:30 **Идентификация биоаэрозолей газовым проточным оптическим цитометром**
Попова Илона Юрьевна
магистрант 2-го года НИЯУ МИФИ

13:30–14:30

Обед

14:30–16:00

Секция №6

Доклады молодых ученых

Модератор – к.ф.-м.н., доцент, заместитель директора по научной работе ИАП РАН А. С. Букатин

- 14:30–14:40 **Разработка технологии производства микрофлюидных ячеек для массового параллельного секвенирования ДНК**
Малахова Мария Алексеевна
научный сотрудник ООО НПФ «Синтол», аспирант МГУ им. М. В. Ломоносова
- 14:40–14:50 **Капиллярная сборка в генетическом анализаторе «Нанофор 05»**
Бочарова Дария Владимировна
младший научный сотрудник Института аналитического приборостроения РАН
- 14:50–15:00 **Разработка технологий синтеза наноразмерного карбоната кальция с возможностью загрузки чувствительных биомолекул на единой микрофлюидной платформе**
Арабули Константин Вахтангович
аспирант Университета ИТМО
- 15:00–15:10 **Синтез металл-органических каркасов HKUST-1 методом капельной микрофлюидики**
Кулешова Алина Олеговна
студент Университета ИТМО
- 15:10–15:20 **Электрохимический сенсор на основе планарных электродов с молекулярно-импринтированным полимером для вольтамперометрического определения катехоламинов**
Хайруллина Дарина Юрьевна
младший научный сотрудник Казанского (Приволжского) Федерального Университета

- 15:20–15:30 **Фотометрическое определение вязкости неньютоновской жидкости в криволинейном канале**
Якимов Антон Сергеевич
младший научный сотрудник Сибирского федерального университета
- 15:30–15:40 **Упорядоченные пленки наночастиц золота для применения в усиленной рамановской спектроскопии**
Павлова Арина Андреевна
студент Университета ИТМО
- 15:40–15:50 **Усовершенствованная беспроводная электрофизиологическая система с открытым исходным кодом для регистрации нейронной активности *in vivo* в мозге мышей**
Винокуров Егор Константинович
лаборант Лаборатории молекулярной нейродегенерации Института биомедицинских систем и биотехнологий СПбПУ

16:00–17:30

Кофе-брейк и Постерная сессия

17:30–18:00

**Торжественное закрытие конференции
Награждение участников за лучшие стендовые доклады**

Стендовые доклады

1. Разработка микрофлюидного устройства «легкое-на-чипе» и методики интеграции в него клеточных структур
Алтынбаев Линар Алмазович
аспирант Алферовского университета
2. Мембранный микрофлюидный чип для моделирования барьерных тканей
Пауль Станислав Юрьевич
инженер-исследователь ООО «Троицкий инженерный центр»
3. Исследования применения микрокапель двойной эмульсии для многоступенчатого скрининга биообъектов
Белюсова Дарья Алексеевна
студент Алферовского университета
4. Получение сложноструктурных микрогелей с упорядоченно инкапсулированными клетками для использования в качестве моделей органов и тканей
Плешаков Павел Сергеевич
аспирант Алферовского университета
5. Исследование влияния разности потоков фаз в микрофлюидном генераторе на синтез липосомных наноносителей из ЕРС
Наумов Евгений Игоревич
аспирант Алферовского университета
6. Разработка и создание прототипа 3D-биопринтера для формирования клеточных структур из гидрогелевых микрочастиц
Тюшкевич Андрей Андреевич
аспирант Алферовского университета
7. Применение микрофлюидного чипа для регистрации состояния эритроцитов у онкологических больных
Тюрикова Ирина Андреевна
доцент и научный сотрудник Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого

8. Гидродинамические характеристики снарядного режима течения в двухфазных жидких системах в микроканале с соосно-сферическим микродиспергатором

Романова Вероника Вячеславовна

ведущий инженер Института аналитического приборостроения РАН

9. Получение качественных изображений сигналов флуоресценции в отечественном секвенаторе «Нанофор СПС»

Заруцкий Игорь Вячеславович

к.т.н., старший научный сотрудник Института аналитического приборостроения РАН

10. Моделирование сигналов из ZMW наноотверстий разных диаметров в оптическом тракте аппаратно-программного комплекса одномолекулярного секвенирования

Серов Егор Денисович

аспирант Института аналитического приборостроения РАН

11. Оптимальный выбор признаков для уменьшения размерности моделей машинного обучения в задаче base-calling

Бородинов Андрей Геннадьевич

к.ф.-м.н., старший научный сотрудник Института аналитического приборостроения РАН

12. Сравнение моделей машинного обучения в задачах классификации процедуры base-calling в приборах массового параллельного секвенирования

Сараев Алексей Сергеевич

инженер Института аналитического приборостроения РАН

13. Исследование влияния монохроматического излучения на транспортные свойства единичных SiN/Si нанопор

Ваулин Никита Васильевич

аспирант Алферовского университета

14. Исследование влияния нагрева на транспортные характеристики тонких SiN/Si мембран с помощью Si наночастиц

Афоничева Полина Константиновна

младший научный сотрудник ИАП РАН

15. Разработка метода изготовления ПВХ-мембран для ионоселективных электродов

Передкова Вера Евгеньевна

студент Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета, техник Института аналитического приборостроения РАН

16. Вольтамперометрическое определение гипоксантина на электродах, модифицированных оксидами иридия и висмута

Коряковцева Дарья

Казанский (Приволжский) федеральный университет

17. Программное обеспечение для анализа внутриклеточных потенциалов действия кардиомиоцитов

Пестрякова Лада Ивановна

студент магистратуры Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого

18. NELM – программное обеспечение для анализа биоимпедансных спектров высокого разрешения

Бойцова Наталья Андреевна

студент Алферовского университета

19. Технология создания литографических 25-мкм структур с помощью оборудования биологической лаборатории

Дубина Филипп Михайлович

студент Алферовского университета

20. Люминесцентные свойства гибридных структур на основе CdSe квантоворазмерных нанопластин и наночешуек восстановленного оксида графена в присутствии паров ацетонитрила

Болтенко Алексей Вячеславович

магистрант, инженер-исследователь лаборатории «Гибридные наноструктуры для биомедицины» МНОЦ Физики наноструктур Университета ИТМО

21. Получение анизотропных наночастиц для усиления поглощения колебательных переходов органических молекул

Афанасьева Александра Вячеславовна

инженер Международного научно-образовательного центра физики наноструктур Университета ИТМО

22. Анализ оптических свойств микросфер, допированных квантовыми точками

Курасова Камилла

студент магистратуры Университета ИТМО

23. Аprobация плазмонных наночастиц для создания низкопороговых микролазеров на основе полимерных микросфер

Соловьева Евгения Олеговна

аспирант Университета ИТМО

24. Разработка алгоритма коррекции рамановского и рэлеевского рассеяния при регистрации матриц возбуждения-излучения флуоресценции

Мокин Яков Игоревич

студент Алферовского университета

25. Исследование влияния размера суперпарамагнитных частиц оксида железа на агрегативную устойчивость в постоянном магнитном поле

Моисеева Екатерина Олеговна

аспирант Центра фотоники и фотонных технологий Сколковского института науки и технологий

26. Разработка метода оценки популяции HER2+ экзосом на основе функционализированных магнитных частиц, аптамеров и проточной флуориметрии

Кожевникова Дарья Дмитриевна

студент Центра фотоники и фотонных технологий Сколковского института науки и технологий

27. Разработка системы гибких электродов для нейрофизиологических исследований при моделировании хронической травмы спинного мозга

Сафаров Владислав Дмитриевич

студент Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого, лаборант Национального медицинского исследовательского центра детской травматологии и ортопедии им. Г. И. Турнера

28. Анализ глазо двигательных реакций в процессе определения тематических ролей в предложениях со сложной грамматикой

Просвирнина Татьяна Александровна

студент Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого

29. Оптимизация условий процесса проточного выделения нуклеиновых кислот

Зайцева Марина Вячеславовна

младший научный сотрудник Института аналитического приборостроения РАН

30. Масс-спектрометрическая методика контроля качества и состава молочной продукции

Лямина Юлия Владимировна

студент магистратуры Алферовского университета

31. Оценка оптических характеристик многокомпонентной биологической среды

Заневская Мария Юрьевна

студент Государственного университета аэрокосмического приборостроения, техник Института аналитического приборостроения РАН

32. Автоматизация медицинской лаборатории на преаналитическом этапе лабораторного исследования

Шмидт Инна Олеговна

студент Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого, заведующая клинико-диагностической лабораторией СПб ГБУЗ Клинической больницы Святителя Луки

РЫНОК НАУЧНЫХ ПРИБОРОВ ДЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ. КОНКУРИРОВАТЬ МОЖНО

**Я. И. Алексеев^{1, 2, *}, А. С. Букатин¹, А. В. Веретенников³, А. А. Евстапов¹,
В. Е. Курочкин¹
* jalex@syntol.ru**

*¹Институт аналитического приборостроения РАН, 198095,
Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А*

²ООО НПФ «Синтол», Москва

³АО «ЭЗАН», г. Черноголовка

История развития генетических технологий является ярким примером торжества научной мысли, изобретательности и, как следствие, стремительного роста рынка. Так, благодаря бурному развитию методов расшифровки последовательности ДНК — от классического секвенирования по Сенгеру до массового параллельного секвенирования и, наконец, одномолекулярного секвенирования, стоимость секвенирования генома человека в период с 2007 по 2015 г. упала более чем в 10 000 раз. По данным Precedence research [1], рынок геномных исследований является одним из наиболее динамично растущих (15–20 % ежегодно) и к 2030 г. составит около 100 млрд долларов.

Пока на мировом рынке геномных технологий доминируют американские, европейские и китайские компании. Тем не менее, в силу известных геополитических изменений, конъюнктура рынка как внутри России, так и за ее пределами изменилась, открыв окно возможностей отечественным разработчикам. Примером, убедительно демонстрирующим способность отечественных разработчиков конкурировать как внутри страны, так и за рубежом, является история разработанного в 2014 г. классического секвенатора ДНК «Нанофор 05» [2]. В настоящее время произведено более 250 приборов, из которых экспортировано около 10 %, причем положительная динамика продаж началась только в 2020 г., т. е. спустя 5 лет с начала вывода прибора на рынок. Это произошло в том числе благодаря системным действиям государства по обновлению приборного парка научных



Рис 1. Динамика производства и продаж генетических анализаторов «Нанофор 05»

организаций и поддержке отечественных производителей. В течение 2021–2023 гг. динамика производства и продаж сохраняет линейный рост с инкрементом + 20 приборов в год (рис. 1).

Успешно конкурировать оказалось возможно, объединив усилия нескольких организаций, составивших консорциум «Российские генетические технологии». Это Институт аналитического приборостроения РАН, ООО «НПФ Синтол» и АО «ЭЗАН». Освоив серийное производство приборов и предлагая клиентам готовое решение в виде: прибор, программное обеспечение, реактивы и расходные материалы, в настоящее время консорциум успешно конкурирует на внутреннем рынке с китайскими поставщиками, а на внешнем — также и с американскими. Данный положительный опыт необходимо активно распространять на внедрение отечественных технологий секвенирования следующих поколений — массовое параллельное (прибор «Нанофор СПС») и одномолекулярное (прибор АПКОС) [3], а также на другие востребованные на рынке научных и клинических исследований технологии, приборы и методы, такие как цифровая ПЦР, изотермические методы амплификации, мобильные приборы персонализированной медицины. При этом особое внимание необходимо уделять переходу на отечественную компонентную базу по мере появления конкурентоспособных комплектующих.

Литература

1. <https://www.precedenceresearch.com/genomics-market>.
2. Алексеев Я. И., Белов Ю. В., Малюченко О. П., Монахова Ю. А., Натыров А. Н., Орехов В. А., Коновалов С. В., Курочкин В. Е., Петров А. И. Генетический анализатор для фрагментного анализа ДНК // Научное приборостроение. 2012. Т. 22. № 4. С. 86–92.
3. Букатин А. С., Алексеев Я. И., Петров Д. Г., Курочкин В. Е., Евстапов А. А. Импортозамещение: отечественные приборы для молекулярно-генетического анализа // Экономические стратегии. 2023. Т. 25. № 3 (189). С. 36–41.

РАЗРАБОТКА ОПТИЧЕСКОГО ОДНОМОЛЕКУЛЯРНОГО СЕКВЕНАТОРА ДНК

А. С. Букатин^{1,2,*}, П. Н. Мелентьев³, Я. И. Алексеев^{1,4}, А. И. Петров¹,
В. Е. Курочкин¹, А. А. Евстапов¹
* antbuk.fiztek@gmail.com

¹Институт аналитического приборостроения РАН, 198095,
Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А

²СПбАУ РАН им. Ж. И. Алферова, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 8,
к. 3, лит. А

³Институт спектроскопии РАН, 108840, Москва, Троицк, ул. Физическая, 5

⁴ООО НПФ «Синтол», г. Москва

Секвенирование ДНК является ключевой технологией, на которой основывается большинство современных генетических исследований и разработок, поскольку позволяет напрямую определять последовательность нуклеиновых кислот. Несмотря на то, что консорциум проекта «Геном человека» в 2003 г. опубликовал полный геном человека, только в 2022 г. исследователям удалось секвенировать последние 8 % генома, включающие в основном теломерные и центромерные области

хромосом, состоящие из преимущественно повторяющихся последовательностей нуклеотидов [1]. Сделать это удалось с помощью технологий секвенирования 3-го поколения, выведенных на рынок компаниями Pacific Bioscience (США) и Oxford Nanopore (Великобритания). Эти технологии не требуют стадии амплификации и, являясь технологиями одномолекулярного секвенирования, позволяют читать фрагменты молекул ДНК длиной несколько десятков тысяч пар оснований.

В настоящее время в Институте аналитического приборостроения РАН совместно с коллегами из Института спектроскопии РАН, МГТУ им. Н. Э. Баумана, ФИЦ информационных и вычислительных технологий и ООО «Синтол» заканчивается разработка полностью российского опытного образца одномолекулярного секвенатора ДНК. В его основе лежит технология оптического одномолекулярного секвенирования [2]. Ключевым элементом секвенатора является реакционная ячейка, представляющая собой кварцевую подложку, покрытую алюминиевой пленкой толщиной ~100 нм, в которой методом электронной литографии сформирован массив из более чем 100 тыс. волноводов нулевой моды, представляющих собой наноколодцы диаметром ~100 нм. С помощью автоматического дозатора блока пробоподготовки в ячейку загружается библиотека молекул ДНК для секвенирования. Она представляет собой набор кольцевых молекул ДНК, связанных с ДНК-полимеразой и закрепленных на магнитных частицах для загрузки в волноводы нулевой моды. В качестве ДНК-полимеразы используется высокопроцессивный фермент собственной разработки, полученный на основе ДНК-полимеразы фага phi29. Внесенные модификации позволили термостабилизировать фермент, снизить скорость его работы и обеспечить его иммобилизацию на поверхности. После загрузки комплексов ДНК-полимеразы в волноводы нулевой моды автоматический манипулятор перемещает ячейку из станции загрузки в оптический детектор. После добавления флуоресцентно-меченых нуклеотидгексафосфатов оптический детектор начинает регистрировать сигналы флуоресценции от нуклеотидов, которые ДНК-полимераза встраивает в синтезируемую комплементарную цепочку ДНК. За счет проведения реакции в волноводах нулевой моды возбуждение флуоресценции нуклеотидов происходит только вблизи их дна, что позволяет снизить паразитную люминесценцию красителей,

находящихся в реакционной смеси, и обеспечить детектирование флуоресценции от одиночных нуклеотидов. Определение их типа осуществляется по спектру флуоресценции за счет спектрального разложения регистрируемых сигналов с помощью призмы.

Экспериментальные исследования показали, что реакция секвенирования наиболее эффективно протекает первые 60 минут после начала, в течение которых осуществляется регистрация нуклеотидных последовательностей ДНК длиной до 20 тыс. пар оснований. После завершения секвенирования манипулятор перемещает реакционную ячейку в контейнер для сброса и запускает секвенирование в следующей ячейке. Всего за один запуск прибора возможно проведение секвенирования в полностью автоматическом режиме в 16 реакционных ячейках, что обеспечивает большую производительность и эффективность работы. Разработанный одномолекулярный секвенатор ДНК найдет применение в крупных геномных центрах для проведения полногеномного секвенирования как геномов человека, так и сельскохозяйственных растений и животных, а также микроорганизмов и вирусов. В перспективе секвенатор сможет определять не только последовательности нуклеотидов в молекулах ДНК, но и их эпигенетические модификации за счет анализа времени встраивания нуклеотидов полимеразой в процессе синтеза комплементарной цепи ДНК [3].

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках проекта Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы (Соглашение № 075-15-2021-1057).

Литература

1. *Nurk S. et al.* The complete sequence of a human genome // *Science*. 2022. 376. P. 44–53.
2. *Eid J. et al.* Real-Time DNA Sequencing from Single Polymerase Molecules // *Science*. 2009. Vol 323, issue 5910. P. 133–138.
3. *Flusberg B. A.* Direct detection of DNA methylation during single-molecule, real-time sequencing // *Nature Methods*. 2010. Vol. 7. P. 461–465.

МАТРИЧНЫЙ СИНТЕЗАТОР ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ

Р. М. Гадиров^{1*}, Э. Р. Рагимов¹, В. А. Новиков¹, В. В. Капустин¹,
И. С. Довыденко², А. Г. Лоцилов¹
* grm882@ngs.ru

¹Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники, 634050, г. Томск, просп. Ленина, 40

²Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск

В связи с бурным развитием генетических исследований возникла большая потребность в библиотеках олигонуклеотидов (массивы разнообразных одноцепочечных фрагментов ДНК/РНК). Так, для секвенирования нового поколения (NGS) требуется база, содержащая от нескольких десятков тысяч до сотен тысяч разнообразных олигонуклеотидов. Классические синтезаторы не способны в короткие сроки обеспечить синтез таких библиотек, поскольку, даже самые современные приборы планшетного типа позволяют вести синтез в 1536 реакторах (4 планшета по 384 лунки), а большинство планшетных синтезаторов работают с одиночными планшетами на 96 лунок. К тому же те масштабы синтеза (нано- и микромоли), которые обеспечивают планшетные синтезаторы, оказываются избыточными для ряда задач.

Для высокопроизводительного синтеза используются технологии струйной печати, фотоактивационный синтез (фотолитография) и электроактивационный синтез, имеющие свои достоинства и недостатки. Во всех указанных технологиях применяются разновидности автоматизированного твердофазного синтеза с использованием фосфорамидитов. Для электроактивационного синтеза [1] используют специальные полупроводниковые подложки — чипы с массивом микроэлектродов, на каждом из которых и выполняется синтез. Такие подложки сложны в изготовлении и имеют ограниченный ресурс работы. При фотоактивации требуются дорогие фосфорамидиты с фоточувствительными группами [2]. Технология струйной печати [3] может работать со стандартными реагентами по традиционной

схеме синтеза, однако сложна в реализации самого прибора, поскольку требуется прецизионная система дозирования и перемещения.

На основе технологии струйного дозирования нами был разработан макет матричного синтезатора олигонуклеотидов (рис. 1), включающий высокоточный координатограф, пьезоэлектрические головки, шприцевую станцию, подсистему технического зрения и вспомогательные узлы, обеспечивающие стабильную работу системы.

Для обеспечения протекания реакции в инертной атмосфере система расположена внутри камеры с атмосферой аргона.

Шприцевая станция, включающая от 8 до 16 шприцевых дозаторов, обеспечивает подачу реагентов из емкостей через трубки в пьезодозаторы, а также осуществляет групповые операции заливки объемами реагентов от 2 до 250 мкл. Также шприцевые дозаторы позволяют выполнять набор малых количеств дорогих реагентов непосредственно через пьезодозаторы (режим аспирации).

Набор одноканальных пьезоэлектрических дозаторов обеспечивает стабильное формирование капель реагентов с заданным объемом от 200 до 800 пл и частотой вылета до 1,5 кГц. В отличие от большинства печатающих головок, работающих с чернилами вязкостью 10–15 мПа×с, используемые в системе пьезодозаторы рассчитаны на жидкости с вязкостью до 1,5 мПа×с.

Контроль вылета капель осуществляется по камере высокого разрешения со стробоскопическим подсветом. Периодический вылет капель синхронизирован со срабатыванием подсвета и временным

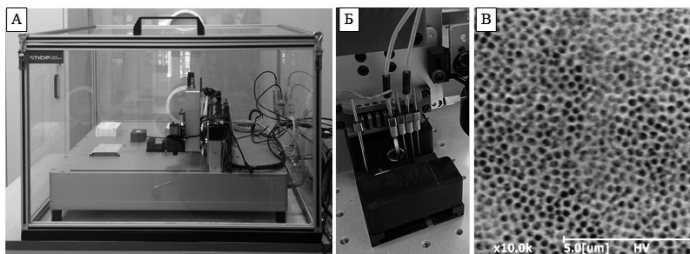


Рис. 1. Внешний вид макета системы (А), пьезоэлектрического дозатора в позиции стробоскопической камеры (Б) и микрофотография пористой подложки (В)

окном регистрации камеры, в результате чего каждый кадр видеоряда отображает положение разных капель в одном и том же положении. Неподвижное изображение капли в процессе регистрации говорит о стабильности дозирования.

Обзорная камера, установленная вместе с пьезодозаторами, позволяет регистрировать подложку, определять точные координаты спотов и проводить калибровку по положению дозаторов.

Синтез осуществляется на поверхности тонких пористых подложек, расположенных на столике с вакуумной откачкой. Такая схема позволяет использовать стандартный набор реагентов для олигосинтеза, поскольку удаление жидкостей из зоны реакции происходит сквозь подложку.

Вертикальная канальная структура пор на подложке не дает жидкости растекаться в горизонтальном направлении, что позволяет достигать высокой плотности спотов. В пределе при объемах капель 400 пл плотность спотов может достигать 1200 шт/см². Кроме того, пористая структура подложки имеет большую площадь поверхности. Так, подложка толщиной 100 мкм, пористостью 10 % и диаметром пор 200 нм имеет площадь поверхности в 200 раз большую по сравнению с гладким стеклом.

На заключительном этапе работ по проекту будет создан экспериментальный образец системы.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке ФНТП развития генетических технологий на 2019–2027 годы. Соглашение № 075-15-2021-1059.

Литература

1. *Maurer K. et al.* Electrochemically generated acid and its containment to 100 micron reaction areas for the production of DNA microarrays // PLoS One. 2006. Vol. 1. № 1. P. e34.
2. *Sinyakov A. N. et al.* New photoacids in microarray synthesis of oligonucleotides // Journal of Saudi Chemical Society. 2023. Vol. 27. № 6. P. 101709.
3. *Hughes T. R. et al.* Expression profiling using microarrays fabricated by an ink-jet oligonucleotide synthesizer // Nature biotechnology. 2001. Vol. 19. № 4. P. 342–347.

РАЗРАБОТКА МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ПЛАТФОРМЫ НА ОСНОВЕ БЕЛКОВОГО БИОЧИПА В ФОРМАТЕ МИКРОПЛАНШЕТА ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ИНФЕКЦИЙ ВИРУСНОЙ И БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЭТИОЛОГИИ

**А. В. Васин^{1, 2, *}, С. М. Шишлятников^{1, 2}, Б. В. Пичеев^{1, 2}, А. Ю. Плеханов¹,
М. Н. Рязанцев¹, Е. А. Елпаева¹, М. П. Грудинин¹**
* andrey.vasin@influenza.spb.ru

¹ *ФГБУ «НИИ гриппа им. А. А. Смородиной» Минздрава России, 197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 15/17*

² *Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, 195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, д. 29*

Нерациональное использование антибиотиков при лечении острых респираторных заболеваний может приводить к нежелательным побочным эффектам. Снижения количества применяемых антибиотиков можно достичь путем ранней диагностики острых респираторных заболеваний с целью дифференцировки инфекций вирусной и бактериальной этиологии, что позволит своевременно назначать этиотропную терапию в самом начале заболевания, предупредить развитие вторичных инфекций разной этиологии, ограничить применение антибиотиков.

Одним из способов быстрой и точной дифференциации этиологии заболевания является проведение количественного и/или полуколичественного анализа биомаркеров. В лабораторной диагностике для этой цели может использоваться как один биомаркер, к примеру наиболее часто используемый для оценки риска возникновения бактериальной инфекции и дальнейшего прогрессирования заболевания прокальцитонин (PCT), так и несколько различных биомаркеров одновременно. В настоящее время мультиплексные методы, основанные на одновременном детектировании нескольких биомаркеров, считаются наиболее перспективными и позволяют увеличить надежность и количество одновременно получаемой информации [1, 2].

В докладе будет представлена разрабатываемая нами платформа для мультиплексной высокочувствительной молекулярной диагностики маркеров воспаления, позволяющая в автоматическом режиме и с высокой точностью дифференцировать острые респираторные инфекции вирусной и бактериальной этиологии. В основе лежит мультиплексное выявление белков CRP (С-реактивный белок острой фазы воспаления, уровень которого повышается при наличии бактериальной инфекции), МхА (интерферон-стимулируемый белок, экспрессия которого происходит, как правило, в ответ на вирусную инфекцию) и PCT. Для выявления указанных белков в сыворотке или плазме крови пациента используется белковый биочип, который имеет традиционный формат 96-луночного иммунологического планшета (микропланшета). Для анализа данных используется разработанный нами флуоресцентный планшетный ридер, оснащенный специальным программным обеспечением для обработки данных [3].

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Минздрава России (соглашение № 056-03-2023-011).

Литература

1. *Taraskin A. S., Semenov K. K., Lozhkov A. A., Baranovskaya I. L., Protasov A. V., Ramsay E. S., Tyulin A. A., Mirgorodskaya O. A., Vasin A. V., Klotchenko S. A., Zbrodskaya Y. A.* A novel method for multiplex protein biomarker analysis of human serum using quantitative MALDI mass spectrometry // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2022. 210. P. 114575.
2. *Van Gool A., Corrales F., Čolović M., Krstić D., Oliver-Martos B., Martínez-Cáceres E., Sammar M.* Analytical techniques for multiplex analysis of protein biomarkers // *Expert review of proteomics*. 2020. 17 (4). P. 257–273.
3. *Клотченко С., Жан-Мишель Б., Плотникова М. А., Саканцев А. А., Васин А. В., Готлиб В., Елохин В.* Анализатор для регистрации и обработки флуоресцентных изображений биочипов // *Медицинская техника*. 2020. 1. С. 1–4.

БИОАНАЛИТИКА — МЕТРОЛОГИЯ В БИОЛОГИИ

М. С. Вонский^{1,*}

* m.s.vonsky@vniim.ru

*¹Всероссийский научно-исследовательский институт метрологии
им. Д. И. Менделеева, 190005, Санкт-Петербург, Московский пр., 19*

После подписания Метрической конвенции (1875 г) на протяжении длительного времени деятельность Международного бюро мер и весов (МБМВ) была сосредоточена на обеспечении единства измерений физических величин. Постепенное расширение конвенции завершилось принятием на 11-й ГКМВ (1960 г.) международной системы единиц SI, в которую вошли единицы 6 основных физических величин — длины, массы, времени, силы электрического тока, термодинамической температуры и силы света. Развитие химии, потребности химической промышленности обусловили введение в систему SI в 1971 г. новой величины — количества вещества (единица величины — моль) и организацию в структуре МБМВ в 1993 г. нового Консультативного комитета по количеству вещества (КККВ), отвечающего за разработку, совершенствование и документирование эквивалентности национальных референтных систем в области химических измерений. Произошедший в конце XX в. бурный рост биотехнологий, включая агробиотехнологию и связанные с этим потребности международной торговли, потребовал создания метрологической инфраструктуры, обеспечивающей получение точных, сопоставимых результатов измерений биологических параметров. В 2001 г. в составе КККВ была создана рабочая группа по биоанализу — РГБА.

Предметом биоанализа являются измерения биологически значимых параметров макромолекул или их комплексов, имеющих биологическое происхождение. Измерения включают в себя идентификацию и количественное определение активных макромолекул, опосредующих определенную биологическую функцию, в сложных матрицах и смесях; количественное определение специфических

параметров этих макромолекул; количественное определение параметров межмолекулярных взаимодействий. Перед РГБА были поставлены задачи установления прослеживаемости результатов измерений биологических параметров к единицам системы SI или к первичным референтным методикам измерений, определения подходов к исследованиям качественных свойств и установления метрологической прослеживаемости результатов этих исследований.

В работах РГБА в период 2001–2014 гг. приняли участие представители 25 национальных метрологических институтов и международных организаций, Российская Федерация начиная с 2004 г. была представлена специалистами ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева». Большая часть исследований, проведенных РГБА в форме пилотных сличений и ключевых сличений на высшем уровне точности, была связана с измерениями количественных характеристик нуклеиновых кислот, были начаты работы, связанные с измерениями характеристик белков и клеток.

В связи с возрастанием объема исследований, числа проводимых сличений в 2014 г. была проведена реорганизация РГБА с выделением трех рабочих групп, разделенных по основным биологическим анализам — Рабочей группы по анализу нуклеиновых кислот (РГНА), Рабочей группы по клеточному анализу (РГКА) и Рабочей группы по анализу белков (РГБА). Вместе с этим изменилось название Консультативного комитета — Консультативный комитет по количеству вещества: метрология в химии и биологии. Основной задачей рабочих групп является поддержка глобальной сопоставимости и метрологической прослеживаемости результатов измерений в соответствующей их специфике области измерений.

Проводимые под эгидой КККВ международные пилотные и ключевые сличения служат для подтверждения заявляемых национальными метрологическими институтами калибровочных и измерительных возможностей (КИВ), фиксируемых в базе данных МБМВ. С нашим участием рабочими группами проведен целый ряд сличений, направленных на развитие метрологического обеспечения измерений в области здравоохранения и продуктовой безопасности. Применение метода цифровой полимеразной цепной реакции

позволило реализовать SI-прослеживаемые измерения числа копий последовательности ДНК как исчисляемой величины, прослеживаемой к естественной единице системы SI — «один». По результатам ключевых сличений ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева» подтверждена первая для Российской Федерации КИВ в области измерений отношения числа копий последовательностей ДНК.

Развиваемые НМИ измерительные возможности в области клеточного анализа пока не позволяют провести соответствующие ключевые сличения, в области белкового анализа проведен ряд ключевых сличений, направленных на подтверждение компетенций НМИ в области измерений массовой доли и чистоты пептидов.

Измерения числа копий последовательности РНК включают SI-непрослеживаемый шаг обратной транскрипции, в связи с чем особенно важны работы по обеспечению сопоставимости результатов подобных измерений. В рамках пилотных сличений были исследованы возможности НМИ по выполнению измерений содержания последовательностей РНК из состава геномов вирусов HIV-1 и SARS-CoV-2. Результаты пилотных сличений позволили провести в 2023 г. ключевые сличения КККВ и начать работы над программой МБМВ по подготовке НМИ к противодействию следующей пандемии.

В 2021 г. перед ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева» была поставлена задача по созданию Государственного первичного эталона единицы числа копий последовательности ДНК. Завершение работ в 2024 г. позволит обеспечить на национальном уровне необходимую точность выполняемых измерений нуклеиновых кислот, обеспечить их метрологическую прослеживаемость.

СОВРЕМЕННЫЕ ПРИБОРЫ И МЕТОДЫ ПРОБОПОДГОТОВКИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

Д. Г. Петров^{1,*}, Е. Д. Макарова¹, И. Е. Антифеев¹, М. В. Зайцева¹
* dimoon88@mail.ru

¹*Институт аналитического приборостроения РАН, 198095,
Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А*

Современные методы анализа ДНК и РНК, такие как полимеразная цепная реакция в реальном времени, секвенирование или петлевая изотермическая амплификация, предъявляют достаточно высокие требования к чистоте целевого продукта для последующего анализа [1]. Одними из определяющих факторов, влияющих на качество подготовки генетического материала, являются человеческий фактор и исходный состав пробы, из которой необходимо выделить ДНК и/или РНК. Для уменьшения или исключения влияния человеческого фактора создают автоматизированные приборы и системы для выделения нуклеиновых кислот. Многообразие видов проб, в которых находится целевой продукт для молекулярного генетического анализа, создает предпосылки для создания множества различных приборов и методик, нацеленных на выделение ДНК/РНК из проб определенного вида и состава. Создание универсальных высокоэффективных методов и приборов при этом является в настоящее время задачей, не решенной полностью. Самыми распространенными методами на сегодняшний день являются твердофазные методы выделения и очистки нуклеиновых кислот. Во многом благодаря своей доступности и относительной простоте реализации именно эти методы лежат в основе методик, которые реализуют автоматизированные приборы для выделения нуклеиновых кислот (НК) [2].

Современные приборы для выделения НК можно условно разделить на устройства, реализующие выделение на планшетах и на отдельных картриджах. При этом риски контаминации накладывают ограничения на работу с пробами с низкой концентрацией НК. Реализация автоматического выделения на одноразовых картриджах имеет существенные преимущества в степени защиты от

контаминации. При этом производительность такого подхода увеличивают за счет создания систем одновременной параллельной обработки одноразовых картриджей.

Одними из самых распространенных представителей автоматизированных приборов планшетного типа являются QuickGene-810 (Германия), GenoXtract (Германия), MagCore HF16 (48) (Тайвань), Tescan freedom evo (Швейцария, Австрия). Самыми популярными представителями приборов картриджного типа являются BioRobot EZ1 (Германия), GeneXpert (1–16) (США), QIASymphony SP, Система FILMARRAY (США).

Среди отечественных разработок стоит отметить Комплекс КВНК (ИАП РАН г. Санкт-Петербург) — прибор картриджного типа, ДТ стрим («ДНК Технология» г. Москва) — автоматизированную станцию планшетного типа.

Помимо автоматизированных станций выделения и очистки НК существуют приборы, реализующие в автоматическом режиме анализ выделенных целевых молекул. В основном такие приборы реализуют ПЦР-РВ или изотермическую амплификацию.

Существующее многообразие приборов и методов выделения НК показывает высокую актуальность разработки и совершенствования таких устройств. Разбор и оценка влияния наиболее важных параметров пробы и характеристик методов выделения позволяет не только сформулировать необходимые требования к приборам по автоматическому выделению НК, но и повысить достоверность всего анализа в целом, т. к. особенности пробоподготовки в ряде случаев могут оказывать решающее влияние на результат анализа пробы в целом [2].

Литература

1. Курочкин В. Е., Алексеев Я. И., Петров Д. Г., Евстапов А. А. Отечественные приборы для молекулярно-генетического анализа: разработки ИАП РАН и ООО «Синтол» // Известия Российской военно-медицинской академии. 2021. Т. 40. № 3. С. 69–74. DOI 10.17816/gmmar76918.
2. Петров Д. Г., Макарова Е. Д., Гермаш Н. Н., Антифеев И. Е. Методы выделения и очистки ДНК из лизатов клеток (обзор) // Научное приборостроение. 2019. Т. 29. № 4. С. 28–50. DOI 10.18358/np-29-4-i2850.

СИСТЕМА МУЛЬТИПЛЕКСНОГО АНАЛИЗА БИОМАРКЕРОВ QUATTROPLEX CHIP

П. А. Монахова¹, Я. Н. Горев^{1,*}, П. В. Шалаев¹, С. А. Долгушин¹
* fox1002010@mail.ru

¹ООО «Айвок», 124498, Москва, г. Зеленоград, проезд 4922, дом 4, строение 5, этаж 4, пом. I, ком. 49, 50

Иммунофлуоресцентный анализ (ИФА) — распространенный метод определения антигенов, применение которого стало возможным благодаря современным технологиям и высокоточным приборам. ИФА предоставляет исследователям возможность точно обнаруживать и визуализировать целевые молекулы с использованием флуоресцентных меток в различных биологических образцах.

Развитием классического метода ИФА является мультиплексный иммунофлуоресцентный анализ (МИА) на основе спектрально-кодированных микросфер. Мультиплексный анализ позволяет определять десятки аналитов одновременно в небольшом объеме образца. Ключевым компонентом, без которого невозможно использование этого метода, является современное оборудование, специально разработанное для проведения МИА.

Один из самых простых и доступных приборов для проведения МИА — анализатор MAGPIX от компании Luminex, США. Данный прибор способен выполнять до 50 различных тестов в одном образце и в настоящее время успешно применяется для анализа широкого спектра биомаркеров.

Однако существующий прибор имеет ряд недостатков. Во-первых, стоит отметить необходимость пользователя контактировать с едкими промывочными жидкостями и образовавшимися отходами при работе с этим прибором. Также трубки флюидной системы могут засоряться, что может приводить к нарушениям работы прибора и снижению точности анализа. Для доставки пробы к оптической системе прибора требуется большой объем специальной буферной жидкости, что повышает стоимость анализа. При решении задач,

связанных с анализом от одной пробы малого объема (до 20 мкл), например при диагностике глазных заболеваний, использование анализатора MAGPIX не является оптимальным, поскольку потребует расхода дополнительных жидкостей и большого количества пробы.

Для более эффективного выполнения такого рода задач российской компанией ООО «Айвок» был разработан и запущен в серийное производство прибор QuattroPlex Chip (рис. 1).

Разработанная конструкция прибора предполагает анализ с использованием одноразовых картриджей [1]. Анализируемая проба объемом всего 16 мкл вносится непосредственно в одноразовый картридж. Высокочувствительная научная камера с КМОП-матрицей, используемая в устройстве, обеспечивает высокую точность анализа, не уступающую анализатору MAGPIX.

Использование одноразовых картриджей в системе QuattroPlex Chip исключает необходимость использования флюидной системы, что обеспечивает уменьшение габаритов и веса устройства по сравнению с аналогами, позволяя использовать его в пунктах мобильной диагностики. Также использование одноразовых картриджей исключает ошибки анализа и дополнительный расход реагентов, связанные с загрязнением флюидной системы в ходе ее эксплуатации. При этом использование магнитных флуоресцентных микросфер, кодированных различными флуоресцентными красителями, позволяет проводить анализы с высокой степенью мультиплексности и обнаруживать до 50 аналитов в одном образце. Являясь открытой системой, QuattroPlex Chip позволяет использовать любые доступные тест-системы на основе магнитных кодированных микросфер для анализа



Рис. 1. Система мультиплексного анализа биомаркеров QuattroPlex Chip

широкого спектра биомаркеров (ревматология, аутоиммунные заболевания, HLA, цитокины, инфекции).

Таким образом, разработанная система QuattroPlex Chip позволяет проводить мультиплексный анализ в малых объемах пробы без необходимости использования лишних дорогостоящих реагентов, а компактные размеры позволяют разместить устройство даже в мобильной лаборатории.

Дальнейшая деятельность компании ООО «Айвок» направлена на разработку мультиплексного анализатора, выступающего российским аналогом прибора MAGPIX, предназначенного для анализа образцов в 96-луночных планшетах.

Литература

1. Шалаев П. В., Бондина Е. В., Селезнев В. Н., Долгушин С. А. Общество с ограниченной ответственностью «Айвок». Устройство для мультиплексного иммунофлуоресцентного анализа с использованием одноцветных картриджей. Патент на полезную модель № 212243. Заявл. от 29.12.2021. Оpubл. 12.07.2022.

АВТОМАТИЧЕСКИЙ СЧИТЫВАТЕЛЬ РЕЗУЛЬТАТОВ ELISPOT-АНАЛИЗА

А. А. Воробьев^{1,*}, А. Н. Осокин¹, К. В. Колесниченко¹

* vorobyev@trdc.com

¹ООО «Троицкий Инженерный Центр», 108840, Москва, вн. тер. г. городской округ Троицк, г. Троицк, ул. Академика Франка, д. 16

ELISPOT-анализ как лабораторный метод исследования Т-клеточного иммунитета становится все более популярным. В мире существует три компании, которые производят такие анализаторы: AID (Германия), FluoroSpot (США), Mabtech (Швеция). Зарубежные

аналоги более не поставляются в Россию, к тому же ни один из приборов не имеет регистрационного удостоверения Минздрава России и не может официально использоваться для постановки диагноза. Российский считыватель результатов ELISPOT-анализа до настоящего момента отсутствовал.

Команда разработчиков из Троицкого инженерного центра спроектировала аппаратно-программный комплекс (АПК), не уступающий иностранным аналогам (рис. 1). АПК состоит из нескольких узлов: лоток для перемещения и загрузки планшета, камера, система перемещения камеры, подсветка и система настройки фокуса.

Процедура считывания результатов анализа устроена следующим образом: после включения прибора оператор запускает специализированное пользовательское программное обеспечение (ПО) на персональном компьютере (ПК). С помощью ПО пользователь открывает лоток, устанавливает в него 96-луночный планшет и закрывает лоток. После чего запускает сканирование (фотографирование) каждой лунки планшета. Полученные фотографии обрабатываются с помощью алгоритмов машинного зрения. В каждой лунке планшета распознаются пятна (если они имеются). Каждое распознанное пятно обрабатывается и анализируется. В результате обработки у каждого пятна есть свои характеристики: размер, интенсивность

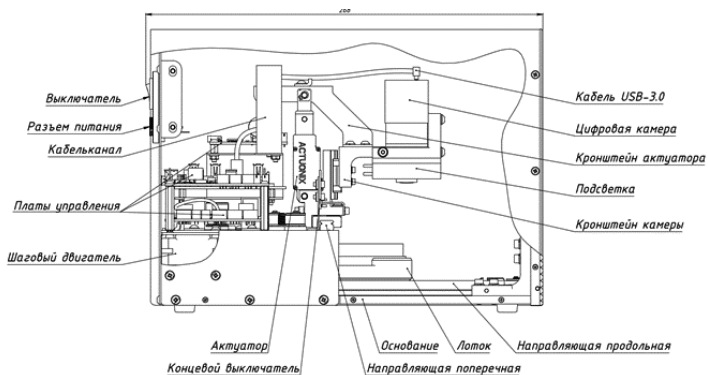


Рис. 1. Схематическое изображение автоматического считывателя результатов ELISPOT-анализа

и градиент. ПО позволяет пользователю настраивать фильтры таким образом, чтобы сортировать пятна по тем или иным критериям. Результатом анализа является число пятен в каждой лунке. По окончании анализа все полученные данные импортируются в формате электронной таблицы на ПК и передаются в лабораторную информационную систему (ЛИС) для дальнейшей постановки диагноза.

АВТОМАТИЗИРОВАННЫЙ МОНИТОРИНГ ДВИЖЕНИЯ ОРГАНЕЛЛ И РЕПЛИКАЦИИ КЛЕТОК КАК ОСНОВА НОВОГО АНАЛИТИЧЕСКОГО ПОДХОДА ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКИХ И ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАДАЧ

Д. С. Андреев^{1,2,*}, Е. Е. Лебедев¹, В. Д. Худышкин¹

*** dan14444@yahoo.com**

¹*X-БИО, Тюменский государственный университет, г. Тюмень*

²*НИИ гриппа имени А. А. Смородинцева, г. Санкт-Петербург*

Разработан новый многофункциональный аналитический подход, основанный на мониторинге движения органелл и репликации иммобилизованных клеток (ОРМ). ОРМ сочетает анализ жизнеспособности клеток, метаболической и репродуктивной активности клеток, а также репродуктивных аберраций в последовательности поколений.

В приложении к клеточным сенсорам на основе иммобилизованных пениатных диатомей этот метод (ДОРМ) может быть использован для медицинского биоиндустриального и экологического мониторинга сред на присутствие неизвестных токсинов, патогенов и их комбинаций. Максимально удлинённые пениатные диатомеи (например, *Ulnaria ulna*, *Synedra acus*) в качестве ОРМ-сенсора обладают следующими преимуществами: 1) движение органелл почти одномерно, что упрощает

автоматический анализ изображений; 2) силоксановые группы поверхности фрустулы, большое пятно контакта и минимальная гидродинамическая нагрузка, обеспечиваемые удлинённой формой, упрощают иммобилизацию; 3) удлинённая форма позволяет ориентировать клетки перед иммобилизацией, гидродинамически и/или электромагнитно; 4) оппозитное расположение тек, лишь одна из которых задействуется в иммобилизации, позволяет иммобилизованным клеткам беспрепятственно делиться, а потомству — покидать сайт репликации с потоком среды; 5) среда для выращивания диатомей непригодна для роста хемотрофов, что обеспечивает частичную устойчивость к биоконтаминации; 6) деление клеток и рост тек зависят от наличия кремния в среде, диатомовые водоросли могут извлекать и, соответственно, детектировать низкие концентрации этого элемента; при недостатке кремния деление останавливается, но клетки остаются полностью жизнеспособными, что удобно для их использования в качестве сенсора; 7) в присутствии аналогов кремния (например, германия) или влияющих на цитоскелет агентов (например, колхицина) наблюдаются изменения в морфологии растущей кремнеземной теки, что открывает дополнительные возможности для специфического обнаружения; при этом иммобилизованная клетка сохраняет одну интактную теку и сбрасывает деформированную в первом же делении после исчезновения токсина, восстанавливая сенсор; 8) при любых патологических изменениях в неделящейся клетке, вплоть до гибели и «вакуолизации», форма клетки остается неизменной, заданной фрустолой, что удобно для автоматического анализа изображений (рис. 1, а).

ДОРМ продемонстрирован в проточных и микролуночных системах, где иммобилизация клеток проводилась с использованием поверхностного заряда фрустол [1, 2]. Для подлежащих поверхностей разработан метод введения якорных групп, пригодный для большинства поверхностей (стекло, пластик, металл). Проведен демонстрационный анализ типичных токсинов-загрязнителей, анализ репликативных aberrаций, а также сравнение ДОРМ с анализом на основании потенциал-зависимой флуоресцентной краски [3].

Для перехода ОРМ от концепта к практически применимому устройству разработана многофункциональная роботизированная

аналитическая станция (рис. 1, б). Станция автоматизирует культивирование клеток, подготовку и загрузку/перезагрузку клеток в зоны считывания, пробоподготовку и параллельный анализ множества клеток-сенсоров — последовательно и циклично считывая тайм-лапс изображения каждой из клеток-сенсоров.

Параллельный анализ множества клеток минимизирует основной недостаток ОРМ — относительно низкую скорость анализа каждой отдельной клетки.

Количественный анализ с использованием ОРМ требует построения калибровочных последовательностей, например, роботизированной станцией или лабораторией-на-чипе (рис. 1, в).

Основные состояния клеток-сенсоров, различаемые в ДОРМ, включают: 1) нормальный метаболизм и репликативную активность; 2) замедление, aberrации или остановку репликации; 3) замедление



Рис. 1. а — деление иммобилизованной диатомеи (стадии 1–3) и примеры контрастных органелл (синие стрелки), осуществляющих $\sim 1D$ -движение (зеленая стрелка), см. тайм-лапс видео; б — роботизированная станция, автоматизирующая подготовку и выполнение анализа; в — количественный ДОРМ с использованием линейки разбавлений в роботизированной станции и в лаборатории-на-чипе, на примере флуоресцина и метиленовой сини

движения органелл, отражающее общий метаболизм, вплоть до полного паралича — обратимого или нет; и 4) дезинтеграцию мембран.

Использование роботизированной станции (технологические процедуры и 3D-модели доступны по запросу) позволяет перейти от демонстрационного ДОРМ единичных клеток [3] — к параллельному, автоматизированному, практически применимому методу.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 20-44-720010).

Литература

1. *Andreyev D., Arriaga E. A.* Fabrication of perforated sub-micron silica shells // *Scripta Materialia*. 2007. 57 (10). P. 957–959.
2. *Andreyev D.* Magnetization of colloidal particles: from silica microspheres to diatom frustules // *The Fifth Vereshchagin Baikal Conference, Irkutsk*. 2010. October, 4–9.
3. *Lebedev E. E., Andreyev D. S.* Time-lapse microscopy of polyamine-immobilized diatoms: towards novel biosensors // *2022 International Conference Laser Optics (ICLO)*. 2022. P. 1–1.

МЕТОД ЛАЗЕРНОЙ ДИФРАКЦИИ В ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ КЛЕТОК КРОВИ

И. В. Миндукшев^{1,*}
* iv_mindukshev@mail.ru

¹*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44*

Функционирование организма подчиняется всем физическим законам нашего мира. Расширение возможностей регистрации биофизических процессов в организме, разработка приборов и методов

исследования необходимы для решения многих актуальных задач клинической медицины, сельского хозяйства, аквакультуры, космической медицины.

В первой части доклада будут рассмотрены несколько базовых принципов:

- Границы применения физических методов в биологических исследованиях.
- Принципы метода лазерной дифракции (статического светорассеяния) и отличие от метода динамического светорассеяния (квазиупругого светорассеяния).
- Сравнение с проточными методами счета отдельных частиц. Ограничения применения проточной цитометрии и лазерной дифракции.
- Теория светорассеяния (приближения Рэлея, Фраунгофера, Ми). Решение обратной задачи.
- Принципиальная схема лазерных анализаторов размеров частиц.
- Совмещенной технологии лазерной дифракции и флуоресцентного анализа.

Далее будут более подробно представлены возможности лазерных анализаторов частиц LaSca-TM и LaSca-FM. Метод лазерной дифракции (малоугловое светорассеяние) на лазерном анализаторе частиц LaSca-TM (БиоМедСистем, РФ) позволяет регистрировать изменение объема клеток и начальную скорость увеличения их объема в различных буферных средах, в момент записи менять состав и концентрацию среды, вносить исследуемые вещества или индукторы, изменять температуру и pH среды. Именно в возможности манипуляции *in situ* состоит принципиальное отличие метода лазерной дифракции от метода проточной цитометрии. Важно отметить, что лазерная дифракция — это единственный метод регистрации нарушений объема у животных всех систематических групп. Ветеринарные анализаторы ограничены перечнем сельхоз- или домашних животных (не более 13 видов), что не позволяет решать многие задачи эволюционной физиологии (например, исследовать особенности водного и аммонийного обмена эритроцитов низших позвоночных). Способность к осморегуляции — необходимое условие нормального функционирования клеток позвоночных [1]. Попадание

в анизоосмотическую среду приводит к немедленным изменениям объема большинства типов клеток, за которым следует фаза относительно медленного восстановления объема. На Ласке возможно проводить длительные записи изменения объема клеток (часы), что практически невозможно на проточном цитометре.

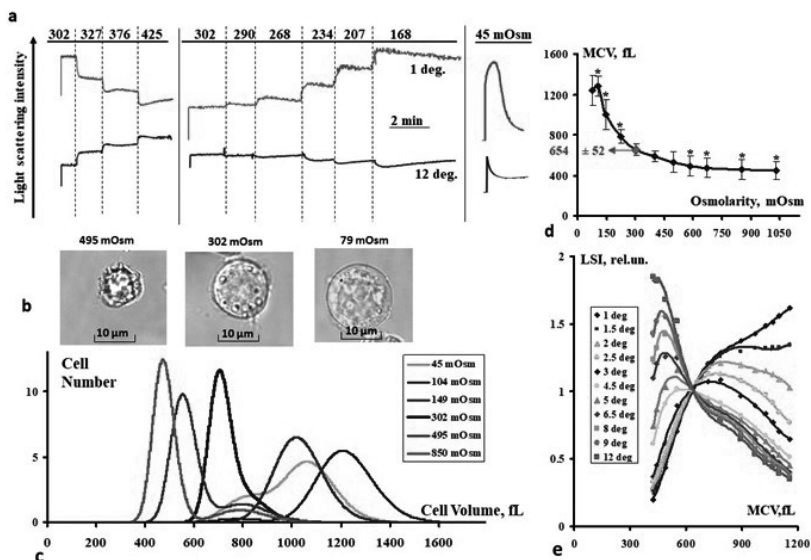


Рис. 1. Применение метода лазерной дифракции (малоуглового рассеяния света) для регистрации изменений объема промиелоцитарных клеток человека (HL-60) [3]: *a* — исходные записи ($n = 4$) интенсивности светорассеяния (LSI) клеток HL-60, инкубированных в среде с различной осмоляльностью, измерение при 1° и 12° ; *b* — световая микроскопия клеток HL-60, инкубированных в течение 5 мин в среде с указанной осмоляльностью. Средний диаметр, рассчитанный по 60 индивидуальным изображениям контрольных клеток (302 мОсм), составил $11,2 \pm 0,6$ мкм, в 495 мОсм — $8,1 \pm 0,3$ мкм, а в 79 мОсм — $14,5 \pm 0,5$ мкм, что соответствует рассчитанным средним объемам клеток 654 ± 52 фл, 531 ± 96 фл и 1240 ± 93 фл соответственно; *c* — гистограмма распределения объема клеток в средах с указанной осмоляльностью; *d* — расчетные зависимости MCV от осмолярности среды среды; *e* — зависимость относительной ОЖСС (нормированной на LSI в изотонической среде) в указанных углах LSI от изменения MCV (mean cell volume)

В отличие от эритроцитов, тромбоциты являются быстро реагирующими клетками, что связано с их ролью в поддержании гомеостаза. Тромбоциты являются ключевым связующим клеточным звеном патологических нарушений благодаря их способности в условиях гиперактивного состояния (фенотипа) активно воздействовать на другие клеточные системы крови (эндотелий, лейкоциты, эритроциты) [2]. Разработка и тестирование антитромбоцитарных фармакологических средств требует адекватных клеточных моделей. Метод лазерной дифракции позволяет регистрировать мгновенный отклик тромбоцитов (трансформация формы) в условиях воздействия агонистов или ингибиторов. Последняя модель анализатора LaSca-FM имеет блок регистрации флуоресцентного сигнала, это позволяет получать отклик в системе сигнализации кальция в течение первой секунды, что невозможно в условиях проточного цитометра. В настоящее время стандартизация условий тестирования позволила охарактеризовать исходное функциональное состояние тромбоцитов по их чувствительности к агонистам, с оценкой значений EC_{50} и максимальной скорости агрегации (U_{max}). Метод имеет потенциальное применение в фармакологических и токсикологических исследованиях, а также в клинической практике в качестве простого и высокочувствительного теста на функциональность тромбоцитов.

Таким образом, метод лазерной дифракции удобен для исследования любых неадгезивных клеток и частиц, в первую очередь для клеток крови.

Благодарности

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФ в рамках научного проекта № 23-15-00142.

Литература

1. *Chen J., Sabir S., Al Khalili Y.* Physiology, Osmoregulation and Excretion, in StatPearls. StatPearls Publishing, 2023.
2. *Periyah M. H., Halim A. S., Mat Saad A. Z.* Mechanism Action of Platelets and Crucial Blood Coagulation Pathways in Hemostasis // Int J Hematol Oncol Stem Cell Res. 2017. 11 (4). P. 319–327.

3. *Mindukshev I. V. et al.* Chapter 26 — Flow cytometry and light-scattering techniques in evaluation of nutraceuticals // *Nutraceuticals (Second Edition)* / R. C. Gupta, R. Lall, A. Srivastava, editors. Academic Press, 2021. P. 379–393.

НОСИМЫЕ ДАТЧИКИ УДАЛЕННОГО БИОМОНИТОРИНГА И ИХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ

А. Ю. Зайцева¹, М. М. Мазинг¹, И. Е. Антифеев¹, А. В. Никулина²,
И. А. Кузнецов², Д. Г. Петров¹
* anna@da-24.ru

¹*Институт аналитического приборостроения РАН, 198095,
Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А*

²*Медицинский центр ООО «Хоккейный клуб СКА», Санкт-Петербург*

Разработан носимый аппаратно-приборный комплекс на основе оптико-электронных датчиков мониторинга целого ряда физиологических и биометрических параметров функционального состояния человека. Комплекс представляет собой совокупность высокотехнологичных носимых устройств и программного обеспечения, позволяющих непрерывно отслеживать и комплексно анализировать различные показатели, связанные с жизненно важными функциями организма. Комплекс может быть использован для контроля эффективности лечения и прогнозирования развития большого круга заболеваний, в том числе хронической сердечной недостаточности, заболеваний сердца и легких, восстановления после ранений и травм, осуществлять контроль функционального состояния лиц экстремальных профессий и спортсменов.

Проведена экспериментальная оценка функционального состояния десяти испытуемых при использовании нагрузочного тестирования с дополнительным измерением параметров газообмена. Исследование метаболизма в покое и при физической нагрузке позволило

получить показатели, объективно характеризующие физическую работоспособность. Также была исследована скорость потребления кислорода и выделения диоксида углерода во время дозированной физической нагрузки. Анализ результатов экспериментального исследования показал высокую степень корреляции стандартных медицинских методов оценки состояния человека с результатами, полученными с помощью разработанного аппаратно-программного комплекса, основанного на методе NIRS — спектрометрии.

Анализируя результаты исследований, можно говорить об эффективности разработанного метода удаленного биомониторинга с помощью носимых оптических датчиков.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке Медицинского центра ООО «Хоккейный клуб СКА», г. Санкт-Петербург.

МИКРОФЛЮИДНАЯ ПЛАТФОРМА ДЛЯ СИНТЕЗА МОНОДИСПЕРСНЫХ ВОДНЫХ МИКРОКАПЕЛЬ, МИКРО- И НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ БИОМЕДИЦИНСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ

Н. А. Филатов^{1,2,*}, А. А. Тюшкевич^{1,2}, Е. И. Наумов^{1,2}, А. С. Букатин^{1,2,3}
* info@flixbio.ru

¹СПбАУ РАН им. Ж. И. Алфорова, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 8, к. 3, лит. А

²ООО ФЛИКСБИО, 194021, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, д. 6, стр. 1

³Институт аналитического приборостроения РАН, 198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А

Водные микрокапли, микро- и наночастицы находят широкое применение в диагностике заболеваний, скрининге биообъектов, системах доставки лекарственных препаратов (в том числе

мРНК-вакцин), а также для регенеративной медицины, 3D-биопечати искусственных эквивалентов органов и систем «орган-на-чипе» [1–3]. Одним из перспективных и современных методов их синтеза является использование микрофлюидных технологий, когда в небольшом устройстве (микрофлюидный чип) можно формировать капли/частицы с высокой степенью монодисперсности, обеспечивать контроль размера (например, диаметр) и внутреннего состава, что принципиально для получения стабильных и воспроизводимых результатов при их дальнейшем использовании. Как полагают эксперты (отчет о рынке и технологиях, STATUS OF THE MICROFLUIDICS INDUSTRY September 2020, Yole Development), рынок приборов на основе микрофлюидных технологий продолжает активно развиваться. На ближайшую перспективу 2019–2025 гг. рынок микрофлюидной продукции вырастет с 11,2 млрд долл. США до 24,5 млрд долл. США при совокупном годовом темпе роста (CAGR2019–2025) около 14 %. Основной рост будет обеспечиваться развитием инструментов для фармацевтических и медико-биологических исследований (Tools for pharmaceutical and life science research) и систем «диагностики-на-месте» (Point-of-care diagnostics).

Несмотря на рост количества исследовательских статей, реальные коммерческие продукты, основанные на микрофлюидных технологиях, малочисленны. К ним можно отнести системы QX100/QX200 от компании Bio-Rad, Nadia instrument от Dolomite Bio, технологии Chromium и GemCode от 10X Genomics и Naica system for Crystal Digital PCR от Stilla Technologies. Выход из разработки в готовый коммерческий продукт осложняется как технологическими сложностями при масштабировании производства, так и трудоемкостью методик. При этом требуется наличие высококвалифицированного персонала, способного разрабатывать такие сложные микрофлюидные системы. Также формирование микрокапель/частиц в микрофлюидных чипах является нелинейным многопараметрическим процессом, для которого полноценных математических моделей не существует. Поэтому требуются как экспериментальные исследования и характеристики процессов формирования микрокапель/частиц в микрофлюидных чипах для получения воспроизводимых результатов, так и создание

полноценных автоматизированных приборов с готовыми наборами чипов.

В данном проекте проводились разработки прототипа микрофлюидной платформы для синтеза водных микрокапель, микро- и наночастиц. Основные научно-технические проблемы, на решение которых был направлен проект: 1) отсутствуют решения полуавтоматизированного формирования монодисперсных микрокапель эмульсии и гидрогелевых микрочастиц в микрофлюидных чипах; 2) отсутствуют решения полуавтоматизированного синтеза стабильных наночастиц в микрофлюидных чипах. В рамках работ проводились разработки аппаратной части прибора. Также было создано два 3D-макета корпуса прототипа прибора. Для обеспечения простоты настройки и герметичного подключения микрофлюидного чипа с системой адаптеров «воздух — жидкость» в прототипе прибора была создана специальная оправа. Были разработаны системы адаптеров для подключения стандартных лабораторных пробирок 200 мкл, 1,5 мл, 15 мл, 50 мл. В рамках создания готовых наборов чипов для синтеза микрокапель водных эмульсий было разработано 3 различных чипа, для гидрогелевых микрочастиц — 3 шт., для наночастиц — 2 шт. Для изготовления экспериментальных образцов микрофлюидных чипов применялся метод мягкой литографии с использованием полидиметилсилоксана [4]. Проводились экспериментальные испытания прототипа микрофлюидной платформы на примерах синтеза водных микрокапель эмульсии, микрочастиц и наночастиц в микрофлюидных чипах.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия инновациям (грант «Старт-1» договор 5023ГС1/85500 от 11.07.2023).

Литература

1. *Matuła K.* Single-cell analysis using droplet microfluidics / *K. Matuła, F. Rivello, W. T. S. Huck* // *Adv. Biosys.* 2020. Vol. 4. № 1. P. 1900188.
2. *Choi A. et al.* Recent advances in engineering microparticles and their nascent utilization in biomedical delivery and diagnostic applications // *Lab on a Chip.* 2017. Vol. 17. № 4. P. 591–613.

3. Jiang W. et al. Cell-laden microfluidic microgels for tissue regeneration // Lab on a Chip. 2016. Vol. 16. № 23. P. 4482–4506.
4. Bukatin A. S. et al. Fabrication of high-aspect-ratio microstructures in polymer microfluid chips for in vitro single-cell analysis // Technical Physics. 2016. Vol. 61. P. 1566–1571.

МИКРОФЛЮИДНАЯ ПЛАТФОРМА ДЛЯ СИСТЕМ «ОРГАН-НА-ЧИПЕ»

В. В. Рыжков¹, В. В. Ечеистов^{1,2}, Р. Ш. Алибеков¹, П. Г. Рязанцев¹,
Л. Н. Муравьева¹, Д. А. Баклыков^{1,2}, А. К. Кугук¹, Е. С. Краско¹,
А. А. Барбашева¹, И. А. Рыжиков¹, И. А. Родионов^{1,2,*}
* irodionov@bmstu.ru

¹ МГТУ им. Н.Э. Баумана, 105005, Москва, улица 2-я Бауманская, д. 5, к. 1

² ФГУП «ВНИИА», 101000, Москва, Моспочтамт, а/я 918

Технологии микрофлюидики предоставляют уникальные возможности для биологии и медицины на основе управления сверхмалыми объемами реагентов. Одной из сфер применения, в которой в ближайшее десятилетие ожидается научный прорыв благодаря микрофлюидике, является фармацевтика. Разработка, которая обеспечивает этот прорыв, — система «орган-на-чипе» и «организм-на-чипе» (ОНЧ), позволяющая проводить повторяемые эксперименты над клеточными культурами *in vitro* в условиях, приближенных к физиологическим. ОНЧ состоит из одного или нескольких микрофлюидных чипов, объединяющих клеточные культуры в комплекс сообщающихся компартментов с общим потоком питательной среды, что позволяет изучать системную реакцию нескольких органов на исследуемый препарат. Для функционирования такой системы необходима платформа приборов, обеспечивающих прецизионное дозирование реагентов, поддержание нужных условий химического

состава среды для клеточных культур и температуры, возможность измерения химических, электрических параметров клеточных культур, а также микроскопии во время культивирования.

В докладе рассмотрены основные подходы к созданию платформы приборов для систем «организм-на-чипе». Выделены общие характеристики и определены наиболее перспективные решения для разработки отечественной платформы микрофлюидных приборов. Представлены результаты по разработке системы контроля потоков, дозирования и вспомогательных элементов (резистор потока, пневматический интерфейс резервуара). Контроль потоков построен на основе управления и поддержания давления в герметичном резервуаре с жидкостью, из которого жидкий реагент вытесняется избыточным давлением. При этом достигается самый низкий уровень нежелательных осцилляций потока, по сравнению с перистальтическим и шприцевым насосами. Основные характеристики: точность поддержания давления системы управления потоками ± 1 мбар, диапазон поддержания давлений 0–500 мбар, диапазон измерения потоков 2–25 мкл/мин. Точность измерений потока 5 % от измеренного значения. Рабочий диапазон давления для вспомогательных элементов 0–8 бар. Платформа приборов апробирована при сборке действующего стенда для дозирования реагентов.

Благодарности

Работа выполнена с использованием материально-технической базы ЦКП Научно-образовательного центра «Функциональные Микро/Наносистемы» МГТУ им. Н. Э. Баумана (ID 74300).

АРХИТЕКТУРА И МЕТОДЫ ИЗГОТОВЛЕНИЯ СИСТЕМ «ОРГАН-НА-ЧИПЕ»

Л. Н. Муравьева¹, В. В. Рыжков¹, В. В. Ечевистов^{1,2}, Р. Ш. Алибеков¹,
П. Г. Рязанцев¹, Д. А. Баклыков^{1,2}, А. К. Кугук¹, Е. С. Краско¹,
А. А. Барбашева¹, А. С. Шувалова¹, И. А. Рыжиков¹, И. А. Родионов^{1,2,*}
* irodionov@bmstu.ru

¹ МГТУ им. Н.Э. Баумана, 105005, Москва, улица 2-я Бауманская, д. 5, к. 1

² ФГУП «ВНИИА», 101000, Москва, Моспочтамт, а/я 918

Системы «орган-на-чипе» позволяют проводить исследования по культивированию клеточных систем и испытания лекарственных средств. Ожидается, что в ближайшее десятилетие такие системы позволят во многом заменить эксперименты на животных. Подход позволяет проводить токсикологические испытания, моделировать заболевания и лечить их *in vitro* на клетках человека. Благодаря этому достигается большая точность результатов, чем при экспериментах на клетках животных. Как следствие, снижается количество вновь обнаруженных побочных эффектов при переходе от доклинических испытаний к клиническим, снижаются время и затраты на испытание нового препарата. Кроме того, открываются возможности для индивидуального подбора лекарств. Основной элемент большинства таких систем — барьерная структура, состоящая из клеток и сформированная на поверхности мембраны или гидрогеля. Совместное культивирование нескольких типов клеток позволяет воспроизводить биохимическое взаимодействие между различными тканями человека. Объединение нескольких клеточных структур, характерных для различных органов, создает условия для проявления комплексных реакций целого организма на тестируемый лекарственный препарат. Объединение достаточного количества (более десяти) органов в одной системе требует разработки масштабируемой архитектуры и технологических методов изготовления.

В докладе рассмотрены способы проектирования и изготовления систем «орган-на-чипе», обладающих такими свойствами, как

масштабируемость, технологичность, биосовместимость, оптическая прозрачность, химическая стойкость. Выделены наиболее перспективные архитектуры, позволяющие формировать барьеры из монослоев клеток с помощью гидрогеля.

Выполнен анализ материалов для изготовления микрофлюидного устройства и выделены преимущества, недостатки и области применения эластомеров, термопластиков, фотополимеров и материалов, совместимых с технологиями микроэлектроники. Проведен обзор ключевых технологий изготовления микрофлюидных чипов с классификацией по критериям массовости производства, совместимости обрабатываемых материалов, разрешению и возможности реализации основных архитектур для «органов-на-чипе».

Также в работе предложены конструкция и модифицированная технология мягкой литографии на базе стереолитографии, позволяющая создавать сложный микрофлюидный чип с каналами и структурами различной высоты (в диапазоне от 50 до 1000 мкм).

Благодарности

Работа выполнена с использованием материально-технической базы ЦКП Научно-образовательного центра «Функциональные Микро/Наносистемы» МГТУ им. Н. Э. Баумана (ID 74300).

АВТОМАТИЧЕСКАЯ ПЛАТФОРМА ДЛЯ «POINT-OF-CARE», ИЛИ ПРИКРОВАТНОЙ ДИАГНОСТИКИ НА ОДНОРАЗОВОМ КАРТРИДЖЕ

В. А. Пономарев^{1,*}, Д. В. Каникевич¹, В. О. Алябин¹, Ю. К. Дзагоева¹,
А. А. Воробьев¹
* vp@trdc.com

*¹ООО «Троицкий Инженерный Центр», 108840, Москва, вн. тер. г. городской
округ Троицк, г. Троицк, ул. Академика Франка, д. 16*

В настоящее время проведение анализов методом ПЦР (полимеразной цепной реакции) является золотым стандартом для диагностики широкого круга заболеваний. Однако для проведения ПЦР-исследования необходима сертифицированная лаборатория, оснащенная набором дорогостоящего оборудования, в которой должен работать высококвалифицированный персонал, имеющий специальное медицинское образование. При этом в малых населенных пунктах или на отдаленных производственных площадках с небольшим потоком пациентов организация диагностической лаборатории экономически крайне невыгодна. Поэтому единственной возможностью проведения ПЦР-диагностики в этом случае является передача образцов в ближайшую лабораторию, что существенно увеличивает время получения ответа.

Исходя из этого, создание мобильной, полностью автоматической платформы для ПЦР-диагностики, не требующей наличия оборудованной лаборатории и высококвалифицированного медицинского персонала, является крайне актуальной задачей.

Коллектив авторов разработал перспективную платформу (рис. 1) для полноценной прикроватной диагностики, состоящую из оригинального одноразового картриджа, содержащего все реагенты для полноценного выделения нуклеиновых кислот из анализируемой пробы (на магнитных частицах), и анализатора, который контролирует процесс выделения нуклеиновых кислот с последующей ПЦР в режиме реального времени внутри замкнутого объема в полностью автоматическом режиме.

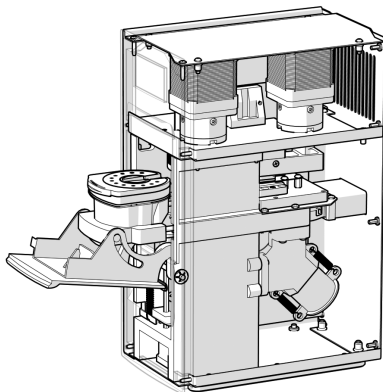


Рис. 1. Схематичное изображение разработанной автоматической платформы

Процедура проведения анализа такова: проба помещается в картридж, он закрывается и загружается в анализатор, после чего происходит запуск выбранной программы с протоколом выделения и настройками ПЦР для конкретных тест-систем внутри картриджа. Дальнейшая обработка пробы происходит автоматически, без участия оператора, внутри закрытого объема картриджа, без контакта его содержимого с внешней средой. Полученные данные обрабатываются встроенным программным обеспечением, с возможностью автоматической постановки диагноза и его передачи в лабораторную информационную систему (ЛИС).

Разработанный картридж содержит три независимых ПЦР-ячейки, в которых возможно проведение трех независимых ПЦР, в том числе с разными настройками термоциклирования. Оптическая система анализатора позволяет проводить детекцию флуоресцентного сигнала по шести отдельным оптическим каналам в каждой из трех ПЦР-ячеек, что позволяет определять до 18 мишеней за одно исследование.

РАЗРАБОТКА ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ СЕНСОРОВ НА ОСНОВЕ КОМБИНАЦИИ ФОТОННЫХ ИНТЕГРАЛЬНЫХ СХЕМ И МИКРОФЛЮИДНЫХ КАНАЛОВ ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ

**А. Ю. Кузин^{1,2,3,*}, В. С. Чернышев^{1,4}, И. Н. Флоря², В. В. Ковалюк^{2,3},
П. П. Ан^{2,5,6}, А. С. Голиков², Г. Н. Гольцман^{3,6}, Д. А. Горин¹**
* Aleksei.Kuzin@skoltech.ru

¹*Сколковский институт науки и технологий, 121205, Москва, Россия*

²*Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС»,
119049, Москва, Россия*

³*Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики»,
101000, Москва, Россия*

⁴*Национальный медицинский исследовательский центр акушерства,
гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова, Москва, Россия*

⁵*Московский педагогический государственный университет, 119992, Москва,
Россия*

⁶*Российский квантовый центр, 143025, Москва, Россия*

Сегодня одна из самых актуальных проблем медицины — это поиск быстрых, компактных и дешевых методов диагностики состояния, выявления заболеваний и инфекций в организме человека на ранней стадии. Для этого можно использовать химические экспресс-тесты, отдельные микрофлюидные устройства или объемные дорогие спектрометры. Однако данные подходы либо обладают сильно ограниченным пределом обнаружения, либо требуют высокого уровня квалификации исследовательского персонала. Одним из потенциально успешных направлений развития данной области является создание лаборатории-на-кристалле (ЛОС) с использованием фотонных интегральных схем. Фотонные интегральные схемы (ФИС) — это устройства, которые работают аналогично электронным интегральным схемам, но используют фотоны вместо электронов. За счет использования пассивных интегрально-оптических компонентов (волноводов, резонаторов, интерферометров, случайных

спектрометров) оптическое излучение проходит через исследуемый образец и снимается спектральная характеристика устройства, которая может быть использована для интерпретации свойств окружающей среды / исследуемого раствора. ФИС могут успешно комбинироваться с микрофлюидикой для исследования концентрации жидкостей и газов, значительно уменьшая требуемый объем аналитов до нескольких микролитров [1]. Микрофлюидные каналы отлично подходят для доставки исследуемого аналита к чувствительным областям интегрально-оптических элементов. С их помощью можно перекачивать через ЛОС истинные растворы, коллоидные растворы и газы. Кроме того, такая комбинация позволяет полностью за счет оптического контроля производить послойную модификацию поверхности чипа (послойная сборка) [2]. Также уже был представлен универсальный, устойчивый к производственным отклонениям сенсор на основе комбинации нанофотонного случайного спектрометра и микрофлюидики для определения сверхнизкой концентрации аналита в растворе [3].

Таким образом, интеграция микрофлюидных каналов с ФИС является перспективным и важным направлением для выявления заболеваний на ранних стадиях за счет определения наличия специфических маркеров при сверхнизкой концентрации. Поэтому сегодня одной из крайне актуальных задач является разработка и создание компактной интегрально-оптической лаборатории-на-чипе в интеграции с микрофлюидными каналами для изучения наличия и выявления различных аналитов (белков, экзосом и вирусов) при низких концентрациях в растворе.

Благодарности

Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 23-79-00056 (численный расчет ФИС), грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (FSME-2022-0008) (экспериментальное тестирование ФИС), а также проектом по участию университетов в развитии высокотехнологичного производства при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение от 06.04.2022 № 075-11-2022-026) (изготовление ФИС).

Литература

1. *Kuzin A., Chernyshev V., Kovalyuk V., An P., Golikov A., Ozhegov R., Gorin D., Gippius N., Goltsman G.* Hybrid nanophotonic — microfluidic sensor for highly sensitive liquid and gas analyses // *Optics Letters*. 2022. Vol. 47. № 9. P. 2358–2361.
2. *Kuzin A., Chernyshev V., Kovalyuk V., An P., Golikov A., Goltsman G., Gorin D.* In situ monitoring of layer-by-layer assembly surface modification of nanophotonic-microfluidic sensor // *Analytical Chemistry*. 2022.
3. *Kuzin A. et al.* Ultrasensitive Nanophotonic Random Spectrometer with Microfluidic Channels as a Sensor for Biological Applications // *Nanomaterials*. 2022. Vol. 13. № 1. P. 81.

МИКРОФЛЮИДНАЯ ИНТЕГРАЛЬНО-ОПТИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРИЯ-НА-ЧИПЕ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И СОПРОВОЖДЕНИЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ

А. Ю. Кузин¹, В. С. Чернышёв^{2,*}, В. В. Ковалюк^{3,4}, П. П. Ан^{3,5}, А. Голиков^{3,6},
С. С. Святодух^{4,6}, С. Перевошиков¹, И. Н. Флоря³, М. С. Деев⁷,
Г. Н. Гольцман^{4,5}, Д. А. Горин¹
* v_chernyshev@oparina4.ru

¹Сколковский институт науки и технологий, Москва

²Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова, Москва

³Университет науки и технологий МИСИС, Москва

⁴Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», Москва

⁵Российский квантовый центр, Москва

⁶Московский педагогический государственный университет, Москва

⁷Институт биоорганической химии, Москва

На сегодняшний день поиск биомаркеров заболеваний и методов их выявления является одним из важнейших направлений в современном

здравоохранении. Известно, что внеклеточные везикулы (ВВ) связаны с патогенезом различных заболеваний, таких как онкологические, нейродегенеративные и сердечно-сосудистые. Специфическое обнаружение ВВ и потенциальный контроль их количества в биологических жидкостях могут обеспечить успешную терапевтическую стратегию, которая включает снижение количества циркулирующих ВВ до нормального уровня для предотвращения прогрессирования заболевания. Чтобы обеспечить основу для таких исследований и разработок, мы впервые скомбинировали фотонные интегральные схемы (ФИС) в виде интерферометра Маха — Цендера с микрофлюидикой для создания лаборатории-на-чипе. В данном исследовании показана способность такого биосенсора контролировать и отслеживать модификацию кремния для активации поверхности рецепторами в форме ДАРПинов в режиме реального времени и использовать ВВ, содержащие выбранный мембранный белок (HER2) в качестве аналита. Для экспериментального тестирования в этом исследовании были использованы ВВ, выделенные из культуральной среды клеток рака яичников (SKOV3), которые имеют высокую экспрессию HER2, и клеток рака молочной железы (MDA-MB-231) со значительно более низкой экспрессией HER2 [1]. Разница в экспрессии HER2 была подтверждена вестерн-блоттингом ВВ двух упомянутых клеточных линий. Анализ траекторий наночастиц (АТН) и сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) позволили подтвердить успешное выделение ВВ и определить их размер в диапазоне от 30 до 150 нм [2]. ВВ с концентрацией $4,2 \times 10^{10}$ частиц/мл использовались для тестирования лаборатории-на-чипе.

Для модификации поверхности чувствительной части чипа был выбран 3-аминопропилтриэтоксисилан (АПТЭС) и использовалась химия карбодиимидной сшивки 1-Этил-3-(3-диметиламинопропил) карбодиимид — N-гидроксисульфосукцинимид для ковалентного связывания ДАРПИна, специфичного к мембранному рецептору HER2. На всех этапах температура растворов была фиксирована на уровне 25 °С, а скорость потока 10 мкл/мин. Все модификации нитрида кремния, кроме нанесения АПТЭС, проводились внутри микрофлюидного чипа и контролировались оптическим методом.

После завершения модификации и промывки микрофлюидных каналов фосфатным буфером, мы представили для тестирования очищенные ВВ упомянутых клеточных линий с высокой и низкой экспрессией HER2 рецептора. После сдвига спектральной характеристики во время модификации поверхности и затем прокачки ВВ, содержащих HER2-маркер, зависимость относительного сдвига от времени прокачки была получена для всех шагов эксперимента. Было обнаружено, что при модификации поверхности с помощью такого анализа можно отслеживать характерный сдвиг для каждого этапа модификации. Между каждым этапом осуществлялась промывка буфером для удаления несвязавшихся компонентов. Также можно было контролировать этапы промывки, оценивая сдвиг спектральной характеристики. Используя этот оптический подход, модификации поверхности были выполнены на двух разных сенсорах на одном чипе, но в одном случае проводился анализ маркер-положительных ВВ, а в другом — с ВВ, содержащими значительно меньше HER2-

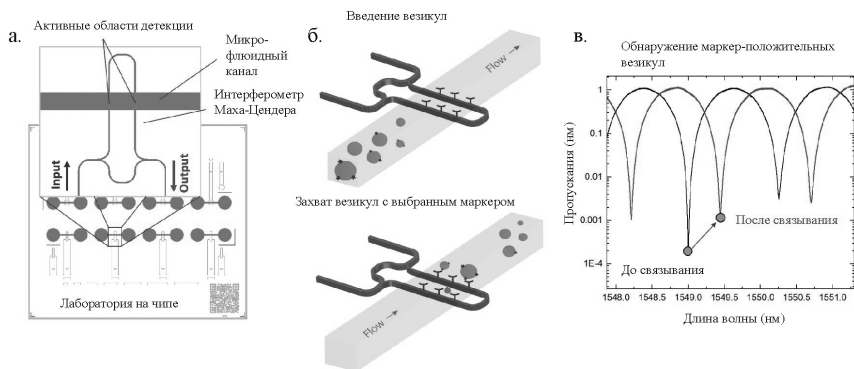


Рис. 1. Схематика процесса выделения ВВ с выбранным маркером в лаборатории-на-чипе: *а* — иллюстрация чипа с интерферометрами Маха — Цендера, скомбинированными с микрофлюидными каналами, которые позволяют локализовать модификацию поверхности; *б* — иллюстрация введения и захвата ВВ на поверхности интерферометра после модификации активной поверхности направляющими молекулами (ДАРПином); *в* — сдвиг спектральной характеристики, вызванный связыванием ВВ с направляющими молекулами

рецепторов. Концентрация ВВ в обоих случаях составляла $4,2 \times 10^{10}$ частиц/мл. Первые шаги протокола модификации продемонстрировали примерно одинаковый относительный сдвиг спектральной характеристики устройства. Различие в количестве HER2-рецепторов в двух анализируемых образцах ВВ было явно отражено в значительности сдвига пиков, полученных описанными измерениями интерферометром Маха — Цендера.

В данном исследовании было показано, что такой биосенсор может быть использован для количественной оценки биологических маркеров, таких как ВВ, содержащие специфический мембранный белок HER2. Разработанная платформа предоставляет результаты в режиме реального времени, используя микролитровые объемы тестируемого образца. Это исследование может быть использовано в качестве первого шага к созданию лаборатории-на-чипе для точного контроля нанесения покрытий, с точки зрения химического применения, и диагностики/мониторинга эффективности лечения в медицине.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (№ 23-13-00035 (модификация поверхности ФИС, подготовка образцов ВВ и их характеристика), № 23-79-00056 (численный расчет ФИС)), а также Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (FSME-2022-0008) (экспериментальное тестирование ФИС).

Литература

1. Gall V. A. et al. Trastuzumab increases her2 uptake and cross-presentation by dendritic cellstrastuzumab increases her2 cross-presentation // Cancer research. 2017. Vol. 77. P. 5374–5383.
2. Chernyshev V. S. et al. Asymmetric depth filtration: A versatile and scalable method for high-yield isolation of extracellular vesicles with low contamination // Journal of Extracellular Vesicles. 2022. Vol. 11. P. e12256.

ОПТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДЛЯ НЕИНВАЗИВНОГО И НЕПРЕРЫВНОГО МОНИТОРИНГА В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

Д. А. Горин^{1,*}

* d.gorin@skoltech.ru

¹Сколковский институт науки и технологий

В настоящее время фотонные инструменты широко используются при проведении доклинических и клинических исследований. Так, пульсоксиметры, оптическая томография, флуоресцентная внутриоперационная визуализация уже нашли широкое применение в повседневной клинической практике. В то время как флуоресцентная визуализация широко применяется в доклинических исследованиях, для изучения фармакокинетики и фармакодинамики. Существенным недостатком флуоресцентного метода является необходимость использования экзогенных флуоресцентных агентов, например индоцианина зеленого, который является стандартным флуорофором, как для доклинических, так и клинических исследований. Большие возможности по использованию эндогенных хромофоров дают оптоакустические методы визуализации. Оптоакустика (фотоакустика) основана на поглощении экзо- или эндогенными хромофорами импульсного лазерного излучения и преобразовании этой энергии в термоупругую деформацию и далее как результат в акустический сигнал. Несомненными достоинствами оптоакустического подхода являются большая по сравнению с чисто оптическими методами глубина проникновения, характерная для акустических методов, с сохранением оптического разрешения, и, что особенно важно, возможность молекулярной визуализации с использованием, прежде всего, характерных эндогенных хромофоров, например окси- и дезоксигемоглобина, билирубина, липидов, коллагена, воды, а также возможность определения расстояния до объекта по задержке акустического сигнала и размера исследуемого объекта на основе анализа частотной зависимости широкополосного акустического сигнала. Так, например,

маркером злокачественной опухоли может служить повышенная васкуляризация и пониженная оксигенация тканей. Это уже используется в скрининге онкологических заболеваний молочной железы [1]. В связи с вышеизложенным, целью данного доклада является анализ последних достижений применения оптических методов в биологии и медицине, в том числе для *in vivo* визуализации и непрерывного мониторинга. Основные тенденции применения оптических методов в биологии и медицине: 1) сочетание оптоакустики с ультразвуковой визуализацией; 2) комбинация оптоакустики с методами флуоресцентной визуализации [2]; 3) переход в средний инфракрасный диапазон [2]; 4) создание мультимодальных контрастных агентов, позволяющих обеспечить визуализацию несколькими методами, например оптоакустическим, флуоресцентным, МРТ, УЗ и т. д. [2, 4, 5]; 5) использование малоинвазивной и эндоскопической оптоакустики [6, 7]; 6) использование технологий оптического просветления [8]; 7) использование непрерывного мониторинга [9], данный тренд характерен для биологии и медицины и начинает использоваться для неинвазивного и/или малоинвазивного мониторинга таких важных параметров, как полный гемоглобин, насыщение тканей кислородом, содержание воды, концентрация глюкозы в межклеточной жидкости и крови; 8) разработка УЗ-трансдьюсеров на основе фотонных интегральных схем [10], в дальнейшем с использованием биомиметического подхода для создания чувствительной части (мембраны) таких устройств [11]. В докладе будут приведены результаты применения оптоакустики для *in vivo* исследований, причем как для оптоакустической мезоскопии высокого разрешения, так и томографии. Кроме того, будут рассмотрены технологии получения мультимодальных контрастных агентов, которые обеспечивают контраст как для флуоресцентной, так и для оптоакустической визуализации [2], а также для МРТ, ультразвука и оптоакустики [12]. Особое внимание будет посвящено использованию ближнего и среднего ИК-диапазона для микроскопии и эндоскопической реализации оптоакустического метода и перспективам его применений для *in vitro* и *in vivo* исследований, например, для анализа гистологических срезов, а также для определения типа атеросклеротических бляшек соответственно.

Благодарности

Настоящая работа поддержана проектом РНФ № 22-14-00209 и программой «Клевер»: Совместные проекты Сколтеха, МФТИ и ИТМО.

Литература

1. [Электронный ресурс] <https://www.fda.gov/medical-devices/recently-approved-devices/imagior-breast-imaging-system-p2000003>.
2. *Mokrousov M. D. et al.* Biomedical Optics Express. 2021. 12 (6). P. 3181–3195.
3. *Pleitez M. A. et al.* Nat. Biotechnol. 2020. 38 (3). P. 293–296.
4. *Novoselova M. V. et al.* Colloids and Surfaces B. 2021. P. 111576.
5. *Mujtaba J. et al.* Advanced Materials. 2021. P. 2007456(1-40).
6. *Guo H. et al.* J. Biophotonics. 2020. 13 (12). P. 1–20.
7. *Kaydanov N. et al.* ACS Photonics. 2021. 8, 11. P. 3346–3356.
8. *Novoselova M. V. et al.* Photoacoustics. 2020. P. 100186.
9. *Volkova E. et al.* Sci Rep 13. 2023. P. 13371.
10. *Westerveld W. J. et al.* Nature Photonics. 15. 202. P. 341.
11. *Cyjetinovic J. et al.* Scientific Reports. 2023. 13. P. 5518.
12. *Maksimova E. A. et al.* Laser & Photonics Reviews. 2023. URL: <https://doi.org/10.1002/lpor.202300137>.

СТРУКТУРЫ НА ОСНОВЕ ЛЮМИНЕСЦИРУЮЩИХ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК ДЛЯ ДЕТЕКТИРОВАНИЯ: ВОЗМОЖНОСТИ И ОГРАНИЧЕНИЯ

А. О. Орлова^{1,*}

* a.o.orlova@gmail.com

¹*Университет ИТМО, 197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., д. 49*

Наноструктурированные люминофоры представляют собой быстро развивающийся класс новых материалов, они способны эффективно конкурировать с молекулярными люминофорами в сенсорных приложениях для детектирования ионов тяжелых металлов, биомолекул,

маркеров на различные заболевания, а также использоваться в качестве чувствительных элементов в термометрии и определении уровня кислотности [1–3]. Коллоидные квантовые нанокристаллы (НК), квантовые точки, стержни, тетраподы и нанопластины являются лидерами среди наноструктурированных люминофоров. Они удачно сочетают в себе свойства молекулярных люминофоров, общие свойства коллоидных наночастиц (большое отношение площади поверхности к объему, возможность модификации поверхности после синтеза различными молекулами, полимерами, биомолекулами и т. д.) с преимуществами квантоворазмерных структур — возможностью точной настройки оптических и электрических свойств НК благодаря их химическому составу, архитектуре, форме и размеру [4].

В работе рассмотрены гибридные структуры на основе люминесцирующих полупроводниковых квантовых точек и квантовых нанопластин, которые могут быть использованы для визуализации клеток [5], обнаружения летучих органических соединений [6–8] и ионов тяжелых металлов [9]. В свете сенсорных приложений обсуждаются природа мультиэкспоненциального распада фотолюминесценции в квантовых нанокристаллах при комнатной температуре и особенности их использования в качестве доноров энергии или заряда в составе гибридных структур.

На примере гибридных структур на основе квантовых точек, внедренных в пористые матрицы, рассмотрены особенности люминесцентного отклика при их взаимодействии с парами органических соединений и ионами тяжелых металлов. Показано, что совмещение квантовых точек или квантовых нанопластин с графеном в одной структуре позволяет детектировать присутствие аналита одновременно по изменению электрического и люминесцентного откликов структур. Обсуждаются возможности создания селективных сенсорных систем на основе люминесцирующих квантовых точек.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, госзадание № 2019-1080.

Литература

1. *Anil Chandra, Saumya Prasad, Giuseppe Gigli, Loretta L. del Mercato*. Chapter 6 — Fluorescent nanoparticles for sensing / editor(s): Wolfgang J. Parak, Neus Feliu, *Frontiers of Nanoscience*. Elsevier, 2020. Vol. 16. P. 117–149.
2. *Xiaoyu Xu, Shouzhi Yang, Yuning Wang, Kun Qian*. Nanomaterial-based sensors and strategies for heavy metal ion detection // *Green Analytical Chemistry*. 2022. Vol. 2. P. 100020.
3. *Wolfbeis O. S.* An overview of nanoparticles commonly used in fluorescent bioimaging // *Chem. Soc. Rev.* 2015. Vol. 44. P. 4743–4768.
4. *Efros A. L., Brus L. E.* Nanocrystal Quantum Dots: From Discovery to Modern Development // *ACS Nano*. 2021. Vol. 15 (4). P. 6192–6210.
5. *Matiushkina A., Litvinov I., Bazhenova A., Belyaeva T., Dubavik A., Veniaminov A., Maslov V., Kornilova E., Orlova A.* Time- and Spectrally-Resolved Photoluminescence Study of Alloyed $Cd_xZn_{1-x}Se_yS_{1-y}/ZnS$ Quantum Dots and Their Nanocomposites with SPIONs in Living Cells // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. Vol. 23. P. 4061.
6. *Borodina L., Borisov V., Annas K., Dubavik A., Veniaminov A., Orlova A.* Nanostructured Luminescent Gratings for Sensorics // *Materials*. 2022. Vol. 15. P. 8195.
7. *Orlova A. O. et al.* Reversible Photoluminescence Quenching of CdSe/ZnS Quantum Dots Embedded in Porous Glass by Ammonia Vapor // *Nanotechnology*. 2013. Vol. 24 (33). P. 335701.
8. *Reznik I., Zlatov A., Baranov M., Zakoldaev R., Veniaminov A., Moshkalev S., Orlova A.* Photophysical Properties of Multilayer Graphene–Quantum Dots Hybrid Structures // *Nanomaterials*. 2020. Vol. 10. P. 714.
9. *Orlova A. O., Gromova Yu. A., Maslov V. G., Prudnikau A. V., Artemyev M. V., Fedorov A. V., Baranov A. V.* Formation of structures based on semiconductor quantum dots and organic molecules in track pore membranes // *J. Appl. Phys.* 2013. Vol. 113 (21). P. 214305.

НИТЕВИДНЫЕ ПОЛУПРОВОДНИКОВЫЕ КРИСТАЛЛЫ КАК ПЕРСПЕКТИВНАЯ ПЛАТФОРМА СЕНСОРИКИ

А. Д. Большаков^{1-4,*}

* bolshakov@live.com

¹СПбАУ РАН им. Ж. И. Алферова, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 8, к. 3, лит. А

²Московский физико-технический институт, 141701, Долгопрудный, Институтский пер., 9

³Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Университетская наб., 7–9

⁴Ереванский государственный университет, 0025, г. Ереван, Армения, Алека Манукяна, 1

Нитевидные нанокристаллы (ННК) полупроводниковых соединений представляют собой наноструктуры, диаметр которых обычно лежит в диапазоне единиц сотен нанометров, а длина составляет до десятков микрометров. Такие наноструктуры синтезируются или процессируются с привлечением методов снизу вверх или сверху вниз. В первом случае привлекаются эпитаксиальные методы, во втором — методы литографии и травления. Широкие возможности для получения ННК позволяют создавать наноструктуры заданной геометрии и химического состава. При этом возможно получение наноразмерных гетероструктур в геометрии с аксиальными или радиальными переходами, что является уникальной особенностью ННК. Нитевидные нанокристаллы преимущественно имеют вертикальную ориентацию, относительно поверхности подложки. Благодаря малому сечению эти структуры можно выращивать на сильно рассогласованных подложках, что делает их перспективными для различных областей современной физики полупроводников, в частности, оптоэлектроники. Отдельно стоит отметить, что развитая боковая поверхность обсуждаемых структур может адсорбировать большое количество целевых адсорбатов. При этом, ввиду их малого поперечного сечения, адсорбция приводит к сильному изменению проводимости

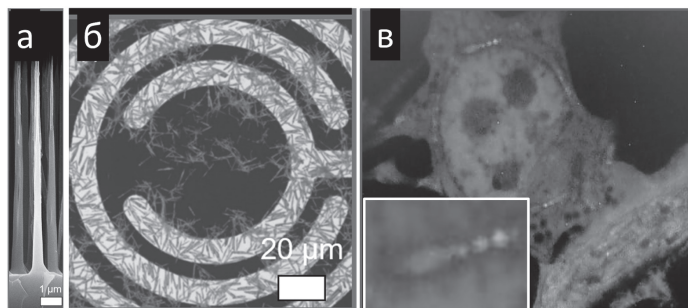


Рис. 1. Нитевидные нанокристаллы для сенсорики: *а* — РЭМ изображение Si ННК; *б* — оптическое изображение сенсора на основе Si ННК; *в* — клетка с инфильтрованными ННК

ННК. Данный эффект делает нитевидные нанокристаллы перспективным элементом устройств сенсорики. Также вертикальные нитевидные нанокристаллы представляют развитую поверхность с массивом «столбиков», которые интересны с точки зрения управления развитием, миграцией и порацией живых клеток.

В данной работе мы проводим два исследования в области перспективной наносенсорики. В первой части мы создаем и исследуем газовый сенсор на основе нитевидных нанокристаллов кремния, планаризованных на встречно-штыревых контактах. Показан технологически простой способ фабрикации Шоттки-сенсоров, позволяющий детектировать низкие концентрации важных аналитов. Во второй части исследования мы демонстрируем возможность использования гетероструктурированных ННК GaP(As) для исследования в клеточной биологии, в частности для визуализации внутриклеточных процессов, порации клеток и исследования механики клеток.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ. Работа в области сенсорики на кремниевых ННК поддержана грантом FSRM-2023-0009. Работа по исследованию клеток на поверхности ННК поддержана в рамках соглашения 075-03-2023-106, проект FSMG-2021-0005.

ЗАЩИТА РЕЗУЛЬТАТОВ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ В ОБЛАСТИ ПРИБОРОВ И МЕТОДОВ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Д. А. Белов^{1*}, Д. В. Бочарова¹, Г. С. Лавров¹, Ю. В. Белов¹

* belov.da@list.ru

*¹Институт аналитического приборостроения РАН, 198095,
Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А*

Патентная активность является одним из основных показателей роста компаний, а анализ патентных документов — традиционным инструментом оценки степени технологического развития компаний и отрасли в целом [1]. Ниже приведены некоторые из основных методов генетического анализа, а также ключевые иностранные компании, разрабатывающие оборудование, реагенты и программное обеспечение для реализации этих методов.

1. Секвенирование нуклеиновых кислот: Illumina (США), Thermo Fisher Scientific (США), Oxford Nanopore Technologies (Великобритания), Pacific Biosciences (США), BGI Genomics (Китай) и др.

2. Полимеразная цепная реакция в реальном времени (ПЦР-РВ): Thermo Fisher Scientific (США), Bio-Rad Laboratories (США), Qiagen (Германия), Roche (Швейцария), Agilent Technologies (США) и др.

3. Микромассивы ДНК: Illumina (США), Affymetrix (США), Roche (Швейцария), Agilent Technologies (США) и др.

Основная деятельность ряда компаний (Oxford Nanopore Technologies, Pacific Biosciences) направлена на развитие одного метода генетического анализа, при этом основная часть компаний развивается в широком диапазоне коммерческих ниш, в том числе путем поглощения других организаций.

Целью настоящей работы являлся анализ перечисленных компаний на основе их патентных портфелей, а также оценка перспектив развития технологий генетического анализа в России.

Для оценки состояния мирового рынка была сформирована информационная база патентных документов в поисковой системе

Всемирной организации интеллектуальной собственности (ВОИС, WIPO) с использованием поискового образа: DP:([01.01.2015 TO 15.10.2023]) AND AB:((«DNA» OR «nucleic acid» OR «RNA» OR «RNA») AND («sequenc*» OR «detect*» OR «microarray» OR «polymerase chain reaction»)) AND NOT AB:(«CRISPR» OR «Cas9» OR «Mass spectromet*» OR «water quality») AND IC:(C12Q1/68 OR G01N21).

Сформированная выборка насчитывает 45 003 патентных документа. Анализ полученных результатов выявил значительный ежегодный прирост с 2015 по 2021 г. (рис. 1), что свидетельствует об устойчивом развитии рынка. Уменьшение количества документов в 2022 и 2023 гг. вероятно вызвано значительным временем публикации заявок (около 18 месяцев) и не говорит об изменении тенденции.

В табл. 1 представлена информация о годовом доходе (Y_R) и штате компаний (ST) [2, 3], количестве документов (N_{WP}), включая заявки и патенты, а также количестве международных заявок по процедуре РСТ (N_{WO}) и патентных документов, зарегистрированных в России (N_{RU}) [4, 5].

Установлена сильная корреляционная связь между показателями Y_R и N_{WP} , а также Y_R и N_{WO} , коэффициент корреляции Пирсона составил $r = 0,86$ и $r = 0,78$ соответственно. Это может опосредованно свидетельствовать о зависимости скорости роста компаний от степени их технологического развития.

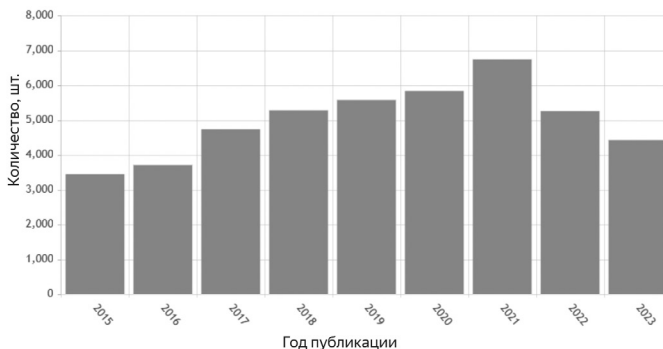












Рис. 1. Динамика патентования в области приборов и методов генетического анализа

Выполненный анализ выявил, что значительным патентным портфелем в России владеют компании Illumina и Roche. При этом по количеству поданных заявок компанией Illumina среди патентных ведомств различных стран Россия находится всего на 17-м месте.

Таблица 1. Основные иностранные компании-разработчики приборов и методов генетического анализа

Компания	Y_{R^*} , млн долл. США	ST, чел.	N_{WP^*} , шт.	N_{WO^*} , шт.	N_{RU^*} , шт.	
Illumina		9500	11 500	11 330	1330	196
Pacific Biosciences		146	730	2432	109	0
Oxford Nanopore Technologies		239,5	922	2616	197	0
QIAGEN		6200	2000	6438	574	20
Thermo Fisher Scientific		43 500	130 000	9353	335	0
BGI Genomics		1600	3778	1942	519	5
Bio-Rad Laboratories		2800	8200	9454	843	10
Roche		70 900	103 613	53 346	4184	849
Agilent Technologies		7000	18 100	15961	1172	19
Affymetrix		360	1000–5000	2846	121	1

Ранее [6] было предложено рассматривать патентные документы, зарегистрированные компанией Illumina в России, как качественный показатель развития отрасли и основных инновационных направлений и было выявлено направленное блокирование компанией отечественного рынка. Очевидно, что тенденция может быть поддержана и другими иностранными компаниями.

Для коммерческой реализации методов генетического анализа в России возможны три варианта стратегий:

- приобретение лицензий на технологии или продукты;
- создание собственных конкурентоспособных технологий на основе известных подходов;
- разработка принципиально новых методов.

Наиболее перспективными являются два последних варианта: анализ опыта китайских компаний показал [7], что для удовлетворения собственных нужд страны целесообразно использование известных технологий, однако для выхода на мировой рынок необходимо создание новых прорывных и оригинальных методов.

При реализации известных технологий наибольший интерес, как наиболее перспективные, представляют технические решения, зарегистрированные по процедуре РСТ. Стоит отметить, что большинство патентов приведенных выше компаний не могут быть зарегистрированы в России, так как истекли 18 месяцев с момента подачи заявки по процедуре РСТ либо 12 месяцев с момента подачи первой национальной заявки в соответствии с Парижской конвенцией, и могут правомерно использоваться на территории страны.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках проекта Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы (Соглашение № 075-15-2021-1057).

Литература

1. Kalip N. G., Erzurumlu Y. Ö., Gün N. A. Qualitative and quantitative patent valuation methods: A systematic literature review // World Patent Information. 2022. Vol. 69. P. 102111.

2. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.owler.com> (дата доступа: 10.10.2023).
3. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://marketcap.ru> (дата доступа: 10.10.2023).
4. PATENTSCOPE WIPO [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://patentscope.wipo.int> (дата доступа: 12.10.2023).
5. ФИПС [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www1.fips.ru> (дата доступа: 12.10.2023).
6. Белов Д. А., Белов Ю. В. Формирование стратегии развития российского рынка приборов для высокопроизводительного секвенирования нуклеиновых кислот на основе анализа патентных документов // Материалы 15-й Международной научно-технической конференции «Приборостроение-2022». С. 83–85.
7. Афоничева П. К., Белов Д. А., Белов Ю. В., Евстратов А. А. Опыт создания высокопроизводительного секвенатора в Китае // VII международная конференция молодых ученых: биофизиков, биотехнологов, молекулярных биологов и вирусологов: в рамках площадки открытых коммуникаций OpenBio-2020. 2020. С. 5–6.

ПЛАЗМОННЫЕ НАНОСТРУКТУРЫ ДЛЯ НЕИНВАЗИВНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЖИВЫХ КЛЕТОК/ОРГАНЕЛЛ МЕТОДОМ ГИГАНТСКОГО КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ

С. М. Новиков^{1,*}, Н. А. Браже²

* novikov.s@mipt.ru

¹*Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), 141701, г. Долгопрудный, Институтский переулок, д. 9*

²*Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, ГСП-2*

Увеличение числа патологий, таких как, например, сердечно-сосудистые заболевания, является серьезной угрозой для здоровья

и экономического развития. Многие патологии могут быть диагностированы на ранних стадиях. Однако эта диагностика требует высокочувствительного анализа на уровне отдельной клетки, органеллы или даже молекулы. Биохимические процессы, происходящие в клетках/органеллах на ранних стадиях возникновения патологий, не поддаются диагностике современными методами из-за низких концентраций «участвующих» молекул или незначительных конформационных изменений в белках, появляющихся при развитии патологий. Большинство таких процессов протекают в примембранной области «всего» на расстоянии 20–30 нм от внешней мембраны клетки. Как правило, результаты этих процессов современными методами можно диагностировать уже при нарушении функционирования всей клетки. ГКР-спектроскопия — идеальный инструмент для работы с молекулами при низких концентрациях, позволяющий отследить появление конформационных изменений, вызванных патологией. Но проблема в том, что ГКР-сигнал убывает экспоненциально с расстоянием от поверхности плазмонной структуры и позволяет эффективно работать на расстоянии $\sim 1-5$ нм. Поэтому для исследования процессов в примембранной зоне необходимо решить проблему, как получить ГКР-сигнал на «дальнем» расстоянии.

Разработка гибридных плазмонных резонансных биосовместимых наноструктур, за счет определенной геометрии и материала, позволит решить задачу получения сильного и надежного ГКР-сигнала на «дальнем» расстоянии. За счет определенной геометрии поверхности наноструктур и ее наноструктуризации (нанесения наночастиц на ее поверхность) возможно получить значительное усиление ближнего поля за счет нормальной компоненты дипольных моментов частиц, расположенных на подложке (относительно подложки, при этом подложка является не плоской, а состоящей из изогнутых металлических полостей). При нормальном облучении светом такой системы в наночастицах будет резонансно возбуждаться электрический дипольный момент, направленный вдоль электрического поля световой волны. Для тех частиц, которые расположены на боковых поверхностях полостей, эти дипольные моменты будут перпендикулярны поверхности, что приведет к значительному их увеличению

за счет эффекта отражения. В результате у боковой поверхности полости возникнет сильное ближнее электрическое поле, которое позволит получать сильный сигнал ГКР от биообъектов, помещенных в эти полости. При этом сильное усиление возможно получить на расстояниях 20–30 нм от поверхности наноструктуры. Используя различную форму, размер, материал наночастиц, а также плотность нанесения и распределение (периодически, хаотично), можно контролировать положение резонансов и величину усиления сигнала ГКР. Все это открывает принципиально новые возможности для создания сенсоров на основе ГКР, способных проводить зондирование на «дальних» дистанциях.

Благодарности

Авторы выражают признательность инициативе ИТМО-МФТИ-Сколтех «Клевер».

Литература

1. *Barshutina M., Doroshina N., Baizhumanov A., Nikelshparg E., Fedotova A., Popov A., Semyanov A., Yakubovsky D., Tselikov G., Luneva O., Kirilyuk I., Maksimov G., Volkov V., Arsenin A., Brazhe N., Novikov S.* SERS substrates based on rose petal replicas for the oxidative stress detection // *Applied Surface Science*. 2023. 626. P. 157281.
2. *Brazhe N. A., Nikelshparg E. I., Baizhumanov A. A., Grivennikova V. G., Semenova A. A., Novikov S. M., Volkov V. S., Arsenin A. V., Yakubovsky D. I., Evlyukhin A. B., Bochkova Z. V., Goodilin E. A., Maksimov G. V., Sosnovtseva O., Rubina A. B.* SERS uncovers the link between conformation of cytochrome c heme and mitochondrial membrane potential // *Free Radical Biology and Medicine*. 2023. 196. P. 133–144.
3. *Doroshina N. V., Ushkov A. A., Brazhe N. A., Gorin D. A., Mokrousov M. D., Yakubovsky D. I., Kapitanova O. O., Voronov A. A., Arsenin A. V., Volkov V. S., Novikov S. M.* Cellular SERS structures for non-invasive study of living cells. 2021. *J. Phys.: Conf. Ser.* 2015. P. 012036.
4. *Nikelshparg E. I., Baizhumanov A. A., Bochkova Z. V., Novikov S. M., Yakubovsky D. I., Arsenin A. V., Volkov V. S., Goodilin E. A., Semenova A. A., Sosnovtseva O. et al.* Detection of Hypertension-Induced Changes in Erythrocytes by SERS Nanosensors // *Biosensors*. 2022. 12. P. 32.

**КОМБИНАЦИЯ ФОТОННОГО КРИСТАЛЛА
И ЧУВСТВИТЕЛЬНОГО МОНОСЛОЯ ИЗ СУБМИКРОННЫХ
ЧАСТИЦ ДИОКСИДА КРЕМНИЯ ДЛЯ АНАЛИЗА
ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА**

**В. Д. Зайцев^{1,*}, Ф. С. Федоров¹, Н. А. Гришаев¹, Т. И. Эрматов¹,
Ю. В. Бондарева¹, П. О. Капралов², Д. О. Игнатьева^{2,3}, Б. Н. Хлебцов^{4,5},
С. С. Косолобов¹, В. И. Белотелов^{2,3}, А. Г. Насибулин¹, Д. А. Горин¹**
* Valeriy.Zaytsev@skoltech.ru

¹Сколковский институт науки и технологий, 121205, Москва, Территория инновационного центра «Сколково», ул. Нобеля, 3

²Российский квантовый центр, 121205, Москва, Территория инновационного центра «Сколково», Большой б-р, 30 стр. 1

³Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, 199991, Москва, Ленинские горы, 1 стр. 2

⁴Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, 410049, г. Саратов, проспект Энтузиастов, 13

⁵Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, 410012, Саратов, ул. Астраханская, 83

Монослойные структуры, собранные из микросфер диоксида кремния, представляют собой уникальные высокоупорядоченные 2D-покрытия, применяемые в качестве оптических газовых сенсоров [1], основанных на проявлении эффекта капиллярной конденсации паров анализита в нанопорах [2]. Однако первые попытки экспериментального применения таких материалов в качестве оптической сенсорной системы [3] указали на их низкую чувствительность из-за нестабильности генерации аналитического отклика и недостаточной селективности к веществам с выраженными гидрофобными свойствами.

В представленной работе представлена экспериментальная реализация нового селективного оптического газового сенсора с пористым гидрофильным/гидрофобным коллоидным монослоем из субмикронных частиц диоксида кремния, сформированного на одномерном фотонном кристалле Ta_2O_5/SiO_2 [4]. Для изучения

закономерностей формирования гидрофильных и гидрофобных слоев применялись методы покрытия *dip-coating* и *Ленгмюра — Блоджетт* соответственно. Таким образом, были получены 2D-монослои со степенью заполненности поверхности более 75 %, что позволяет повысить чувствительность таких сенсоров за счет увеличения количества центров конденсации, а также комбинации диэлектрического слоя SiO₂ частиц со структурой фотонного кристалла. Кроме того, прецизионная сборка гидрофобных монослоев позволяет контролировать селективность конденсации паров, основанной на их физико-химических свойствах, в частности гидрофильно-липофильном балансе конденсируемых молекул.

Были оценены аналитические характеристики (предел обнаружения, диапазон определяемых содержаний, время отклика сенсора) предложенных гидрофильных/гидрофобных слоев в отношении биомаркеров состояния здоровья человека в выдыхаемом воздухе, таких как ацетон, аммиак, этанол, изопропанол, а также проведен анализ реальных образцов дыхания. Было продемонстрировано, что протоколы анализа временных рядов, а также подходы кластеризации данных помогают выявлять критические изменения в трендах для реальных проб дыхания, в частности степени алкогольной интоксикации организма и изучения фармакокинетики воздействия на организм. Таким образом, данная сенсорная система является перспективной платформой для медицинской диагностики и экспресс-ного скрининга состояния здоровья человека.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 21-73-10288).

Литература

1. *Bonifacio L. D., Ozin G. A., Arsenault A. C.* Photonic nose-sensor platform for water and food quality control // *Small*. 2011. Vol. 7. P. 3153–3157.
2. *Yang Q., Sun P. Z., Fumagalli L., Stebunov Y. V., Haigh S. J., Zhou Z. W., Grigorieva I. V., Wang F. C., Geim A. K.* Capillary condensation under atomic-scale confinement // *Nature*. 2020. Vol. 588. P. 250–253.

3. *Ozin G. A., Bonifacio L. D.* United States Patent US 9,213,000 B2, 2015.
4. *Zaytsev V., Ermatov T. I., Fedorov F. S., Balabin N., Kapralov P. O., Bondareva J. V., Ignatyeva D. O., Khlebtsov B. N., Kosolobov S. S., Belotelov V. I., Nasibulin A. G., Gorin D. A.* Design of an Artificial Opal/Photonic Crystal Interface for Alcohol Intoxication Assessment: Capillary Condensation in Pores and Photonic Materials Work Together // *Anal. Chem.* 2022. Vol. 94. P. 12305–12313.

ИЗМЕНЕНИЕ ПРОВОДИМОСТИ ЕДИНИЧНОЙ ТВЕРДОТЕЛЬНОЙ НАНОПОРЫ С ПОМОЩЬЮ ОПТИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

**Д. В. Лебедев^{1,2,3,*}, П. К. Афоничева¹, Н. В. Ваулин^{1,2}, А. С. Букатин^{1,2},
А. А. Евстрапов¹, И. С. Мухин²**
* denis.v.lebedev@gmail.com

¹*Институт аналитического приборостроения РАН, 198095,
Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А*

²*СПБАУ РАН им. Ж. И. Алферова, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 8,
к. 3, лит. А*

³*Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Санкт-
Петербург, Университетская набережная, д. 7/9*

На сегодняшний день большой интерес вызывает изучение молекулярного и ионного транспорта в биомиметических микрофлюидных системах, содержащих нанопоры и наноканалы [1]. Одним из наиболее перспективных направлений применения микрофлюидных систем являются биоинженерные технологии [2, 3]. В отличие от микроэлектроники, где в качестве носителя заряда выступают электроны и дырки, в живых системах электрический заряд переносится анионами и катионами. Биологические наноканалы могут эффективно регулировать транспорт ионов/молекул через клеточную мембрану благодаря своей геометрической форме и белковому составу

поверхности [4, 5]. Таким образом, создавая искусственные аналоги биологических микро- и наноканалов, можно эффективно исследовать механизмы транспорта в таких системах [6].

Перспективным подходом для управления транспортными свойствами биомолекул в микро- и наноканальных системах является применение оптического излучения в качестве управляемого сигнала. Такой подход достаточно подробно описан в литературе. Однако, как правило, для реализации фотоиндуцированного изменения транспортных свойств применяются полимерные мембраны. В данном случае транспортные свойства изменяются благодаря фотохимическим реакциям на поверхности мембраны. В результате этих реакций на поверхности мембраны образуются новые активные группы и селективные свойства изменяются.

Твердотельные нанопоровые устройства с плазмонными наноантеннами являются мощными инструментами, позволяющими работать с отдельными частицами и молекулами в растворе, а также обеспечивать светоиндуцированное управление протеканием через них ионного тока. Однако манипулирование потоком ионного тока с помощью света по-прежнему требует высокой плотности мощности, что приводит к нагреву нанопор. В рамках данной работы эта проблема была решена за счет использования 5-нм нанопоры в зазоре плазмонной наноантенны в виде галстука-бабочки на мембране SiNx, облучаемой широкополосным источником света. В этом режиме фотоны не только сильно локализируются вокруг нанопор, но и эффективно возбуждают и захватывают носители заряда на дефектные состояния в запрещенной зоне материала стенок нанопор. В результате было достигнуто изменение ионного тока при облучении лампой со сплошным спектром мощностью около $0,035 \text{ Вт/см}^2$, что на несколько порядков меньше, чем в предыдущих работах с использованием спектрально узких лазерных источников (10^5 Вт/см^2). Облучение лампой вызывает увеличение проводимости нанопоры без наноантенны на 21 % и увеличение проводимости нанопоры, декорированной наноантенной, на 35 % при той же мощности облучения. Обнаруженный низкоинтенсивный подход к управлению ионным током более предпочтителен для исследования биологических объектов.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 20-74-10117)

Литература

1. *Hou Xu, Wei Guo, Lei Jiang*. Biomimetic smart nanopores and nanochannels // *Chemical Society Reviews*. 2011. 40.5. P. 2385–2401.
2. *Zhu Zhongpeng et al*. Ion/Molecule Transportation in Nanopores and Nanochannels: From Critical Principles to Diverse Functions // *Journal of the American Chemical Society*. 2019.
3. *Slouka Zdenek et al*. Charge inversion, water splitting, and vortex suppression due to DNA sorption on ion-selective membranes and their ion-current signatures // *Langmuir*. 2013. 29.26. P. 8275–8283.
4. *Favre I., Moczydlowski E., Schild L*. On the structural basis for ionic selectivity among Na⁺, K⁺, and Ca²⁺ in the voltage-gated sodium channel // *Biophysical journal*. 1996. 71.6. P. 3110–3125.
5. *Payandeh Jian et al*. Crystal structure of a voltage-gated sodium channel in two potentially inactivated states // *Nature*. 2012. 486.7401. P. 135.
6. *Wei Ruoshan et al*. Stochastic sensing of proteins with receptor-modified solid-state nanopores // *Nature nanotechnology*. 2012. 7.4. P. 257.

ОПТИКО-ЭЛЕКТРОННАЯ СИСТЕМА ДЛЯ АНАЛИЗА МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ В НОВООБРАЗОВАНИЯХ КОЖИ

В. И. Букова^{1,*}, А. С. Мачихин¹, А. В. Гурьева¹, М. В. Волков¹,
Л. М. Смирнова², Е. В. Орлова², Д. С. Фомина³, И. В. Данилычева⁴
* bukova.vi@ntcup.ru

¹*Научно-технологический центр уникального приборостроения РАН, Москва*

²*Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, Москва*

³*Государственная клиническая больница № 52, Москва*

⁴*ФГБУ ГНЦ Институт иммунологии ФМБА России, Москва*

Анализ морфологии капиллярной сети — важный метод в дифференциальной диагностике доброкачественных и злокачественных новообразований кожи [1, 2]. Наиболее часто в медицинской практике сосудистые структуры анализируются методом дерматоскопии. Однако на ранних стадиях развития новообразований сосуды в них малоразличимы, из-за чего возникает сложность в интерпретации полученных данных и, как следствие, правильность поставленного диагноза во многом опирается на наличие практического опыта у врача.

Чтобы повысить видимость сосудистой сети, используются различные методы визуализации: оптическая когерентная томография [3], фотоакустическая и ультразвуковая визуализация [4]. Недостатком этих методов является необходимость введения в организм подкрашивающих агентов и чувствительность к движениям. Видеокапилляроскопия [5] свободна от указанных недостатков, проста и доступна в реализации.

В представленной работе предложен макет оптико-электронного прибора и метод обработки изображений для анализа микроциркуляции в новообразованиях кожи и визуализации сосудов с помощью метода видеокапилляроскопии. Описанная система была экспериментально апробирована. В результате обработки данных были получены изображения распределения сосудов в области, пораженной базальноклеточным раком кожи. Полученная карта капиллярной

сети обладает высоким контрастом и характерна для исследуемого заболевания, что подтверждает возможность использования описанной системы в дополнение к традиционным методам диагностики.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства здравоохранения РФ Рег. № НИОКТР 122120600044-2. Исследование выполнено с использованием оборудования Центра коллективного пользования НТЦ УП РАН.

Литература

1. *Argenziano G., Soyer H. P.* Dermoscopy of pigmented skin lesions – a valuable tool for early diagnosis of melanoma // *Lancet Oncology*. 2001. Vol. 2. № 7. P. 443–449.
2. *Zalaudek I. et al.* How to diagnose nonpigmented skin tumors: a review of vascular structures seen with dermoscopy: part I. Melanocytic skin tumors // *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2010. Vol. 63. № 3. P. 361–374.
3. *Gambichler T., Jaedicke V., Terras S.* Optical coherence tomography in dermatology: technical and clinical aspects // *Arch Dermatol Res*. 2011. Vol. 303. P. 457–473.
4. *Saijo, Yoshifumi et al.* Visualization of skin morphology and microcirculation with high frequency ultrasound and dual-wavelength photoacoustic microscope // *Photons Plus Ultrasound: Imaging and Sensing*. 2019. Vol. 10878. SPIE, 2019.
5. *Machikhin A. S. et al.* Exoscope-based videocapillaroscopy system for in vivo skin microcirculation imaging of various body areas // *Biomedical Optics Express*. 2021. Vol. 12. № 8. P. 4627–4636.

ГОЛОГРАФИЧЕСКАЯ РЕЛАКСОМЕТРИЯ И ЛАЗЕРНАЯ МИКРОСКОПИЯ ЛЮМИНЕСЦИРУЮЩИХ НАНОЧАСТИЦ И МОЛЕКУЛ

Л. Н. Бородина^{1,*}, А. О. Орлова¹, А. В. Вениаминов¹

* lnborodina@itmo.ru

¹Университет ИТМО, 197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., д. 49

В работе представлены результаты разработки и использования комплексного подхода, основанного на формировании в исследуемых системах фотоиндуцированных периодических и непериодических распределений концентрации наночастиц и анализе развития во времени дифракционного и люминесцентного откликов.

С помощью экспериментальной техники исследования диффузионной и дрейфовой подвижности люминесцирующих наноструктур средствами люминесцентной лазерной сканирующей микроскопии и голографической релаксометрии определены коэффициенты диффузии люминесцирующих молекул и наночастиц, рассчитаны их гидродинамические размеры.

Люминесцентная техника основана на известном методе восстановления флуоресценции после фотообесцвечивания, который подразумевает «выжигание» в исследуемом объекте пятна (обесцвечивание) и наблюдение восстановления люминесценции благодаря диффузионному перемешиванию обесцвеченных и необесцвеченных частиц [1], в разрабатываемой технике исследования диффузии анализируется не интегральное изменение интенсивности люминесценции в результате фотообесцвечивания, а пространственное распределение интенсивности люминесцентного сигнала с течением времени.

Показаны результаты исследования камфорохинона (КХ) в вязком расплаве диметилового эфира фенолфталеина при температурах от 50 до 70 °С с помощью люминесцентной и голографической техник. Впервые представлены экспериментальные данные и результаты моделирования, подтверждающие предположение о том, что

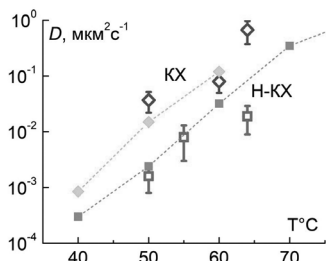


Рис. 1. Зависимости коэффициентов диффузии КХ (ромбы) и продукта его фотопревращения (квадраты) от температуры, полученные люминесцентным методом (пустые символы) и с помощью голографической релаксометрии (окрашенные символы)

распределение флуоресценции может возникать даже без изменения ее квантового выхода, только за счет изменения коэффициента диффузии. Сравнение результатов исследования коэффициента диффузии КХ и продукта его фотовосстановления с помощью модифицированной техники восстановления люминесценции после фотообесцвечивания и техники голографической релаксометрии показано на рис. 1.

Оба метода исследования диффузии позволяют получать информацию как об исходной, так и о фототрансформированной форме частиц. При этом люминесцентная техника позволяет более определенно относить коэффициенты диффузии к той или иной форме вещества, чем голографический метод.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ, госзадание № 2019-1080, и гранта НИРМА ФТ МФ Университета ИТМО.

Литература

1. *Carnell M., Macmillan A., Whan R.* Fluorescence recovery after photobleaching (FRAP): acquisition, analysis, and applications // *Methods in Membrane Lipids*. 2015. P. 255–271.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ БИОАЭРОЗОЛЕЙ ГАЗОВЫМ ПРОТОЧНЫМ ОПТИЧЕСКИМ ЦИТОМЕТРОМ

И. Ю. Попова^{1,*}, Ю. А. Кузишин¹, А. Э. Акмалов¹, Г. Е. Котковский¹,
И. Л. Мартынов¹, Е. В. Осипов¹, А. А. Чистяков¹, А. П. Ткачук²,
Б. И. Вердиев², А. Г. Алатырев²
* piy002@campus.mephi.ru

¹Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», 115409,
Москва, Каширское шоссе, 31

²НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи, 123098, Москва, ул. Гамалеи, 18

В настоящее время особенно актуален вопрос обнаружения биологических аэрозолей, включающих в себя вирусы, бактерии и бактериальные токсины, а также аллергические и патогенные организмы [1]. Необходимость детектирования биоаэрозолей в режиме реального времени возникает во многих аналитических комплексах мониторинга биологической и экологической обстановки. Зачастую задача высокоскоростного экспресс-анализа респираторной (вдыхаемой) фракции аэрозоля с характерным размером частиц 1–10 мкм решается, в частности, проточно-оптическим методом (ПОМ) [2].

Распознавание биоаэрозолей различной природы возможно благодаря оптическим свойствам биофлуорофоров. Известно, что многие белки флуоресцируют в ближней УФ-области, а их флуоресценция определяется ароматическими аминокислотами, такими как триптофан, тирозин и фенилаланин [3]. Биоаэрозольные частицы разного типа имеют различное количество люминесцирующих органических молекул и, следовательно, индивидуальный спектр люминесценции. Таким образом, измеряя спектр люминесценции, можно классифицировать биоаэрозольную частицу.

Экспериментальные исследования проводились на воздушном проточно-оптическом анализаторе (рис. 1). В основе проточно-оптического метода лежит воздействие УФ-источником (280 нм) на каждую отдельную частицу из анализируемого воздушного потока с последующей регистрацией отклика в виде флуоресцентного свечения

и упругого рассеяния падающего света. Сигналы рассеяния и флуоресценции от каждой частицы попадают в систему регистрации, где разделяются по спектральным диапазонам (280 нм, 300–400 нм, 400–500 нм, 500–600 нм). Анализ полученных сигналов позволяет выделять потенциально опасные биологические частицы на фоне остальных. Важной частью установки является система газодинамической фокусировки, на выходе из которой анализируемый воздушный поток фокусируется в тонкую газовую струю, в которой все аэрозольные частицы следуют по одной «друг за другом».

Основным недостатком данного подхода является низкая селективность при анализе биоаэрозольных частиц из воздуха. Это обусловлено высоким статистическим разбросом параметров аэрозольных частиц и шумовыми характеристиками детектирующей системы. В рамках данной работы проводились исследования возможности повышения селективности метода применительно к аэрозольным частицам, а также особенностей их идентификации.

Для повышения селективной способности метода было предложено ввести в рассмотрение дополнительный информативный признак, описывающий каждую зарегистрированную аэрозольную частицу, — время пролета частицы через анализируемый объем прибора (τ). Было установлено, что аэрозольные частицы разного размера в анализаторе двигаются с разной скоростью на выходе из системы газодинамической фокусировки, т. е. они не двигаются со скоростью сфокусированного воздушного потока.

В результате введения в рассмотрение времени пролета каждой частицы стало возможным перейти к статистическому анализу ансамбля сечений рассеяния и флуоресценции каждой зарегистрированной частицы(σ)

$$\frac{E}{\tau} = P \sim \sigma I_{\text{возб}} \sim \sigma,$$

где τ — время пролета частицы через анализируемый объем прибора, E — энергия оптического сигнала, P — мощность оптического сигнала, σ — сечение рассеяния или флуоресценции частицы, $I_{\text{возб}}$ — интенсивность возбуждающего излучения. Методика анализа экспериментальных данных, основанная на рассмотрении сечений

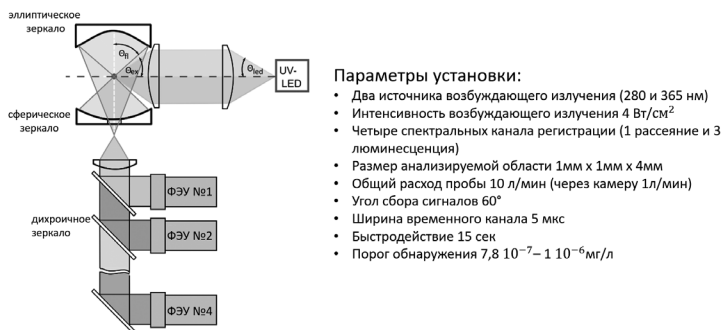


Рис. 1. Схема реализации проточно-оптического метода в экспериментальной установке и основные параметры

люминесценции/рассеяния, позволяет проводить более глубокий анализ аэрозольного состава воздуха, в частности более избирательный анализ многокомпонентных аэрозолей. Также было показано, что фильтрация по времени пролета анализируемых частиц может существенно уменьшить дисперсию сигнала на гистограммах рассеяния/люминесценции и тем самым улучшить селективность методики.

Также были получены характеристики аппаратного фонового сигнала проточно-оптического анализатора. Можно сделать вывод, что фон преимущественно представляет собой дробовой шум и влияет не только на статистический разброс сигнала, но и на положение облака точек, описывающих аэрозольную фракцию, на многомерной признаковой гистограмме. В дальнейшем этот факт может использоваться для унификации алгоритма идентификации и возможности сопоставления сигналов с разных экземпляров проточно-оптических анализаторов.

Литература

1. Lacey J., Dutkiewicz J. Bioaerosols and Occupational Lung Disease // J. Aerosol Sci. Vol. 25. P. 1371–1404.
2. Sincock S. A., Kulaga H., Cain M., Anderson P., Stopa P. J. Applications of Flow Cytometry for the Detection and Characterization of Biological Aerosols // Field Analytical Chemistry and Technology.
3. Владимиров Ю., Бурштейн Э. Спектры люминесценции ароматических кислот и белков // Биофизика. 1960. Т. 4. С. 385–392.

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА МИКРОФЛЮИДНЫХ ЯЧЕЕК ДЛЯ МАССОВОГО ПАРАЛЛЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДНК

М. А. Малахова^{1,2}, В. С. Гусев³, Я. Д. Седов³, А. Д. Смирнов³,
М. Ш. Тугушев³, В. С. Резник⁴, А. И. Петров⁴, Н. А. Есикова⁴,
А. А. Евстапов⁴, В. Е. Курочкин⁴, Я. И. Алексеев^{2,4,*}
* jalex@syntol.ru

¹ *Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, химический факультет, Москва*

² *ООО НПФ «Синтол», Москва*

³ *АО «Светлана-Электронприбор», Санкт-Петербург*

⁴ *Институт аналитического приборостроения РАН, 198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А*

Разработка и широкое внедрение в практику научно-исследовательских центров полногеномных секвенаторов диктует необходимость разработки технологий и масштабирования производства необходимых для обеспечения их функционирования расходных материалов. Одним из ключевых расходных материалов для секвенаторов с оптической детекцией сигналов флуоресценции являются проточные микрофлюидные ячейки (чипы) [1]. АО «Светлана-Электронприбор» разработало технологию серийного производства ячеек для полногеномных секвенаторов «Нанофор СПС» (ИАП РАН, Россия) и MiSeq (Illumina, США) путем последовательной электродиффузионной сварки стекло — кремний — стекло (1000 мкм × 110 мкм × 200 мкм). В пластине кремния предварительно насковзь протравливаются каналы заданной конфигурации, обеспечивающие возможность прокачки необходимых для реализации метода секвенирования реагентов.

Для обеспечения размножения молекул ДНК на стеклянных поверхностях ячеек методом мостиковой амплификации [2] проводится функционализация поверхности методом силанизации 3-(триметоксисил)пропил метакрилатом с последующей радикальной сополимеризацией на поверхности смеси акриламида и синтетических олигонуклеотидов, содержащих 5'-метакрилат [3].

Оценку качества прохождения реакции сополимеризации проводят на приборах Turbophoon 9200 (Molecular Dynamics, США) и «Нанофор СПС». Для этого через ячейку прокачивается смесь флуоресцентно-меченых олигонуклеотидов, комплементарных иммобилизованному на поверхности олигонуклеотидам.

Основными контрольными параметрами, по которым проходит оценка качества функционализации ячейки, являются равномерность покрытия и интегральная интенсивность сигнала флуоресценции. Ячейка является пригодной для работы при соответствии

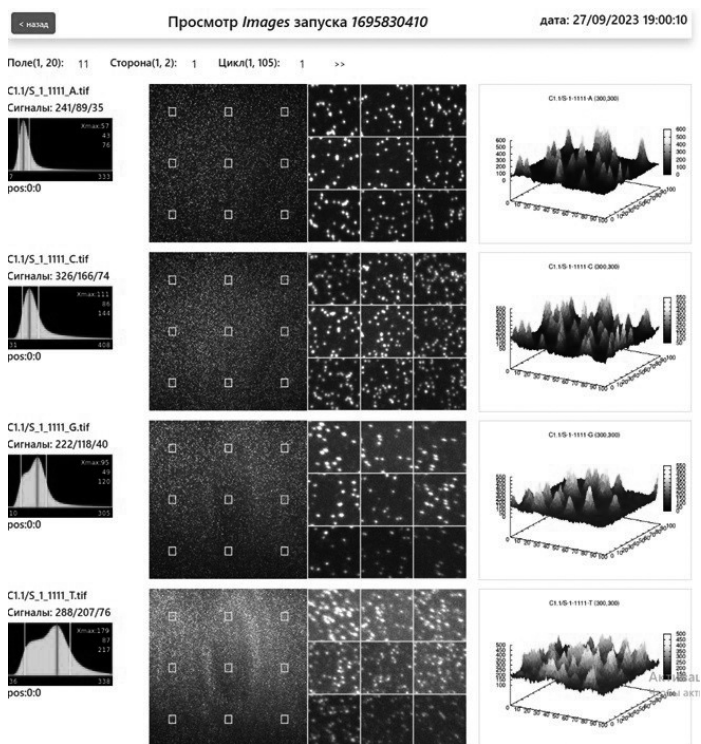


Рис. 1. Пример автоматического прочтения первого нуклеотида на приборе «Нанофор СПС» после завершения мостиковой амплификации

следующим параметрам: равномерность по всем полям зрения — высокая (нет перепадов интенсивности более чем на 300 относительных единиц флуоресценции (ОЕФ), дефектов, полос, черных точек), интегральная интенсивность в диапазоне 1000–1800 ОЕФ. Экспериментально показано, что ячейки, удовлетворяющие указанным требованиям, обеспечивают эффективное прохождение мостиковой амплификации с получением молекулярных колоний с интенсивностью свечения в ~300 ОЕФ (для каналов детекции А, Т и G) и ~400 ОЕФ (для канала С) при средних временах экспозиции 250–300 мсек (для каналов А и С) и 500–600 мсек (для каналов Т и G). Для таких ячеек эффективно функционирует автофокусировка и автоэкспозиция оптической системы прибора «Нанофор СПС», что обеспечивает возможность секвенирования путем синтеза в автоматическом режиме (рис. 1).

В настоящее время продолжается совершенствование технологических этапов производства ячеек, направленное на увеличение выхода ячеек с заданным качеством. Одновременно начаты эксперименты, направленные на получение ячеек с большей (в 10–20 раз) площадью поверхности для работы в составе более производительных полногеномных секвенаторов.

Литература

1. Евстапов А. А., Лукашенко Т. А., Рудницкая Г. Е., Буляница А. Л., Курочкин В. Е., Гусев В. С., Иванов О. Г., Беркутова И. Ф., Савицкая А. А. Микрофлюидные чипы из стеклянных материалов // Научное приборостроение. 2012. Т. 22. № 2. С. 27–43.
2. Четверин А. Б., Четверина Е. В. Способ размножения нуклеиновых кислот, способ их экспрессии и среда для их осуществления. Пат. 2048522 РФ; заявл.14.10.1992; опубл.20.11.1995.
3. Khrapko K. R., Lysov Yu. P., Khorlyn A. A., Shik V. V., Florentiev V. L., Mirzabekov A. D. An oligonucleotide hybridization approach to DNA sequencing // FEBS Lett. 1989. Oct 9. 256 (1–2). P. 118–122. doi: 10.1016/0014-5793(89)81730-2.

**КАПИЛЛЯРНАЯ СБОРКА В ГЕНЕТИЧЕСКОМ АНАЛИЗАТОРЕ
«НАНОФОР 05»**

Д. В. Бочарова^{1,*}, Н. А. Корнева¹, А. С. Альдекеева¹, Е. Д. Петрова¹,
А. В. Меркурьев¹

* souldarydary@gmail.com

¹Институт аналитического приборостроения РАН, 198095,
Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А

Генетический анализатор «Нанофор 05» представляет собой устройство для капиллярного электрофореза нуклеиновых кислот, оснащенное лазером, который индуцирует флуоресценцию по семи каналам. Данный прибор способен проводить электрофорез одновременно в восьми капиллярах. Главными функциональными задачами генетического анализатора являются определение последовательности биологических молекул (секвенирование) и оценка длины и/или относительной интенсивности флуоресценции фрагментов ДНК (фрагментный анализ) [1].

Важным компонентом прибора «Нанофор 05» является капиллярная сборка (КС), состоящая из восьми капилляров. КС представляет собой приспособление, в котором капилляры фиксированной длины закреплены с одной стороны в круглом наконечнике (для заполнения капилляров полимером) и с другой стороны в гребенке с иглами-электродами для забора пробы. Между ними на определенном расстоянии расположено окно детекции.

Для изготовления КС используются кварцевые капилляры с полиимидным покрытием фирмы Molex Polymicro внешним диаметром 183 ± 2 мкм и внутренним диаметром 50 мкм. Полиимидная пленка обеспечивает прочность и гибкость кварцевым капиллярам, но мешает корректной передаче данных флуоресценции на микросхему КМОП. Поэтому в КС имеется небольшой участок без данного покрытия, зафиксированный в держателе оптического окна детекции. Удаление полиимидного покрытия осуществляется простым, но проверенным и эффективным методом выжигания с последующей

очисткой выжженного участка от продуктов горения с помощью этилового спирта. Данная процедура является обязательной и признана стандартной практикой в этой области исследований.

Для надежной фиксации капилляров в канавке держателя окна детекции используется клей, который должен соответствовать следующим требованиям:

- обеспечивать надежную фиксацию капилляров в окне;
- выдерживать перепады температур без разрыва капилляров из-за натяжения;
- не мешать регистрации сигналов при анализе;
- обладать стабильностью с течением времени;
- быть устойчивым к повышенным температурам в блоке детекции (порядка 60 °С);
- не растекаться при нанесении и иметь достаточное время отверждения для выполнения всех необходимых при сборке операций.

Вышеперечисленные требования играют важную роль в обеспечении надежной и точной работы прибора «Нанофор 05». Пример капилляров, зафиксированных в окне детекции, представлен на рис. 1. Изображение получено с помощью микроскопа ЛОМО МСП-1 с общим увеличением 40x (10x на окулярах и 4x внутреннее увеличение объектива).

При проведении как сиквенсного, так и фрагментного анализов крайне существенным является учет отношения сигнал — шум —

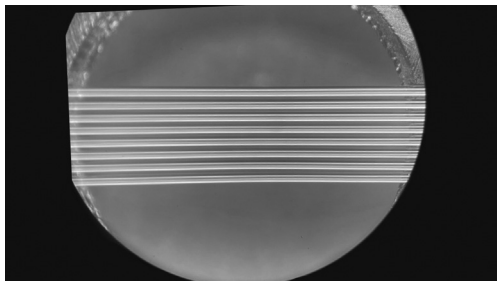


Рис. 1. Изображение корректно вклеенных капилляров в канавку окна без видимых деформаций

важного параметра, воздействующего на точность вычислений при обработке «сырых» данных. Данное отношение подвержено вариативности, которая прямо коррелирует с несколькими факторами, включающими степень очистки капилляра от полиимидного покрытия, вид и характеристики клея, применяемого для фиксации капилляров в окне детекции, а также химической среды, используемой для заполнения капилляров.

Перед анализом капилляры заполняются стандартизированным полимером на основе линейного полидиметилакриламида согласно установленному протоколу. Уровень шума, наблюдаемый после выполнения вышеуказанных процедур, составляет до 20 000 относительных единиц флуоресценции. Следует отметить, что дополнительный вклад в изменение уровня шума происходит в значительной степени за счет химического состава клея, присутствующего в окне детекции, а также воздействия внешних факторов, таких как частицы пыли, которые могут быть устранены сжатым воздухом.

Следует подчеркнуть важность корректного расположения капилляров внутри пространства канавки окна детекции для обеспечения эффективного обнаружения флуоресценции. Для контроля этого показателя выполняется внутриприборная пространственная калибровка. Для успешного прохождения этой процедуры капилляры должны быть ровно и стабильно закреплены без возможности перемещения внутри окна детекции. Такая фиксация капилляров обеспечивается вышеуказанным клеем, который выдерживает нагревание в блоке детекции во время анализа, а затем охлаждение после завершения работы прибора.

На данный момент было произведено и внедрено в эксплуатацию более двух тысяч экземпляров капиллярных сборок для генетических анализаторов «Нанофор 05».

Литература

1. Волков А. А., Волков И. А., Плугов А. Г., Кулябина Е. В., Мелкова О. Н., Лавров Г. С., Бочарова Д. В., Алексеев Я. И. Генетический анализатор Нанофор 05 в качестве средства измерений при секвенировании ДНК // Измерительная техника. 2021. № 1. С. 60–65.

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИЙ СИНТЕЗА НАНОРАЗМЕРНОГО КАРБОНАТА КАЛЬЦИЯ С ВОЗМОЖНОСТЬЮ ЗАГРУЗКИ ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ БИОМОЛЕКУЛ НА ЕДИНОЙ МИКРОФЛЮИДНОЙ ПЛАТФОРМЕ

К. В. Арабули^{1,*}, А. Акенун¹, Г. Ажаму¹, М. В. Зюзин¹

* k.arabuli@metalab.ifmo.ru

¹Физический факультет, университет ИТМО, 191002, Санкт-Петербург,
Ломоносова, 9

Наночастицы карбоната кальция обладают преимуществами для *in vivo* применений в области адресной доставки лекарств и генной терапии благодаря повышенной фармакокинетике, возможностью преодолевать мембранные барьеры, рН чувствительностью, низкой токсичностью и биосовместимостью. Частицы с инкапсулированными высоко- и низкомолекулярными соединениями позволяют лечить некоторые типы заболеваний путем редактирования генома больных клеток и/или доставки в эти клетки необходимых ферментов и белков.

Частицы CaCO_3 имеют три основные полиморфные модификации: ватерит, кальцит и арагонит. Все они образуются из аморфной фазы карбоната кальция. На сегодняшний день известно, что аморфная модификация обладает возможностью инкапсулировать биомолекулы, такие как белки и пептиды [1]. Также известно большое количество публикаций, направленных на использование частиц CaCO_3 в адресной доставке лекарств [2, 3]. На данный момент существует большое разнообразие методик синтеза как микронных частиц карбоната кальция, так и наноразмерных. Например, были синтезированы сферические частицы карбоната кальция размерами 0,4–4,5 мкм [4], где в качестве растворителей использовалась вода и этиленгликоль, путем смешивания двух растворов с помощью магнитного перемешивания с разным временем реакции при комнатной температуре. Также использовалась методика синтеза, основанная на ультразвуковом и микрофлюидном перемешивании исходных растворов [4, 5]. Необходимо заметить, что время синтеза

для получения монодисперсных наноразмерных частиц карбоната кальция варьируется и может занимать до 24 часов [6].

Несмотря на это, существуют ряд научных задач, которые не могут быть разрешены в рамках традиционных методик:

а) уменьшить время, требуемое на синтез, как результат – предотвратить деградацию загружаемых биомолекул, которая может быть связана с долгим перемешиванием, вязкостью и локальными флуктуациями температуры, что становится значимым при продолжительном времени синтеза, и физическими особенностями образования наночастиц;

б) обеспечить прецизионный контроль условий синтеза и концентраций загружаемых чувствительных биомолекул.

Сегодня многообещающим подходом для решения обозначенных выше задач являются микрофлюидные технологии. Микрофлюидные платформы позволяют синтезировать наночастицы [7, 8] с высокой эффективностью инкапсуляции и предотвращением деградации загружаемых биомолекул [9].

Более того, микрофлюидный подход позволяет значительно уменьшить время синтеза наночастиц по сравнению с традиционными методами синтеза [10] из-за большей площади реакционной поверхности [11], а также благодаря топологическим особенностям платформ, на которых производится синтез. Они позволяют эффективно перемешивать реагенты в короткие сроки, обеспечивая гомогенную реакционную среду на всем протяжении реакции [12].

В данной работе применялся метод синтеза наноразмерных частиц в непрерывном потоке, реализованном на микрофлюидной платформе с двумя сходящимися каналами для водных растворов CaCl_2 и Na_2CO_3 и третьим каналом для опциональной функционализации получаемых частиц и инкапсуляции активных биомолекул. Мастер-форма платформы была создана с использованием 3D-технологий, сам чип был выполнен из полидиметилсилоксана с последующей герметизацией на стекло с помощью обработки в плазме кислорода.

В процессе синтеза наночастиц менялись концентрация и расход реактивов, время синтеза. Было продемонстрировано, что с ростом концентрации и времени синтеза диаметр получаемых частиц

увеличивался, в то же время вместе со снижением расходов реактивов диаметр уменьшался. Таким образом, после оптимизации процесса синтеза стало возможным контролировать размеры синтезируемых частиц в диапазоне от 50 нанометров до 8 микрометров. С помощью третьего канала была показана возможность функционализации поверхности частиц с помощью декстран сульфата натрия для повышения характеристики стабильности наночастиц внутри и вне клетки и избегания перекоденсации. Также были получены данные о цитотоксичности синтезируемых частиц на клеточной линии здоровых почек человека, которая оказалась сравнительно низкой по сравнению с магнитными наночастицами. Процент выживших клеток составил около 90 %. Эффективность загрузки доксорубина достигала до 50 %. Качественные данные об интернализации клетками частиц и успешной доставке доксорубина были получены на здоровых эмбриональных почках человека с помощью проточной цитофлуориметрии и лазерной сканирующей конфокальной микроскопии.

В результате разработки и создания микрофлюидной платформы был продемонстрирован простой и эффективный метод синтеза биосовместимого наноразмерного карбоната кальция для *in vivo* применений. Использование микрофлюидных технологий позволило значительно снизить время, требующееся на синтез, а также контролировать диаметр частиц в широком диапазоне.

Литература

1. *Tan Chen et al.* Advanced CaCO₃-derived delivery systems for bioactive compounds // *Advances in Colloid and Interface Science*. 2022. P. 102791.
2. *Huang Yanqi et al.* Hard, soft, and hard-and-soft drug delivery carriers based on CaCO₃ and alginate biomaterials: synthesis, properties, pharmaceutical applications // *Pharmaceutics*. 2022. 14.5. P. 909.
3. *Xu Yuejuan et al.* Lipid-coated CaCO₃ nanoparticles as a versatile pH-responsive drug delivery platform to enable combined chemotherapy of breast cancer // *ACS Applied Bio Materials*. 2022. 5.3.
4. *Parakhonskiy B. V. V., Haase A., Antolini R.* Sub-micrometer vaterite containers: Synthesis, substance loading, and release // *Angew. Chem.-Int. Ed.* 2012. 51. P. 1195–1197.

5. *Svenskaya Y. I., Fattah H., Zakharevich A. M., Gorin D. A., Sukhorukov G. B., Parakhonskiy B. V.* Ultrasonically assisted fabrication of vaterite submicron-sized carriers // *Adv. Powder Technol.* 2016. 27. P. 618–624.
6. *Li L., Sanchez J. R., Kohler F., Røyne A., Dysthe D. K.* Microfluidic Control of Nucleation and Growth of CaCO₃ // *Cryst. Growth Des.* 2018. 18. P. 4528–4535.
7. *Nathanael K. et al.* Computational modelling and microfluidics as emerging approaches to synthesis of silver nanoparticles — A review // *Chemical Engineering Journal.* 2022. 436. P. 135178.
8. *Chircov C. et al.* Microfluidic synthesis of -nh₂-and -cooh-functionalized magnetite nanoparticles // *Nanomaterials.* 2022. 12.18. P. 3160.
9. *Bendre A. et al.* Recent developments in microfluidic technology for synthesis and toxicity-efficiency studies of biomedical nanomaterials // *Materials Today Advances.* 2022. 13. P. 100205.
10. *Khizar S. et al.* Microfluidic-based nanoparticle synthesis and their potential applications // *Electrophoresis.* 2022. 43.7-8. P. 819–838.
11. *Agha A. et al.* A review on microfluidic-assisted nanoparticle synthesis, and their applications using multiscale simulation methods // *Discover Nano.* 2023. 18.1. P. 18.
12. *Huang Y. et al.* Microfluidic Synthesis of Nanomaterials for Biomedical Applications // *Nanoscale Horizons.* 2023.

СИНТЕЗ МЕТАЛЛ-ОРГАНИЧЕСКИХ КАРКАСОВ НКUST-1 МЕТОДОМ КАПЕЛЬНОЙ МИКРОФЛЮИДИКИ

А. О. Кулешова¹, И. Г. Корякина¹, М. В. Зюзин^{1,*}

* zyuzin.mikhail@gmail.com

¹ *Физический факультет, университет ИТМО, 191002, Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, д. 9*

Благодаря гибридной природе и сложной кристаллической структуре металл-органические каркасы (МОК) могут быть применены в различных целях, в числе которых поглощение и хранение газов [1],

загрузка лекарств [2], а также хранение данных [3], создание оптических переключателей и сенсоров [4]. Свойства МОК определяются условиями синтеза. Капельная микрофлюидика позволяет контролировать условия синтеза материалов (время реакции, объемы реактора с точностью до пиколитров, температуру реакции) с точностью, позволяющей варьировать такие структурные свойства материалов, как морфология, кристаллическое строение, оптические свойства. В данной работе рассмотрен синтез МОК НКUST-1 с помощью капельной микрофлюидики. Применение КМ позволяет уменьшить время синтеза до 7 минут, а также контролировать параметры получаемых частиц. Показано, что при вариации таких параметров синтеза, как объем микрореактора и температура синтеза, возможно контролировать структурные свойства МОК.

Металл-органические каркасы — это кристаллические пористые материалы, отличительными свойствами которых являются большая площадь внутренней поверхности и высокая пористость. Основным применением МОК до недавнего времени считалось хранение различных газов [1], а также использование в качестве катализаторов [5]. Помимо этого, МОК возможно использовать в качестве оптического сенсора и, например, для хранения данных [3]. Так, в работе [4] использован единичный кристалл МОК размером 100 мкм для соединения электродов и дальнейшего преобразования света в электрический сигнал с высокой скоростью отклика. Для расширения возможностей использования МОК в качестве фотодетектора необходим универсальный метод синтеза, позволяющий варьировать размеры кристаллов.

Метод капельной микрофлюидики делает возможным высокий контроль над размерами получаемых частиц путем регулирования параметров системы синтеза (расход дисперсной и несущей фаз), а также позволяет уменьшить время синтеза в несколько раз в сравнении с традиционными химическими методами синтеза МОК (диффузионный, сольвотермальный, электрохимический и др.). Это достигается за счет применения процесса эмульсификации, в течение которого образуются капли дисперсной фазы, содержащей прекурсоры МОК, в непрерывной фазе. Полученные капли можно

рассматривать в качестве микрореакторов с определенным соотношением реагентов, объем которых возможно контролировать путем изменения соотношения расхода дисперсной и непрерывной фаз.

В данной работе были синтезированы МОК НКУСТ-1 ($C_{18}H_6Cu_3O_{12}$) методом капельной микрофлюидики. Синтез реализован в микрофлюидном чипе (МФЧ) с геометрией фокусировки потока, который был изготовлен методом селективного лазерного травления. Прекурсоры подавались в МФЧ с помощью шприцевых насосов (Harvard Apparatus, США). В качестве непрерывной фазы использовалось фторированное масло FC-40. Дисперсной фазой являлись нитрат меди ($Cu(NO_3)_2$) и тримезиновая кислота (H_3BTC), растворенные в диметилформамиде в концентрациях $C_1 = 0,167$ ммоль/мл и $C_2 = 0,113$ ммоль/мл соответственно. Также проведена вариация температуры синтеза с помощью нагревательной подложки. Температура подложки регулировалась величиной подаваемого напряжения. Синтез был проведен при следующих температурах: комнатная температура (22 °C), 50 °C, 80 °C и 110 °C. Для изменения объема микрореакторов была проведена вариация расхода подачи непрерывной фазы. Были синтезированы структуры при расходе непрерывной фазы, равной 10 и 300 мкл/мин. Полученные структуры МОК были проанализированы методом СЭМ и РПД.

Синтезированы МОК НКУСТ-1 при температурах 22 °C, 50 °C, 80 °C и 110 °C синтеза и расходах непрерывной фазы 10 и 300 мкл/мин. Были получены зависимости размеров микрореакторов от параметров синтеза. Сканирующая электронная микроскопия показала, что при увеличении температуры размер получаемых структур также увеличивается. Из дифрактограмм рентгеновской порошковой дифрактометрии были получены размер кристаллита и напряжение кристаллической решетки и установлены их зависимости от температуры.

Литература

1. *Li H. et al.* Porous metal-organic frameworks for gas storage and separation: Status and challenges // *EnergyChem*. 2019. Vol. 1. № 1. P. 100006.
2. *Koryakina I. G. et al.* Microfluidic synthesis of metal-organic framework crystals with surface defects for enhanced molecular loading // *Chemical Engineering Journal*. 2023. Vol. 452. P. 139450.

3. Wang Z. *et al.* Resistive switching nanodevices based on metal – organic frameworks // ChemNanoMat. 2016. Vol. 2. № 1. P. 67–73.
4. Bachinin S. *et al.* Metal-organic framework single crystal infrared photo-detector // Photonics and Nanostructures-Fundamentals and Applications. 2023. Vol. 55. P. 101145.
5. Varma R. S. *et al.* Introduction to Metal-Organic Frameworks (MOFs) // Metal-Organic Frameworks (MOFs) as Catalysts. Singapore: Springer Nature Singapore, 2022. P. 3–42.

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЙ СЕНСОР НА ОСНОВЕ ПЛАНАРНЫХ ЭЛЕКТРОДОВ С МОЛЕКУЛЯРНО-ИМПРИНТИРОВАННЫМ ПОЛИМЕРОМ ДЛЯ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ КАТЕХОЛАМИНОВ

Д. Ю. Хайруллина^{1,*}, Ю. А. Лексина¹, И. А. Челнокова¹, Л. Г. Шайдарова¹
* khairullinadarina@gmail.com

¹Химический институт им. А. М. Бутлерова КФУ, 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18

В настоящее время возрастает спрос на усовершенствованные аналитические методы при анализе фармацевтических препаратов и их метаболитов, которые влияют на здоровье человека. В надпочечниках продуцируются катехоламины (КА), являющиеся одновременно гормонами и медиаторами симпатoadренальной системы. К ним относятся дофамин (ДА), адреналин (АД) и норадреналин (НАД), влияющие на память, эмоции и познание. В результате снижения уровня КА уменьшается скорость мыслительных процессов, ухудшается настроение, усиливается депрессия. В связи с этим поиск приемов повышения чувствительности и селективности определения КА остается актуальной задачей на сегодняшний день.

Сочетание методологии вольтамперометрии с каталитическими свойствами химически модифицированных электродов (ХМЭ) позволяет значительно расширить аналитические возможности метода: повысить чувствительность, селективность и воспроизводимость определения. Среди ХМЭ интерес представляют сенсоры на основе молекулярно-импринтированных полимеров или полимеров с молекулярными отпечатками (МИП) благодаря свойству молекулярной памяти.

Целью данной работы является разработка электрохимического сенсора на основе планарного электрода, модифицированного композитом МИП из экологически чистого мономера никотинамида, с иммобилизованными частицами палладия, для вольтамперометрического определения КА.

На анодных ветвях вольтамперограмм окисления КА, полученных на электроде с МИП, наблюдается один пик, высота которого зависит от концентрации этих соединений. На композитном электроде наблюдается многократный прирост тока и уменьшение перенапряжения окисления КА. Каталитический отклик полученного сенсора отличается высокой стабильностью и воспроизводимостью.

При определении ДА в присутствии АД или НАД разность потенциалов окисления КА составляет 200 мВ, что позволяет проводить совместное определение двух соединений по одной вольтамперограмме. При этом линейная зависимость тока пика от концентрации КА наблюдается в интервале от 5×10^{-10} до 5×10^{-3} М, 5×10^{-8} до 5×10^{-3} М и 5×10^{-7} до 5×10^{-3} М для ДА, АД и НАД соответственно. Воспроизводимость сигнала сенсора без обновления поверхности достаточно устойчива в течение суток ($S_r < 2,0 \%$).

Предложенный способ позволяет проводить селективное определение ДА в присутствии АД и НАД с высокой чувствительностью в модельной системе сыворотки крови и урины в интервале концентраций, характерных для этих биологических жидкостей.

Благодарности

Работа выполнена за счет средств Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета.

ФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЯЗКОСТИ НЕНЬЮТОНОВСКОЙ ЖИДКОСТИ В КРИВОЛИНЕЙНОМ КАНАЛЕ

А. С. Якимов^{1,*}, М. И. Пряжников¹

* asyakimov@gmail.com

¹Сибирский федеральный университет, 660041, г. Красноярск, пр. Свободный, 79

Такие биологические жидкости, как кровь, лимфа, спинномозговая жидкость, межклеточная жидкость, цитоплазма клеток и др., являются неньютоновскими псевдопластичными жидкостями. Возможность проведения непрерывного мониторинга вязкостей таких жидкостей востребована в клинической практике, а также в лабораторных исследованиях. Ранее нами был предложен метод фотометрической оценки вязкости ньютоновских жидкостей в криволинейном канале по результатам анализа вихрей Дина [1]. В настоящей работе показано, что предложенный метод применим и для псевдопластичных жидкостей. Для этого в изогнутый канал подавались два потока

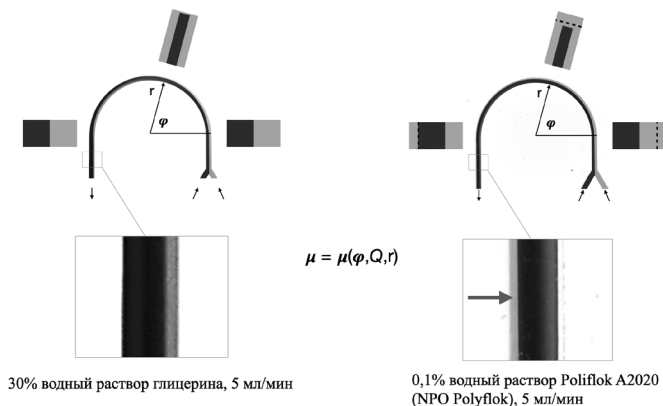


Рис. 1. Сравнение потоков в криволинейном канале при течении ньютоновской жидкости (слева) и неньютоновской жидкости (справа)

одной и той же жидкости, окрашенные в разные цвета (рис. 1). Были приготовлены и проверены несколько вариантов псевдопластичных жидкостей различной вязкости с различными наполнителями (Полифлок А2020 и Преастил 2515, 2540). Показано, что в этих жидкостях вихри Дина, в отличие от ньютоновских жидкостей, заполняют не весь объем канала и не затрагивают дистальную сторону изгиба канала, образуя достаточно четкую границу со слоем, где поперечные потоки незначительны ввиду большой вязкости. При увеличении скорости прокачки данный слой утоньшается и картина течения становится неотличима от ньютоновской жидкости. Полученные сведения могут быть использованы не только для оценки реологических свойств исследуемых образцов, но и для объяснения механизма влияния повышенной вязкости крови на тромбообразование [2].

Благодарности

Исследование выполнено в рамках государственного задания ФГАОУ ВО Сибирский федеральный университет (номер FSRZ-2020–0012).

Литература

1. *Pryazhnikov M. I. et al.* Fluid viscosity measurement by means of secondary flow in a curved channel // *Micromachines*. 2022. Vol. 13. № 9. P. 1452.
2. *Mackman N.* Triggers, targets and treatments for thrombosis // *Nature*. 2008. Vol. 451. № 7181. P. 914–918.

УПОРЯДОЧЕННЫЕ ПЛЕНКИ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В УСИЛЕННОЙ РАМАНОВСКОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

А. А. Павлова^{1*}, К. А. Малеева¹, Е. А. Смирнов¹

* arinapavlova29@mail.ru

¹Университет ИТМО, 191002, Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, д. 9

В современном мире рамановская спектроскопия является незаменимым методом идентификации молекул. С момента открытия поверхностно-усиленной рамановской спектроскопии в 1974 г. [1] было проведено множество исследований, связанных с усилением рамановского сигнала с помощью наночастиц (НЧ) золота и серебра благодаря их способности к локализованному поверхностному плазмонному резонансу.

В данной работе задача усиления интенсивности сигнала рамановской спектроскопии решается простым подходом к самосборке наночастиц золота без функционализации НЧ или использования ковалентных линкеров по ранее описанной методике [2]. При этом синтез золей НЧ был осуществлен классическим методом Френса [3], который заключается в восстановлении тетрахлороаурата (III) водорода с помощью одного из восстановителей: цитрата натрия, аскорбата калия или аскорбиновой кислоты, а также методом Парка [4], который заключается в наращивании затравочных частиц, синтезированных по методу Френса. Чтобы инициировать их рост, использовали мягкое восстановление HAuCl_4 аскорбиновой кислотой в присутствии AgNO_3 .

Коллоидные растровые наночастицы были охарактеризованы с помощью спектроскопии в УФ-видимой области и динамического светорассеяния. Оба метода показали, что НЧ имеют средний диаметр от 14 до 99 нм, при этом стабильны, т. к. дзета-потенциал находился в диапазоне $-25 \dots -30$ мВ.

Самосборка НЧ золота происходит благодаря молекулам тетраафульвалена (ТТФ), который выступает в роли серосодержащего

донора π -электронов. Затем такие пленки упорядоченных НЧ переносили на твердые подложки (кремний, пластик, ИТО и т. д.), которые в дальнейшем использовали в рамановской спектроскопии для усиления слабого сигнала рассеяния. Перенос плотноупакованных пленок на подложки осуществляли методом «аквапринт». Морфология полученных подложек исследовалась методом атомно-силовой микроскопии и сканирующей электронной микроскопии.

Усиливающие свойства подложек исследовали с помощью стандартной молекулы красителя Родамин 6Ж, добавление которого вызывает появление характерных пиков усиленного рамановского рассеяния. Расчет коэффициентов усиления (КУ) по линиям 1508 см^{-1} и 1360 см^{-1} дает $\sim 10^3$ для наночастиц диаметром 17 нм и $\sim 10^4$ для больших наночастиц (44 нм). Дальнейшая работа будет направлена на усовершенствование методики, увеличение коэффициента усиления и тестирование подложек с природными фенольными соединениями.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 22-73-00206).

Литература

1. *Fleischmann M., Hendra P. J., McQuillan A. J.* Chemical physics letters. 1974. 26. P. 163–166.
2. *Smirnov E., Scanlon M. D., Momotenko D., Vrubel H., Méndez M. A., Brevet P. F., Girault H. H.* ACS nano. 2014. 8. P. 9471–9481.
3. *Frens G.* Nature physical science. 1973. 241. P. 20–22.
4. *Park Y. K., Park S.* Chemistry of Materials. 2008. 20. P. 2388–2393.

УСОВЕРШЕНСТВОВАННАЯ БЕСПРОВОДНАЯ ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ СИСТЕМА С ОТКРЫТЫМ ИСХОДНЫМ КОДОМ ДЛЯ РЕГИСТРАЦИИ НЕЙРОННОЙ АКТИВНОСТИ *IN VIVO* В МОЗГЕ МЫШЕЙ

А. И. Ерофеев¹, **Е. К. Винокуров**^{1,*}, О. Л. Власова¹, И. Б. Безпрозванный^{1,2}
* vinokurov.ek@edu.spbstu.ru

¹Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,
195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, д. 29

²Юго-Западный медицинский центр Техасского университета, Даллас, Техас,
США

В современных нейробиологических исследованиях приоритетными являются методы детальной регистрации нейронной активности. Очень важны электрофизиологические эксперименты *in vivo*, позволяющие проводить глубокий анализ от нейронных спайков до локальных полевых потенциалов. Это позволяет лучше понять когнитивные, сенсорные и моторные функции, а также изучить нейродегенеративные заболевания, такие как болезнь Альцгеймера, отслеживая изменения нейронных паттернов на животных моделях, что может способствовать открытию потенциальных методов лечения.

Для проведения электрофизиологических исследований *in vivo* требуется специальное оборудование, такое как электродные массивы и системы сбора данных. Среди ведущих игроков рынка — Intan Technologies, Neuralynx, Tucker-Davis Technologies и др. Коммерческие системы удобны в использовании, имеют техническую поддержку, обеспечивают совместимость компонентов и проходят тщательное тестирование. Однако они дороже альтернатив с открытым исходным кодом и могут иметь ненастраиваемые проприетарные компоненты, что ограничивает их более широкое применение. Появление электрофизиологических систем с открытым исходным кодом предлагает экономически эффективные, гибкие и настраиваемые решения. Ранее наша команда разработала беспроводную систему с открытым исходным кодом, которая включала в себя беспроводной

модуль, базовую станцию и программное обеспечение для визуализации [1]. Разработанный электрофизиологический комплекс состоит из носимого беспроводного модуля и базовой станции. Носимый модуль включал электрофизиологический 32-канальный усилитель с униполярными входами, 36-канальный коннектор для подключения к 32-канальному микроэлектроду, разъем для подключения оптического зонда и литий-ионный аккумулятор (30 мАч 3,7 В). Базовая станция, управляемая микроконтроллером STM32F746VET6, осуществляла прием данных, их передачу и зарядку модуля. Коммуникация происходила через радиомодуль nRF24L01P на 2,4 ГГц. Приложение для ПК (MouseBrainView, 0.2.3) позволяло визуализировать сигналы в реальном времени и сохранять их в CSV-файле, представляя инструменты для настройки параметров записи.

В данной работе представлена вторая оптимизированная версия комплекса (рис. 1, б), которая претерпела ряд улучшений и упрощений в количестве компонентов. Во второй версии мы полностью отказались от базовой зарядной станции. Вместо этого устанавливается прямое соединение с персональным компьютером по протоколу Bluetooth версии 5.4 или более ранней. Беспроводной носимый модуль заряжается отдельно с помощью зарядной станции, а также может быть заряжен с помощью универсального зарядного устройства. Модуль выполнен в виде единой печатной платы, что отличает его от первой версии, в которой использовалась гибкая печатная плата, состоящая из двух частей.

Таким образом, во втором варианте прием, передача и обработка данных объединены в одной микросхеме, что дает потенциальные преимущества в отношении стоимости изготовления и энергопотребления беспроводного модуля. При рабочем напряжении 3,3 В потребляемый ток составляет: 2,5 мА в режиме ожидания и 2,6 мА в режиме передачи данных. Переход на NRF52805-CAAA-R7 и оптимизация всей системы позволили снизить массу беспроводного модуля с 1,79 до 0,95 г. Такое уменьшение позволило применить аккумуляторы (LP601120) большей емкости, что существенно увеличило время работы модуля на одном заряде. Например, при использовании аккумулятора емкостью 100 мАч прогнозируемая продолжительность

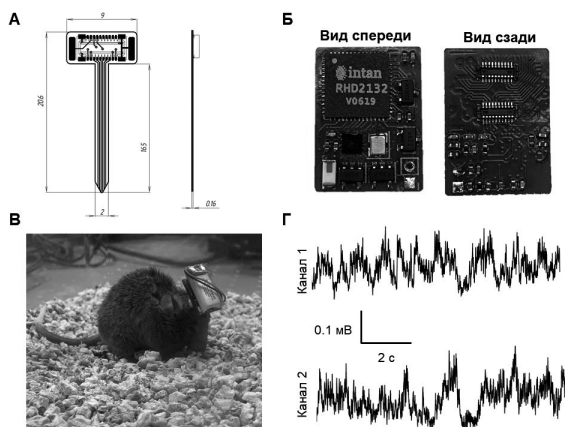


Рис. 1. *In vivo* регистрация нейронной активности в мозге мыши: а — схема имплантируемого 12-канального микроэлектрода; б — фотография второй версии беспроводного носимого модуля; в — лабораторная мышь с имплантированным 12-канальным микроэлектродом и подключенным беспроводным модулем; г — пример необработанной записи нейронной активности с двух каналов с частотой дискретизации 1000 Гц

автономной работы беспроводного модуля превышает 35 часов при уровне энергопотребления 2,6 мА. Еще одно заметное отличие от начальной версии заключается в возможности выбора частоты дискретизации. В первой версии данные записывались с фиксированной частотой дискретизации 300 Гц. Во второй, напротив, пользователь может выбирать частоту дискретизации в диапазоне от 62 до 1000 Гц.

Для оценки работы беспроводного модуля была проведена успешная запись нейронной активности мыши *in vivo* (рис. 1, в). Для этого был изготовлен 12-канальный микроэлектрод на основе полиимида (рис. 1, а) и хирургическим путем имплантирован в гиппокамп лабораторной мыши. Запись проводилась в камере Фарадея для минимизации помех и шумов. Запись велась по двум каналам с частотой дискретизации 1000 Гц (рис. 1, г).

Данная версия комплекса может найти широкое применение в нейробиологических лабораториях, ведь возможности беспроводного

соединения и адаптируемая конструкция позволяют настраивать ее под конкретные нужды, создавая устройства, отвечающие специфическим требованиям.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках программы «Научный центр мирового уровня: Перспективные цифровые технологии» (договор № 075-15-2022-311 от 20.04.2022).

Литература

1. *Erofeev A. et al.* An Open-Source Wireless Electrophysiological Complex for In Vivo Recording Neuronal Activity in the Rodent's Brain // Sensors. 2021. Vol. 21. № 21. С. 7189.

РАЗРАБОТКА МИКРОФЛЮИДНОГО УСТРОЙСТВА «ЛЕГКОЕ-НА-ЧИПЕ» И МЕТОДИКИ ИНТЕГРАЦИИ В НЕГО КЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР

Л. А. Алтынбаев^{1,*}, П. С. Плешаков¹, Н. А. Филатов^{1,2}, А. С. Букатин^{1,3}

* altynbaev.linar@yandex.ru

¹СПбАУ РАН им. Ж. И. АлфEROVA, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 8, к. 3, лит. А

²ООО ФЛИКСБИО, Санкт-Петербург, 194021, ул. Политехническая, д. 6, стр. 1

³Институт аналитического приборостроения РАН, 198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А

«Органы-на-чипе» — это биомиметические системы, содержащие микрофлюидные каналы, выстланные живыми клетками человека, которые воспроизводят ключевые функциональные особенности живых органов для воссоздания интегрированной патофизиологии на уровне органов человека *in vitro*. Эти микроустройства можно использовать для проверки эффективности и токсичности лекарств и химических веществ, а также для создания моделей болезней человека *in vitro*. Таким образом, они потенциально представляют собой недорогие альтернативы традиционным животным моделям для фармацевтических, химических и экологических применений.

В рамках данной работы была разработана методика изготовления микрофлюидного устройства, имитирующего альвеолярно-капиллярную мембрану воздушного мешка легкого человека (рис. 1) [1]. Микрофлюидные чипы изготавливались из полидиметилсилоксана (ПДМС) методом «мягкой» литографии по кремниевым мастер-формам [2]. Устройство содержит два параллельных микроканала с одинаковыми размерами (1000 мкм — ширина, 150 мкм — высота), разделенных гибкой тонкой пористой мембраной из ПДМС. Для придания механической прочности пленке ПДМС в нее были добавлены многослойные углеродные нанотрубки. Каналы окружены с обеих сторон двумя полыми камерами (1600 мкм

— ширина, 150 мкм — высота), которые механически растягивают и расслабляют мембрану в центральном канале. Для имитации физиологических дыхательных движений легких к боковым полым камерам прикладывается вакуум. Разработка методики интеграции в такой микрофлюидный чип клеточных структур происходила на примере клеток СТ-26, культивируемых в течение длительного времени в микрофлюидных каналах.

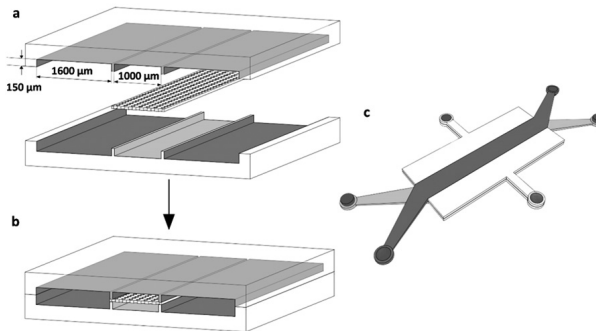


Рис. 1. Микрофлюидное устройство состоит из верхнего слоя, пористой мембраны и нижнего слоя: *a, b* — поперечный вид устройства: верхний и нижний микроканалы расположены параллельно друг другу и разделены пористой мембраной. Каналы окружены с обеих сторон двумя боковыми вакуумными камерами; *c* — общий вид собранного устройства

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 20-74-10117).

Литература

1. *Huh D., Kim H., Fraser J. et al.* Microfabrication of human organs-on-chips // *Nat Protoc.* 2013. 8. P. 2135–2157.
2. *Bukatin A. S., Mukhin I. S., Malyshev E. I., Kukhtevich I. V., Evstrapov A. A., Dubina M. V.* Fabrication of high-aspect-ratio microstructures in polymer microfluid chips for in vitro single-cell analysis // *Technical Physics.* 2016. Volume 61. P. 1566–1571.

МЕМБРАННЫЙ МИКРОФЛЮИДНЫЙ ЧИП ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ БАРЬЕРНЫХ ТКАНЕЙ

С. Ю. Пауль^{1,2,*}, И. А. Хаустов²

* paul@trdc.com

¹Троицкий инженерный центр, Москва, г. Троицк, 108840, ул. Академика Франка, д. 16

²Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», Факультет биологии и биотехнологии, Москва, 117418, ул. Профсоюзная, д. 33, корп. 4

В последние десятилетия микрофлюидные чипы (МЧ) все чаще используются для моделирования физиологических процессов человека, что позволяет максимально точно воспроизводить физиологию различных органов и тканей человека в искусственных условиях. Данные системы имеют ряд преимуществ в сравнении с традиционными методами культивирования клеточных моделей — в процессе исследований можно наблюдать за изучаемыми объектами, манипулировать ими, контролировать протекающие процессы [1]. МЧ также используются и для моделирования барьерных тканей, например, кишечник-на-чипе или плацента-на-чипе. Связано это с тем, что ранее разработанные модели *in vitro*, *in vivo* и *ex vivo* не отображают полноценную картину для изучения влияния лекарственных препаратов на ткань или плод человека [2].

В данном проекте был разработан МЧ, который позволяет моделировать барьерные ткани в лабораторных условиях. В данной работе были изучены разные методы сборки и герметизации, а также изучена поверхностная морфология после изготовления и постобработки МЧ. Проверены разные методы крепления мембраны к основе МЧ. Целью являлась разработка системы для моделирования барьерных тканей с высоким уровнем воспроизводимости при изготовлении и сборке.

Разработанный микрофлюидный чип имеет два проточных контура — верхний и нижний (см. рис. 1). Каждый контур состоит из

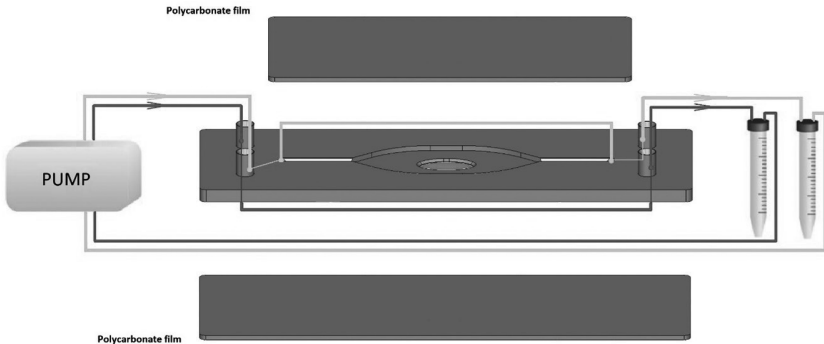


Рис. 1. Модель разработанного МЧ с отображенной системой перфузии расширительной камеры и системы микроканалов. Контуры разделены между собой пористой мембранной вставкой, расположенной по центру расширительных камер. Габариты каналов имеют следующие параметры: $1,5 \times 0,8$ мм (Ш \times В); отверстие для пористой мембраны — 6×8 мм, площадь $36,5$ мм², глубина 400 мкм; расширительные камеры — 29×12 мм. Система перфузии подключается к МЧ с помощью силиконовых трубок.

Данная конструкция МЧ и разработанный протокол сборки позволяют изготавливать систему с высоким уровнем воспроизводимости, а также простую в использовании.

Литература

1. *Chak Ming Leung, Yi-Chin Toh.* A guide to the organ-on-a-chip // Nature Reviews Methods Primers, 2022.
2. *Elzinga F. A., Mian P.* Placenta-on-a-Chip as an In Vitro Approach to Evaluate the Physiological and Structural Characteristics of the Human Placental Barrier upon Drug Exposure: A Systematic Review // Journal of Clinical Medicine. 2023.

ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ МИКРОКАПЕЛЬ ДВОЙНОЙ ЭМУЛЬСИИ ДЛЯ МНОГОСТУПЕНЧАТОГО СКРИНИНГА БИООБЪЕКТОВ

Д. А. Белоусова¹, Н. А. Филатов^{1, *}, П. С. Плешаков¹, А. С. Букатин^{1,2}
* nikita.filatov@inbox.ru

¹*СПбАУ РАН им. Ж. И. Алфёрова, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 8, к. 3, лит. А*

²*Институт аналитического приборостроения РАН, 198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А*

Разработка новых лекарств является чрезвычайно затратным и малоэффективным процессом. Дополнительно важнейшим вызовом системе здравоохранения является распространение резистентности бактерий к существующим антибиотикам. С момента своего изобретения капельные микрофлюидные технологии показали свою эффективность в качестве инструмента для высокопроизводительного химического и биологического функционального скрининга. В данном подходе каждую микрокаплю эмульсии можно использовать как отдельный микрореактор для проведения биохимических реакций с возможностью индивидуального анализа и отбора получившихся продуктов реакции. Благодаря тому, что в микрофлюидных устройствах скорость формирования капель может составлять несколько тысяч штук в секунду, биохимические реакции могут одновременно проводиться в миллионах микрокапель, что значительно повышает производительность анализов [1]. Однако, в отличие от пробирок и многолуночных планшетов, добавление новых реагентов в капли эмульсии является нетривиальной задачей. Организация управляемого сближения двух типов микрокапель для достижения расстояний между их оболочками, когда может произойти коалесценция, является трудоемкой задачей. Все это резко усложняет или не позволяет реализовывать сложные протоколы скрининга с несколькими этапами. Например, если требуется провести сначала культивирование образца в капле с библиотекой и только после этого

добавить определенные вещества для дальнейшего анализа. Поэтому актуальны поиски решений воспроизводимых методов управляемой коалесценции микрокапель «вода-в-масле» и/или «вода — масло — вода».

В данной работе изучалась управляемая электрокоалесценция микрокапель двойной эмульсии. А также было предложено использовать микрокапли двойной эмульсии в роли компактных микрокамер, внутри которых возможно проводить слияние двух капель. Были разработаны и изготовлены различные чипы для формирования микрокапель двойной эмульсии. Были проведены исследования по формированию микрокапель двойной эмульсии по типу «вода — масло — вода» в микрофлюидных чипах с помощью микрофлюидного контроллера давлений с пневматическими интерфейсами [2]. Дополнительно проводились исследования инкапсуляции клеток модельной раковой линии СТ26-EGFP в микрокапли двойной эмульсии.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-79-01212).

Литература

1. *Huang C. et al.* Droplet Detection and Sorting System in Microfluidics: A Review // *Micromachines*. 2022. V. 14. № 1. P. 103.
2. *Filatov N. A. et al.* Open-Source Pressure Controller Based on Compact Electro-Pneumatic Regulators for Droplet Microfluidics Applications // *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement*. 2022. V. 71. P. 1–10.

ПОЛУЧЕНИЕ СЛОЖНОСТРУКТУРНЫХ МИКРОГЕЛЕЙ С УПОРЯДОЧЕННО ИНКАПСУЛИРОВАННЫМИ КЛЕТКАМИ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В КАЧЕСТВЕ МОДЕЛЕЙ ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ

П. С. Плешаков^{1,*}, Н. А. Филатов¹, А. С. Букагин^{1,2}

* avekip@gmail.com

¹СПбАУ РАН им. Ж. И. АлфEROVA, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 8, к. 3, лит. А

²Институт аналитического приборостроения РАН, 198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А

Для эффективной разработки лекарств и изучения патологических процессов в организме необходимы качественные модели искусственных органов и тканей. Ткани человека состоят из различных клеток, которые собираются, координируются и взаимодействуют друг с другом иерархически организованным образом для достижения тканеспецифичных функций [1]. Большинство распространенных способов создания таких моделей не имеют микроструктуры, которая могла упорядоченно содержать несколько типов клеток, либо трудоемки и плохо воспроизводимы. Взаимодействия между клетками важны для регуляции поведения клеток с помощью биохимических сигналов от соседних клеток. Клетки, выращенные на поверхности, кардинально отличаются от клеток, выращенных в естественной трехмерной клеточной среде *in vivo* [2]. Таким образом, требуется метод, способный давать одинаковые модели тканей, где в гидрогеле, выполняющем роль межклеточного матрикса, упорядоченно внедрялись клетки разных типов. Создание микрогелей со сложной структурой, такой как «ядро — оболочка», и двухсторонней, в каждой части которой помещался разный тип клеток, было бы многообещающим подходом для изучения клеток разных типов [3]. Присущая микропористость, биосовместимость и сходство с природным внеклеточным матриксом микрогелей делают их

способными регулировать поведение клеток с помощью биофизических и биохимических сигналов.

Одним из наиболее подходящих способов для получения микрогелей являются микрофлюидные технологии. Микрофлюидика благодаря контролируемому управлению микропотоками жидкостей (объемы нанолитры — фемтолитры) дает возможность создавать микрокапли/микрочастицы из различных материалов с управляемыми свойствами (размер, объем, состав, морфология), в том числе и получение моделей ткани с упорядоченной структурой [4].

Для внедрения в микрогели использовали клеточную линию карциномы толстой кишки мыши СТ 26, экспрессирующую в цитоплазму зеленый флуоресцентный белок EGFP. В качестве второй клеточной линии использовали HELA. В качестве гидрогеля использовали альгинат натрия, который сочетает в себе биосовместимость и способность к быстрой ионногенной полимеризации, в частности с помощью ионов Ca [5].

Два параллельных микрофлюидных канала с водной фазой объединялись и протекали параллельно в режиме ламинарного потока без смешивания. Водная фаза состояла из предшественника альгинатного гидрогеля, в котором содержалось 2 % массы альгината, 4 % комплекса Ca-EDTA, 4,6 % D-маннитола для поддержания осмотического давления, 10 % уплотнителя среды Ficoll 400 и суспензия клеток в питательной среде. Объединенный поток водной фазы эмульгировали в потоке перфторуглеродного масла в монодисперсные капли с помощью микрофлюидного генератора с фокусировкой потока, после чего вводили последний поток в сплошную фазу перфторуглеродного масла с уксусной кислотой и 1Н, 1Н, 2Н, 2Н-перфтор-1-октанол (ПФО). Ионы водорода из уксусной кислоты снижали pH и вызывали диссоциацию комплекса Ca-EDTA с последующим высвобождением ионов кальция, что приводило к сшиванию альгината. ПФО служил в качестве дестабилизатора эмульсии для перевода микрогелей из масляной фазы в водную. На рис. 1 показаны сшитые альгинатные микрогели с двухсторонней структурой.

После выхода из микрофлюидного чипа микрогели попадали в сливную пробирку, содержащую буферный раствор, который

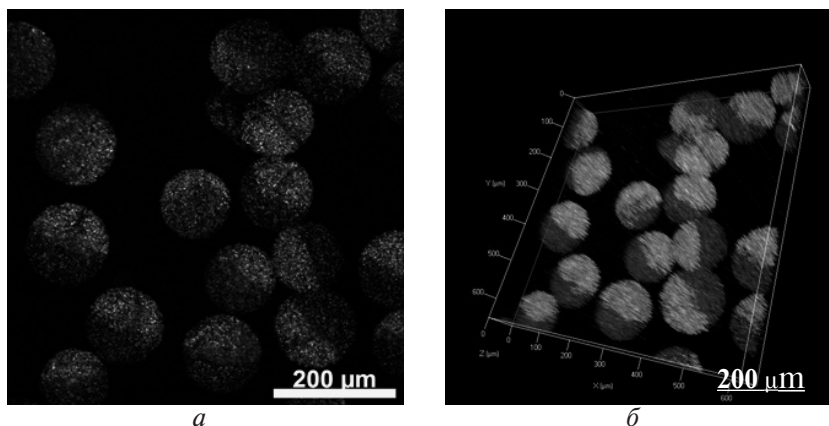


Рис. 1. Конфокальные микроскопические изображения двухсторонних альгинатных микрогелей, каждая половина содержит флуоресцентные частицы диаметра 0,75 мкм, красные и зеленые соответственно: *а* — конфокальный снимок микрогелей; *б* — в трехмерном режиме z-stack

состоял из среды DMEM, 25 мМ раствора HEPES, доведенного до pH 7,4, и 1 мМ CaCl₂. HEPES служил для нейтрализации вредного воздействия уксусной кислоты на клетки и поддержания pH среды вне CO₂ инкубатора, а CaCl₂ — для придания микрочастицам дополнительной механической прочности.

Для предварительных экспериментов вместо клеток использовали зеленые и красные флуоресцентные полимерные микрочастицы диаметра 0,75 мкм. Клетки, инкапсулированные в микрогелях, инкубировались в среде DMEM при 37 °С и 5 % CO₂ в течение 7–10 суток. Для оценки жизнеспособности использовался йодистый пропидий для окрашивания мертвых клеток (красный), белок EGFP, содержащийся в цитоплазме клеток, подсвечивал зеленым все клетки. В случае клеток HELA для обнаружения живых клеток использовался краситель Calcein AM.

В результате был отработан метод генерации альгинатных микрогелей со сложной структурой размером 60–100 мкм с инкапсулированными клетками с помощью микрофлюидного устройства, были оценены жизнеспособность клеток и динамика развития их в кла-

стерах внутри микрогелевой частицы. Результаты работы показали, что данный подход позволяет получать альгинатные гидрогелевые микрочастицы, где клетки показывают жизнеспособность, пролиферативный потенциал, а также находятся в упорядоченной структуре гидрогелевой матрицы.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект No. 20-74-10117).

Литература

1. *Lutolf M. P., Gilbert P. M., Blau H. M.* Designing materials to direct stem-cell fate // *Nature*. 2009. Vol. 462. № 7272. P. 433–441.
2. *Joensson H. N., Andersson Svahn H.* Droplet microfluidics — A tool for single-cell analysis // *Angewandte Chemie International Edition*. 2012. Vol. 51. № 49. P. 12176–12192.
3. *Chang-Hyung C. et al.* Controlled Fabrication of Multicompartmental Polymeric Microparticles by Sequential Micromolding via Surface-Tension-Induced Droplet Formation. 2015.
4. *Zhang L. et al.* Microfluidic templated multicompartment microgels for 3D encapsulation and pairing of single cells // *Small*. 2018. Vol. 14. № 9. P. 1702955.
5. *Axpe E., Oyen M. L.* Applications of alginate-based bioinks in 3D bio-printing // *International journal of molecular sciences*. 2016. Vol. 17. №. 12. P. 1976.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РАЗНОСТИ ПОТОКОВ ФАЗ В МИКРОФЛЮИДНОМ ГЕНЕРАТОРЕ НА СИНТЕЗ ЛИПОСОМНЫХ НАНОНОСИТЕЛЕЙ ИЗ ЕРС

Е. И. Наумов^{1,*}, А. С. Букатин^{1,2}

* naumove2000@gmail.com

¹СПбАУ РАН им. Ж. И. Алфёрова, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 8, к. 3, лит. А

²Институт аналитического приборостроения РАН, 198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А

Фосфолипидные везикулы, получившие название липосом, на сегодняшний день привлекли значительное внимание научного сообщества из-за широких возможностей применения в первую очередь в адресной доставке лекарств и молекулярной биологии. Размер этих частиц является ключевым параметром для определения их функционала, что побуждает исследовать и совершенствовать методы их синтеза, в том числе с применением микрофлюидных технологий [1]. В этой работе приводится попытка создания липосом определенного размера в зависимости от скорости потоков в микрофлюидной системе.

Использование микрофлюидных технологий позволяет управлять поведением потоков жидкостей на микроуровне с высокой точностью [2]. При помощи регулирования соотношения смешивающихся в микрофлюидной системе потоков было решено исследовать зависимость влияния соотношения входящих потоков на размер получаемых частиц.

В работе был использован оригинальный микрофлюидный чип с архитектурой, способствующей смешиванию двух потоков — потока водной среды и потока растворенного липида. В экспериментах был использован липид ЕРС (яичный фосфатидилхолин), растворенный в этаноле в соотношении 1 мкг на мл. Раствор ЕРС подавался в чип в качестве дисперсной фазы со скоростями 10–50 мкл/мин. В качестве непрерывной фазы была использована дистиллированная вода. Фазы подавались в микрофлюидный чип при помощи шприцевых насосов Harvard Apparatus. Измерения размеров в свою

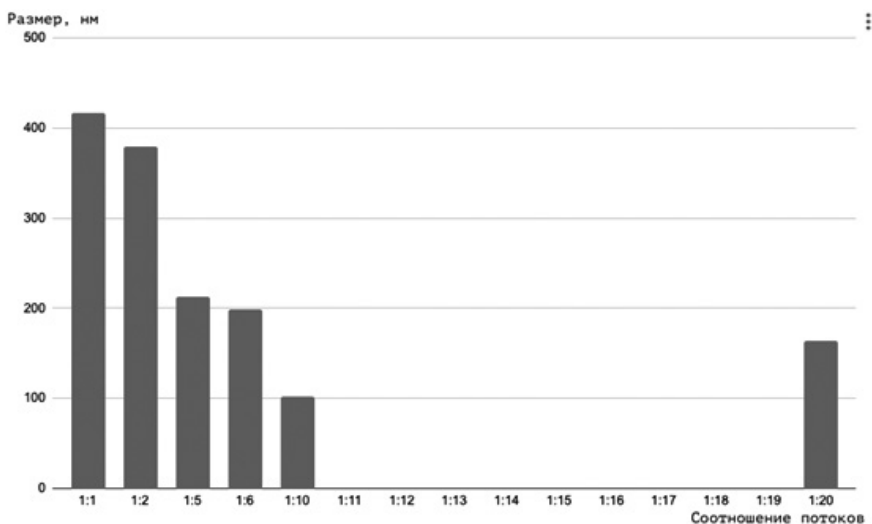


Рис. 1. Зафиксированные размеры полученных липосом в зависимости от соотношения скорости потоков

очередь проводились на приборе Malvern Zetasizer. Были произведены измерения соотношений 1:1, 1:2, 1:5, 1:6, 1:10 и 1:20 дисперсной и непрерывной фазы соответственно (рис. 1).

В результате проведенного исследования можно сделать вывод о том, что размер полученных липосомных наночастиц уменьшается с увеличением разницы в скорости потоков, но лишь до определенной критической точки. Это должно быть связано с изменением характера и времени смешивания двух потоков в микрофлюидном чипе. Дальнейшие исследования предполагают рассмотреть зависимость не только от соотношения подачи двух потоков, но также и от суммарного расхода двух фаз в микрофлюидном чипе. Также необходимо рассмотреть микрофлюидный синтез на прочих липидах, например ALC, используемый в производстве мРНК вакцин [3], чтобы выяснить зависимость между характеристиками липидов и размерами получаемых наноносителей.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-25-0165).

Литература

1. *Samad A., Sultana Y., Aqil M.* Liposomal drug delivery systems: an update review // *Current drug delivery.* 2007. Vol. 4. № 4. P. 297–305.
2. *Carugo D. et al.* Liposome production by microfluidics: potential and limiting factors // *Scientific reports.* 2016. Vol. 6. № 1. P. 25876.
3. *Boldyrev I. A. et al.* A Route to Synthesize Ionizable Lipid ALC-0315, a Key Component of the mRNA Vaccine Lipid Matrix // *Russian Journal of Bioorganic Chemistry.* 2023. Vol. 49. № 2. P. 412–415.

РАЗРАБОТКА И СОЗДАНИЕ ПРОТОТИПА 3D-БИОПРИНТЕРА ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ КЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР ИЗ ГИДРОГЕЛЕВЫХ МИКРОЧАСТИЦ

А. А. Тюшкевич^{1,*}, И. Е. Антифеев², М. В. Зайцева², А. С. Букатин^{1,2}
* ternet121@gmail.com

¹СПбАУ РАН им. Ж. И. Алферова, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 8, к. 3, лит. А

²Институт аналитического приборостроения РАН, 198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А

Тканевая инженерия — это междисциплинарная область, которая сочетает принципы биологии, инженерии и материаловедения для создания функциональных биологических тканей, имитирующих ткани и органы человека [1]. Биопечать гидрогелевыми растворами с инкапсулированными клетками позволяет осуществлять точное послойное нанесение биоматериалов, что открывает возможность для создания сложных функциональных тканей. Это, в свою очередь, находит применение в различных областях медицины, включая зажив-

ление ран, трансплантацию органов, тестирование лекарств и моделирование заболеваний [2]. Возможность решения такого широкого перечня задач делает тканевую инженерию одной из актуальнейших тем современной науки.

Одной из важнейших проблем, с которой сталкиваются научные группы в области тканевой инженерии, является недоступность надежных и удобных решений биопринеров, способных производить точную печать методом поточной экструзии. Имеющиеся варианты либо слишком дорогие, либо не обладают тем функционалом и гибкостью, необходимыми для печати используемыми биочернилами. В связи с чем создание прототипа биопринера имеет решающее значение, способствующее ускорению исследований и разработок в этой области.

В данной работе мы спроектировали и построили прототип биопринера, адаптированный к потребностям тканевой инженерии. Мы провели серию экспериментов, чтобы оценить его эффективность

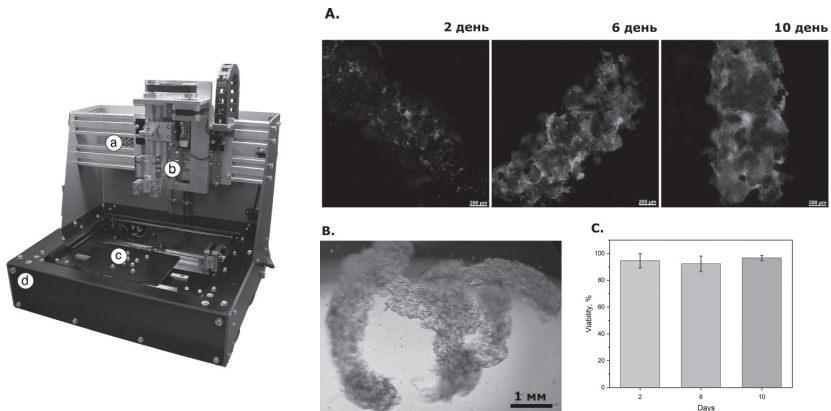


Рис. 1. (слева) Макет биопринера: а — блок питания; б — поршень со вставкой под шприцы; с — подвижная платформа; д — корпус биопринера из дибонга и алюминиевого профиля. (справа) Тканево-инженерная конструкция, напечатанная на принтере: а — изображения на конфокальном микроскопе на 2, 6 и 10-й день. Зеленым помечены живые клетки; б — общее изображение объекта в светлом поле; с — график выживаемости клеток за выбранный период

создания структур на основе различных гидрогелей. Прототип биопринтера отличается компактной конструкцией, которая позволяет точно контролировать процесс печати. Он также включает в себя удобную систему экструзии, позволяющую использовать шприцы-картриджи различных объемов с различными гидрогелями, обычно используемыми в тканевой инженерии. Мы оптимизировали параметры печати, включая скорость печати, размер сопла и толщину слоя, чтобы обеспечить точные и воспроизводимые результаты. Эти параметры были точно настроены в соответствии с конкретными требованиями к выбранным нами гидрогелевым материалам.

Наши эксперименты дали многообещающие результаты. Прототип биопринтера успешно создает сложные гидрогелевые структуры с высокой точностью. Эти структуры продемонстрировали хорошую жизнеспособность клеток и потенциал для дальнейшего развития тканей.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 20-74-10117).

Литература

1. *Guvendiren M.* (ed.). 3D bioprinting in medicine: technologies, bioinks, and applications. Springer, 2019.
2. *Ozbolat I. T., Peng W., Ozbolat V.* Application areas of 3D bioprinting // *Drug discovery today*. 2016. Vol. 21. № 8. P. 1257–1271.

ПРИМЕНЕНИЕ МИКРОФЛЮИДНОГО ЧИПА ДЛЯ РЕГИСТРАЦИИ СОСТОЯНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

**И. А. Тюрикова^{1,*}, Н. А. Левдарович², В. В. Хижа³, Е. А. Скверчинская³,
А. С. Иванов¹, И. В. Миндукшев³, А. С. Букатин^{2,4}**
* iatyurikova@yandex.ru

¹*Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, 195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, д. 29*

²*СПбАУ РАН им. Ж. И. Алферова, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 8, к. 3, лит. А*

³*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, 194223, Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44*

⁴*Институт аналитического приборостроения РАН, 198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А*

Эритроциты являются идеальным объектом для микрофлюидного анализа, поскольку функциональная способность этих клеток к газопереносу жестко связана с их морфологией двояковогнутого диска определенного размера. Микрофлюидные технологии позволяют регистрировать ключевые параметры этих клеток — форма в потоке важна для тесного соприкосновения с эндотелием сосудов, скорость транзита важна для адекватного обмена газов, адгезия определяет склонность к окклюзиям [1]. Для оценки нарушений используются различные топологии микрофлюидных устройств (МФУ) и различные показатели, такие как время прохождения микроканалов эритроцитами, время восстановления их нативной формы после прохождения сужения, индекс деформации в потоке [2]. Главное преимущество МФУ — свойство биомиметиков, хорошие условия для манипуляции потоками и составами растворов, высокая скорость сбора статистики, которую не могут обеспечить другие методы исследования (эктацитометрия, оптический пинцет, атомно-силовая микроскопия, втягивание в пипетку).

Деформируемость эритроцитов зависит от ряда цитологических параметров, таких как механические свойства мембраны, цитоплазматическая вязкость, отношение площади поверхности к объему (S/V) [3]. Нарушения деформируемости эритроцитов регистрируются при различных заболеваниях (малярия, серповидно-клеточная анемия, метаболические нарушения, включая диабет, врожденные гемоглобинопатии, сердечно-сосудистые заболевания) и зачастую определяют тяжесть клинических проявлений. Химиотерапия (ХТ) является крайне агрессивным видом лечения, имеющим множество побочных эффектов, включая анемию [4], однако исследований микрореологии эритроцитов при действии ХТ крайне мало [5].

Цель исследования состояла в оценке биофизического состояния эритроцитов у онкологических больных. Для исследования эритроцитов в потоке были разработаны МФУ с системой из 16 микроканалов размером $2,5 \times 8 \times 200$ мкм, соответствующих размерам эритроцитов. Значения скорости получали после обработки видеofайлов, запись проводили на скоростную камеру XIMEA MC023MG-SY, 800 fps, через светодиодный микроскоп Leica DM4000B. Видеofайлы обработаны в MATLAB (The MathWorks).

Проведено исследование эритроцитов у онкологических больных, получающих лечение препаратами ХТ, $n = 24$ (таксаны, антрациклины, алкилирующие агенты) и ингибиторами контрольных точек иммунитета (ИКТИ, ниволумаб, пембролизумаб, атезолизумаб), $n = 16$. У пациентов было выявлено снижение общей жизнеспособности эритроцитов (проточная цитометрия), усиление везикуляции, изменение формы клеток с преобладанием стоматоцитов (конфокальная микроскопия), изменение биофизических характеристик мембран (тест осмотической нагрузки, лазерная дифракция). Нарушения транзита по микроканалам имели значимую зависимость от мембранных нарушений (выход фосфатидилсерина на поверхность), Spearman $r = -0,3406$ ($-0,5478$ to $-0,09398$), $p < 0,0063$. Установлено, что по сравнению со здоровыми донорами ($n = 17$) эритроциты онкологических больных имеют субпопуляцию клеток со сниженной скоростью прохода по микроканалам ($p < 0,008$) и большую частоту окклюзий ($p < 0,001$) (рис. 1). В данном исследовании не удалось

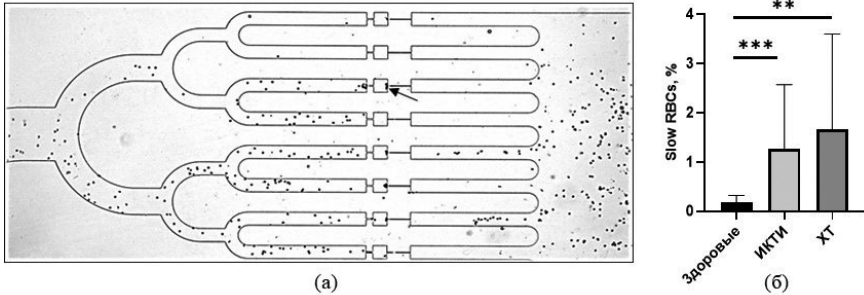


Рис. 1. Общий вид микрофлюидного чипа: *a* — с эритроцитами в микроканалах; стрелкой указана окклюзия канала; *б* — результаты оценки движения эритроцитов пациентов, получающих лечение ингибиторами контрольных точек иммунитета (ИКТИ) или химиотерапию (ХТ) — показано накопление субпопуляции эритроцитов с нарушенными параметрами транзита в микроканалах (медленные клетки)

разграничить нарушения эритроцитов, вызванные опухолевым процессом, от нарушений, обусловленных лечением. Известно, что прогрессирование рака вызывает усугубление анемии, вызванной в том числе нарушением мембранных параметров эритроцитов (жесткость, потеря контроля ионного баланса) [4]. Эритроциты циркулируют в плазме крови вместе с разнообразными клетками, поэтому многие изменения внутри и на поверхности мембраны могут быть результатом контакта с белками плазмы или растворимыми факторами (включая лекарственные препараты), с веществами, выделяемыми активированными клетками, такими как циркулирующие опухолевые клетки, особенно в условиях метастатического каскада [6].

Разработанное МФУ показало достаточную чувствительность к выявлению нарушений эритроцитов у онкологических пациентов. Дальнейшее изучение поведения эритроцитов в микропотоке и сопоставление с клиническими и лабораторными показателями позволит яснее представлять вклад биофизических нарушений эритроцитов в развитие анемии при курсовом противоопухолевом лечении.

Благодарности

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФ в рамках научного проекта № 22-24-00998.

Литература

1. *Huisjes R. et al.* Squeezing for Life — Properties of Red Blood Cell Deformability // *Front Physiol.* 2018. 9. P. 656.
2. *Tomaiuolo G.* Biomechanical properties of red blood cells in health and disease towards microfluidics // *Biomicrofluidics.* 2014. 8 (5). P. 051501.
3. *Mohandas N. and P. G. Gallagher.* Red cell membrane: past, present, and future // *Blood.* 2008. 112 (10). P. 3939–3948.
4. *Bryer E. and D. Henry.* Chemotherapy-induced anemia: etiology, pathophysiology, and implications for contemporary practice // *International Journal of Clinical Transfusion Medicine.* 2018. 6 (null). P. 21–31.
5. *Skverchinskaya E. et al.* Anticancer Drugs Paclitaxel, Carboplatin, Doxorubicin, and Cyclophosphamide Alter the Biophysical Characteristics of Red Blood Cells, In Vitro. // *Biology (Basel).* 2023. 12 (2).
6. *Pereira-Veiga T. et al.* Red Blood Cells Protein Profile Is Modified in Breast Cancer Patients // *Mol Cell Proteomics.* 2022. 21 (12). P. 100435.

ГИДРОДИНАМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СНАРЯДНОГО РЕЖИМА ТЕЧЕНИЯ В ДВУХФАЗНЫХ ЖИДКИХ СИСТЕМАХ В МИКРОКАНАЛЕ С СООСНО-СФЕРИЧЕСКИМ МИКРОДИСПЕРГАТОРОМ

В. В. Романова^{1,2}, Р. Ш. Абиев^{2*}

* rufat.abiev@gmail.com

¹*Институт аналитического приборостроения РАН, 198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А*

²*Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет), Санкт-Петербург*

Такие преимущества микрореакторов, как интенсификация массо- и теплопереноса, экологичность, безопасность процессов, а также пониженное энерго- и ресурсопотребление, привели к повышенному интересу к данным видам аппаратов. Компактный размер микрореакторов улучшает кинетику реакции из-за лучших условий перемешивания за счет небольшого диффузионного сопротивления и из-за высокого отношения площади контакта фаз на единицу объема жидкостей. Именно поэтому снарядный режим течения является наиболее эффективным при проведении ряда химических реакций [1–2].

Основываясь на ранее разработанной на кафедре оптимизации химической и биотехнологической аппаратуры соосно-сферического микродиспергатора [3], была спроектирована подобная экспериментальная установка для повышения и поиска оптимальных условий массообменных процессов, для которых характерен снарядный режим течения в двухфазных жидких системах, таких как стирол — вода и н-бутанол — вода, в микроканале (рис. 1).

В ходе экспериментов определен диапазон существования тейлоровского режима течения в микроканале с соосно-сферическим диспергатором, установлена зависимость длины снарядов дисперсной и сплошной фаз в обеих исследованных системах в широком диапазоне капиллярных чисел.

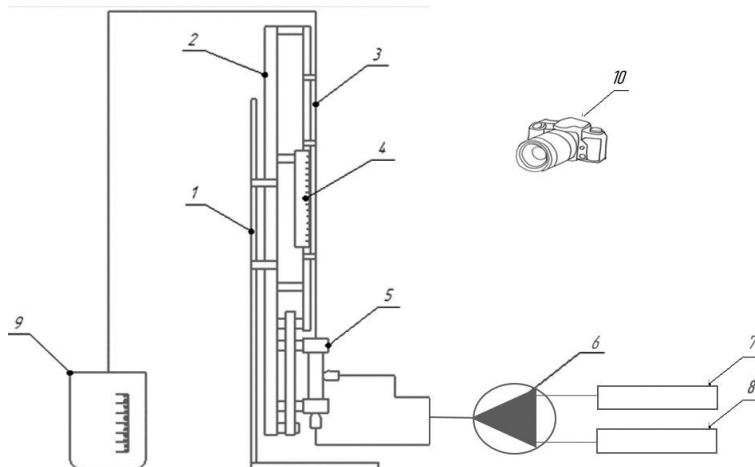


Рис. 1. Схема экспериментальной установки: 1 — штатив; 2 — корпус установки; 3 — канал с внутренним диаметром 1,5 мм; 4 — прозрачная линейка длиной 200 мм; 5 — Т-образный блок сопряжения трубок подвода фаз; 6 — шприцевой двухканальный насос модели SYRINGE PUMP SN-50f6; 7 — шприц 50 мл для ввода дисперсной фазы (н-бутанол или стирол); 8 — шприц 50 мл для ввода сплошной фазы (вода); 9 — мерный стакан; 10 — цифровая фотокамера высокого разрешения Canon D40 со вспышкой

Литература

1. *Abiev R. Sh.* Taylor vortex center, film thickness, velocity and frequency of circulations in slugs and plugs for non-Newtonian and Newtonian fluids in two-phase Taylor flow in microchannels // *Chem. Eng. Sci.* 2022. V. 250. № 11738.
2. *Abiev R. S., Dymov A. V.* Modeling the Hydrodynamics of Slug Flow in a Minichannel for Liquid–Liquid Two Phase System // *Theoretical Foundations of Chemical Engineering.* 2013. Vol. 47. No. 4. P. 299–305.
3. *Абиев Р. Ш., Светлов С. Д.* Режимы течения газожидкостной смеси в каналах микрофлюидных устройств при использовании смесителей (диспергаторов) соосного и соосно-сферического типов // *Научное приборостроение.* 2014. Т. 24. № 4. С. 59–66.

ПОЛУЧЕНИЕ КАЧЕСТВЕННЫХ ИЗОБРАЖЕНИЙ СИГНАЛОВ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ В ОТЕЧЕСТВЕННОМ СЕКВЕНАТОРЕ «НАНОФОР СПС»

И. В. Заруцкий^{1, *}, В. В. Манойлов^{1*}

* manoilov_vv@mail.ru

¹Институт аналитического приборостроения РАН, 198095,
Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А

Метод параллельного геномного секвенирования, реализованный в отечественном секвенаторе «Нанофор СПС», является одним из основных методов проведения генетических анализов, необходимых для решения большого количества разнообразных актуальных задач в биологии и медицине [1]. В приборе «Нанофор СПС» нуклеотиды помечаются молекулами флуорофора, которые возбуждаются под действием лазерного излучения. Флуоресценция регистрируется с помощью видеокамер. По спектру флуоресценции делается вывод о типе помеченного нуклеотида, т. е. производится идентификация нуклеотида в цепочке ДНК. Надежность идентификации, т. е. количество нуклеотидов, идентифицированных ошибочно, зависит от качества регистрируемых изображений.

Таким образом, важной задачей при проведении анализа в приборах для геномного параллельного секвенирования является повышение качества входных изображений сигналов флуоресценции. Эта задача в приборе «Нанофор СПС» решается в два этапа. На первом этапе производится автоматическая подстройка фокуса объектива и автоматическая подстройка времени экспозиции для получения сигналов флуоресценции заданной интенсивности. На втором этапе с помощью математических методов решаются задачи дополнительного повышения качества сфокусированности изображений, разделения частично перекрывающихся сигналов объектов флуоресценции, обнаружения полезных сигналов на фоне помех.

Для решения задачи автоматической фокусировки необходимо:
1) найти критерий качества фокусировки изображения и 2) разработать

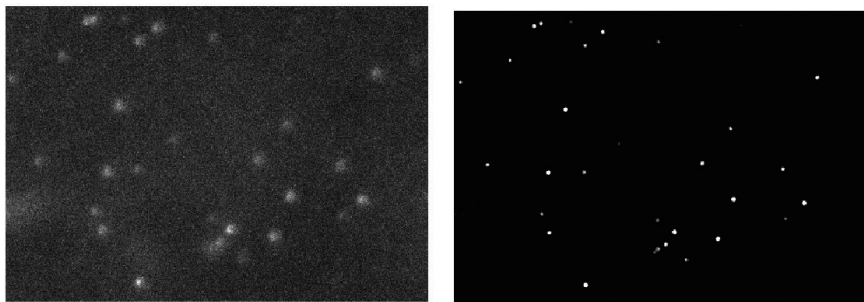


Рис. 1. Сравнение качества изображений до и после автоматической фокусировки

быстрый алгоритм, обеспечивающий для найденного критерия качества поиск его максимума за минимальное количество итераций. Для нахождения критерия (числа), для которого качество фокусировки изображения было бы наиболее высоким, были проведены следующие исследования. Имелись наборы фотографий различных областей реакционной ячейки, полученных при различном положении объектива, т. е. с разной степенью сфокусированности. Каждый набор содержал фотографии, сделанные при одинаковых условиях (экспозиция и освещение). Затем для каждой из сделанных фотографий производилась оценка качества фокусировки. При выполнении данной работы было произведено сравнение 30 методов, описанных в работе [2], применительно к изображениям, получаемым в приборе «Нанофор СПС». При выборе наилучшего метода оценки качества строились функции, в которых по горизонтальной оси откладывался номер изображения с разной фокусировкой, а по вертикальной оси откладывалась оценка качества по соответствующему методу. Полученные функции сравнивались по трем критериям: 1. Функция должна иметь один экстремум. 2. Функция должна давать экстремум для изображения с наилучшей фокусировкой. 3. Робастность, т. е. величина градиента зависимости значения функции от степени «сфокусированности» изображения. Лучшие показатели по перечисленным критериям показали метод Vollath's correlation [3] и дисперсия [4]. В рабочей программе

прибора «Нанофор СПС» для оценки качества фокусировки используется дисперсия.

На рис. 1 слева и справа показаны фрагменты изображений до и после процедуры фокусировки.

Для дополнительной коррекции фокуса изображений и разделения частично перекрывающихся сигналов объектов флуоресценции была использована обостряющая фильтрация на основе решения обратной задачи конволюции функции протяженности точки. Для качественного восстановления исходного изображения важно иметь информацию о параметрах истинной функции протяженности точки. Для восстановления размытого изображения были использованы математические методы решения обратных задач.

В ходе выполнения настоящей работы были также разработаны алгоритмы и программы для коррекции сдвигов изображений, вызванных конструктивными особенностями прибора. Эти алгоритмы основаны на вычислении кросс-корреляционных функций между изображениями, полученными разными видеокамерами. На основе теоремы о свертке для ускорения вычисления кросс-корреляционных функций используется прямое и обратное быстрое преобразование Фурье.

Математические методы повышения качества изображений в приборе «Нанофор СПС» описаны в работах [5, 6].

Благодарности

Работа выполнена в ИАП РАН в рамках Государственного задания 075-01157-23-00 Министерства науки и высшего образования.

Литература

1. *Бородинов А. Г., Манойлов В. В., Заруцкий И. В., Петров А. И., Курочкин В. Е.* Поколения методов секвенирования (Обзор) // Научное приборостроение. 2020. Т. 30. № 4. С. 3–20.
2. *Pertuz S. et al.* Analysis of focus measure operators for shape-from-focus // Pattern Recognition. 2013. 46 (5). P. 1415–1432.
3. *Santos C. O. de Solorzano, Vaquero J. J., Pena J. M., Mapica N., Pozo F. D.* Evaluation of autofocus functions in molecular cytogenetic analysis // Journal of Microscopy. 1997. 188. P. 264–272.

4. *Krotkov E., Martin J.-P.* Range from focus // Proceedings. 1986 IEEE International Conference on Robotics and Automation. 1986. P. 1093–1098.
5. *Manoilov V., Borodinov A., Zarutsky I., Petrov A., Kurochkin V., Saraev A.* Algorithms for Image Processing in a Nanofor SPS DNA Sequencer // Technical Physics. 2022. Vol. 67. № 4. P. 304–311.
6. *Манойлов В. В., Бородинов А. Г., Заруцкий И. В., Петров А. И., Курочкин В. Е.* Алгоритмы обработки сигналов флуоресценции массового параллельного секвенирования нуклеиновых кислот // Труды СППИРАН. 2019. Т. 18. № 4. С. 1009–1033.

МОДЕЛИРОВАНИЕ СИГНАЛОВ ИЗ ZMW НАНООТВЕРСТИЙ РАЗНЫХ ДИАМЕТРОВ В ОПТИЧЕСКОМ ТРАКТЕ АППАРАТНО-ПРОГРАММНОГО КОМПЛЕКСА ОДНОМОЛЕКУЛЯРНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Е. Д. Серов^{1, *}, Д. А. Минаков¹, А. Ю. Ямановская¹, А. И. Петров¹
* serov.ed@iapran.ru

*¹Институт аналитического приборостроения РАН, 198095,
Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А*

Одним из новейших методов проведения секвенирования является метод SMRT — single molecule real time sequencing (одномолекулярное секвенирование в реальном времени). Метод основан на наблюдении в реальном времени за работой единичной ДНК-полимеразы, осуществляющей присоединение комплиментарных флуоресцентно-меченых нуклеотидов к исследуемому участку однострочной ДНК [1, 2]. Для локализации излучения в области, где происходит работа ДНК-полимеразы, используются ZMW (zero-mode waveguide (волновод нулевой моды)) наноотверстия — отверстия в слое алюминия толщиной около 100 нм на подложке из кварца. Диаметр наноотверстий составляет десятки — сотни нанометров.

Целью данной работы является моделирование мощностных характеристик сигналов флуоресценции единичных нуклеотидов, находящихся у дна ZMW нанодоверстий разных диаметров для оптимизации работы оптического тракта аппаратно-программного комплекса одномолекулярного секвенирования (АПКОС).

Моделирование проводилось в универсальной среде численного моделирования COMSOL Multiphysics. Для моделирования были использованы спектральные характеристики красителей (Cyanine3, Cyanine3.5, Cyanine5 и Cyanine5.5), используемых при проведении секвенирования (табл. 1), длины волн излучения лазеров (532 и 640 нм) и мощность излучения лазеров (0,7 Вт).

Таблица 1. Параметры используемых в АПКОС красителей

Краситель	Максимум возбуждения, нм	Дина волны флуоресценции, нм	Квантовый выход флуоресценции
Cyanine3	555	570	0,31
Cyanine3.5	591	604	0,35
Cyanine5	646	662	0,20
Cyanine5.5	684	710	0,20

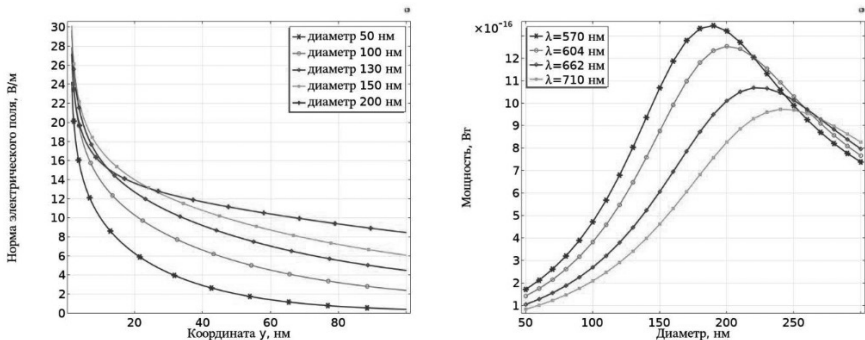


Рис. 1. Зависимость нормы электрического поля внутри ZMW нанодоверстия от координаты y (для длины волны 570 нм) и зависимость мощности сигнала флуоресценции от диаметра ZMW нанодоверстия

В результате моделирования была получена зависимость мощности флуоресценции единичного нуклеотида от диаметра ZMW нанодоверстия и зависимость нормы электрического поля внутри нанодоверстия от координаты y (рис. 1).

Полученные данные позволяют оценить мощность излучения флуоресценции каждого вида нуклеотидов в зависимости от диаметра ZMW нанодоверстия. Эти данные могут быть использованы для оптимизации работы прибора с реакционными ячейками, различающимися диаметрами ZMW нанодоверстий, а также определения оптимального для использования в разрабатываемом приборе диаметра ZMW нанодоверстий.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках проекта Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы (Соглашение № 075-15-2021-1057).

Литература

1. *Бородин А. Г., Манойлов В. В., Заруцкий И. В., Петров А. И., Курочкин В. Е.* Поколения методов секвенирования ДНК (обзор) // Научное приборостроение. 2020. Т. 30. № 4. С. 3–20.
2. *Eid J. et al.* Real-time DNA sequencing from single polymerase molecules // Science. 2009. Т. 323. № 5910. Р. 133–138.

ОПТИМАЛЬНЫЙ ВЫБОР ПРИЗНАКОВ ДЛЯ УМЕНЬШЕНИЯ РАЗМЕРНОСТИ МОДЕЛЕЙ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ В ЗАДАЧЕ BASE-CALLING

А. Г. Бородинов^{1, *}, А. Ю. Ямановская¹, В. В. Манойлов¹, А. И. Петров¹
* borodinov@gmail.com

¹Институт аналитического приборостроения РАН, 198095,
Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А

Задача base-calling попадает в класс задач классификации, типичных для приложения алгоритмов машинного обучения. На изображениях для различных каналов флуоресценции детектируются кластеры амплифицированных цепочек ДНК в виде паттернов различной величины и локализации. С помощью специального программного обеспечения определяется положение пятен и их интенсивностные характеристики вместе с параметрами окружающего фона [1]. Положения и радиусы пятна затем используются для извлечения ряда характеристик из каждого пятна и его непосредственного фона. Эти функции затем используются в качестве входных данных для алгоритмов машинного обучения. В работе [2] была показана эффективность различных методов машинного обучения для классификации в задаче base-calling.

В процессе апробации различных моделей было замечено, что во многих случаях модель работает намного лучше на обучающем наборе данных, чем на тестовом наборе данных, что является индикатором переобучения (overfitting). При использовании Scikit-Learn переобучение означает, что модель слишком точно подгоняет параметры по отношению к конкретным наблюдениям в наборе обучающих данных, но плохо обобщает новые данные, т. е. модель имеет высокую дисперсию. Главная причина переобучения заключается в том, что модель слишком сложна для данных обучения. Общие решения по уменьшению ошибки обобщения заключаются в следующем:

– Собрать в обучающем наборе больше данных.

- Ввести штраф за сложность посредством регуляризации модели.
- Выбрать более простую модель с меньшим количеством параметров.
- Уменьшить размерность данных.

Сбор большего количества обучающих данных эффективен, но часто неприменим. В работе рассмотрены распространенные способы уменьшения переобучения путем регуляризации и уменьшения размерности за счет выбора признаков. Это приводит к упрощению моделей путем уменьшения количества параметров.

Для модели логистической регрессии L1 и L2 регуляризация использована как штраф за сложность модели. И если регуляризация L2 использует подход к уменьшению сложности модели за счет штрафов на большие отдельные веса для всех параметров, то регуляризация L1 обычно дает разреженные векторы признаков, и веса большинства признаков будут равны нулю. В этом смысле регуляризацию L1 можно понимать как метод выбора признаков и уменьшения размерности модели. Приведенный график дает информацию о снижении размерности модели при регуляризации L1 (рис. 1).

Альтернативным способом уменьшить сложность модели и избежать переобучения является уменьшение размерности посредством выбора признаков, что особенно полезно для моделей, которые не поддаются регуляризации. Классическим алгоритмом последовательного выбора признаков является последовательный обратный выбор (SBS). В нашем случае классификации SBS может даже улучшить прогнозирующую способность модели, если модель страдает от переобучения.

Еще один полезный подход к выбору соответствующих признаков из набора данных — использование случайного леса (random forest). Используя метод случайного леса, можно измерить важность признака как среднее уменьшение примесей (averaged impurity decrease), вычисленное на основе всех деревьев решений в лесу. Реализация случайного леса в Scikit-Learn уже собирает для нас значения важности признаков.

Следующим методом уменьшения размерности пространства признаков является метод анализа главных компонент (PCA). PCA

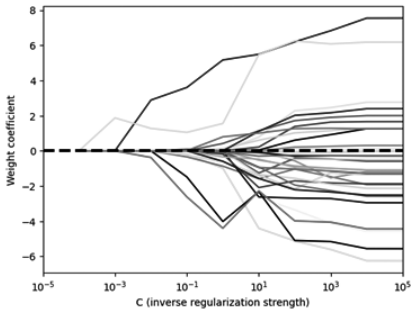


Рис. 1. Влияние значения гиперпараметра регуляризации на уменьшение размерности модели

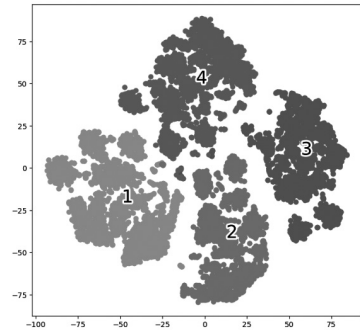


Рис. 2. Визуализация t-SNE вложения данных высокой размерности для визуализации в пространство низкой размерности для сигналов 4 каналов флуоресценции

стремится найти направления максимальной дисперсии в многомерных данных и проецирует данные на новое подпространство с равными или меньшими измерениями, чем исходное. Ортогональные оси (главные компоненты) нового подпространства можно интерпретировать как направления максимальной дисперсии с учетом ограничения, заключающегося в том, что оси новых признаков ортогональны друг другу. Полученный график показывает вклад первых главных компонент в дисперсию набора данных.

Метод линейного дискриминантного анализа (LDA) также применим для решения задачи уменьшения размерности. Общая концепция LDA очень похожа на PCA, но хотя PCA пытается найти ортогональные оси компонентов максимальной дисперсии в наборе данных, цель LDA — найти подпространство признаков, которое оптимизирует разделимость классов.

Наконец, метод t-SNE использован для визуализации многомерных данных признаков в двухмерном пространстве. t-SNE моделирует точки данных на основе их попарных расстояний в многомерном пространстве признаков. Затем он находит распределение вероятностей парных расстояний в новом пространстве меньшей размерности,

близкое к распределению вероятностей f парных расстояний в исходном пространстве (рис. 2). Рис. 2 демонстрирует хорошую разделимость точек обучающей выборки по четырем каналам флуоресценции в пространстве низкой размерности.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках проекта Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы (Соглашение № 075-15-2021-1057).

Литература

1. *Манойлов В. В. и др.* Алгоритмы обработки изображений в секвенаторе ДНК НАНОФОР СПС //Журнал технической физики. 2022. Т. 92. № 7. С. 985–992.
2. *Бородинов А. Г., Манойлов В. В., Заруцкий И. В., Петров А. И., Курочкин В. Е., Сараев А. С.* Машинное обучение в задачах base-calling для методов секвенирования нового поколения // Информатика и автоматизация. 2022. 21 (3). С. 572–603.

СРАВНЕНИЕ МОДЕЛЕЙ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ В ЗАДАЧАХ КЛАССИФИКАЦИИ ПРОЦЕДУРЫ BASE- CALLING В ПРИБОРАХ МАССОВОГО ПАРАЛЛЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

А. С. Сараев¹, А. Г. Бородинов¹, В. В. Манойлов¹, А. И. Петров¹
* alex.niispb@yandex.ru

¹Институт аналитического приборостроения РАН, 198095,
Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А

Платформа Illumina NGS на сегодняшний день является самой популярной в области массового параллельного секвенирования и генерирует наибольший объем данных секвенирования на современном этапе определения нуклеотидных последовательностей. Институт аналитического приборостроения РАН совместно с компанией «Синтол» завершил разработку отечественного прибора для массового параллельного секвенирования ДНК [1]. Принципы его работы сходны с работой секвенаторов Illumina. В системе параллельного секвенирования прибора «Нанофор СПС» используются четыре видеокамеры по числу типов нуклеотидов. Каждая из видеокамер регистрирует изображения кластеров молекул ДНК, на конце которых расположены нуклеотиды, соответствующие определенной «букве». Процедура распознавания таких «букв» вместе с определением степени уверенности правильности идентификации является ключевой в процессе работы секвенатора.

В начале 2010-х гг. появилось несколько работ, использующих ранние версии алгоритмов машинного обучения для решения задачи определения нуклеотидного основания. Однако они не получили широкого распространения. Главные причины — высокие требования к объему обучающей выборки, незрелость технологии при реализации методик машинного обучения (Machine Learning). За последние годы достигнуты значительные успехи в области Machine Learning, в том числе в области биоинформатики. Наиболее распространенные модели и алгоритмы получили надежные имплементации и стали

доступны для применения без высоких трудозатрат на кодирование и отладку, что называется непосредственно «out of the box». Одним из популярнейших решений такого типа является Scikit-learn— библиотека, предназначенная для машинного обучения, написанная на языке программирования Python.

Задача base-calling попадает в класс задач классификации, типичных для приложения алгоритмов машинного обучения. На изображениях для различных каналов флуоресценции детектируются кластеры амплифицированных цепочек ДНК в виде паттернов различной величины и локализации. С помощью специального программного обеспечения определяются положение пятен и их интенсивностные характеристики вместе с параметрами окружающего фона.

Положения и радиусы пятна затем используются для извлечения ряда характеристик из каждого пятна и его непосредственного фона. Эти функции затем используются в качестве входных данных для алгоритмов машинного обучения. Извлечение признаков выполняется путем изучения интенсивности света каждого пикселя определенной прямоугольной области пятна и некоторого окружающего фона. Каждый набор изображений состоит из четырех микроскопических изображений, по одному для каждого основания. Поскольку из каждого изображения извлекается восемь статистических показателей, это означает, что для каждого элемента имеется в общей сложности 32 статистических показателя, которые используются в качестве атрибутов в алгоритмах машинного обучения. В качестве меток во входных данных используются 4 категории, к которым необходимо отнести изображение — А, Т, G или С, в соответствии с различными типами азотистых оснований. Данные показатели используются моделью машинного обучения для задачи классификации оснований. Выходные данные — последовательность нуклеотидов с различными основаниями.

Использованы следующие методы классификации для решения задачи base-calling:

- Модель перцептрона.
- Модель логистической регрессии.
- Модель на основе метода опорных векторов (SVM).

- Модель деревьев решений (decision tree).
- Модель случайного леса (Random Forest).
- Модель k-ближайших соседей (k-nearest neighbors).

После применения различных моделей машинного обучения к задаче base calling полученные результаты по точности предсказания можно свести в следующую сводную таблицу (табл. 1).

Таблица 1

ML Model	Misclassification error	Phred Quality Score
Perceptron	0,0008	30,96910013
Logistic regression	0,0003	35,22878745
SVM	0,0006	32,2184875
Decision tree	0,0012	29,20818754
Random Forest	0,0005	33,01029996
KNN	0,0003	35,22878745

В работе рассмотрен ряд различных алгоритмов машинного обучения, которые используются для решения линейных и нелинейных задач в применении к задаче определения нуклеотидных последовательностей на стадии base calling. Очевидно, что деревья решений особенно привлекательны, если мы заботимся об интерпретируемости, т. е. заинтересованы в явном выделении наиболее информативных признаков в задаче классификации при определении типа нуклеотида. Логистическая регрессия — не только полезная модель для обучения в режиме реального времени поступления новых данных секвенирования, но и позволяющая нам прогнозировать вероятность истинности классификации.

Хотя SVM являются мощными линейными моделями, которые можно расширить для нелинейных задач с помощью трюка с ядром, они требуют оптимальной настройки множества параметров для достижения хороших прогнозов.

Ансамблевые методы, такие как случайные леса, не требуют трудоемкой настройки параметров и позволяют избежать эффекта

переобучения (в отличие от деревьев решений), что делает их привлекательными моделями для многих практических проблемных областей. Классификатор KNN предлагает альтернативный подход к классификации посредством «ленивого обучения», который позволяет делать прогнозы без какого-либо обучения модели, но с более затратным в вычислительном отношении шагом прогнозирования.

Литература

1. Курочкин В. Е., Алексеев Я. И., Петров Д. Г., Евстапов А. А. Отечественные приборы для молекулярно-генетического анализа: разработки ИАП РАН и ООО «Синтол» // Известия Российской Военно-медицинской академии. 2021. Т. 40. № 3. С. 69–74.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МОНОХРОМАТИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ТРАНСПОРТНЫЕ СВОЙСТВА ЕДИНИЧНЫХ SiN/Si НАНОПОР

Н. В. Ваулин^{1,2,*}, П. К. Афоничева², Д. В. Лебедев^{1,2,3}, А. С. Букатин^{1,2},
И. С. Мухин¹, А. А. Евстапов²
* nikitavaylin@mail.ru

¹СПбАУ РАН им. Ж. И. Алфорова, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 8, к. 3, лит. А

²Институт аналитического приборостроения РАН, 198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А

³Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 199034, Университетская набережная, д. 7/9

Наноразмерные поры, сформированные в тонких твердотельных мембранах, являются перспективными платформами для реализации безметочного анализа единичных молекул и биологических соединений в микрофлюидных устройствах [1]. Нанопоровое молекулярное

детектирование биологических и небологические соединений основано на измерении ионного тока, протекающего через нанопору [2]. Проходя через пору, молекула аналита частично перекрывает ее внутренний объем, препятствуя транспорту ионов. Такое изменение проводящих свойств нанопоры приводит к скачкообразному изменению величины ионного тока. Величина и длительность изменения тока отражает физико-химические характеристики проходящих молекул, что позволяет проводить анализ исследуемых соединений. Повышения точности детектирования и анализа можно добиться с помощью применения оптических методов воздействия на транспорт в нанопорах, а также модификацией поверхности твердотельных мембран [3].

В данной работе исследуется влияние монохроматического излучения на транспорт ионов в твердотельных SiN/Si нанопорах с/без интегрированными плазмонными антеннами-бабочками. Для этого была отработана методика формирования Au плазмонных антенн-бабочек на свободно подвешенных SiN мембранах толщиной 40 нм. Далее были проведены потенциостатические измерения сплошных мембран, единичных нанопор и плазмонных нанопор с целью определения влияния излучения на проводимость этих структур.

Производство плазмонных нанопор заключается в формировании Au плазмонной антенны-бабочки длиной ~400 нм (два треугольника, направленных вершинами друг к другу) на свободно подвешенной SiN мембране толщиной 40 нм. Физические параметры плазмонной антенны обеспечивают резонансное поглощение излучения на длине волны 632 нм. Далее, на просвечивающем электронном микроскопе (ПЭМ), между вершинами плазмонной антенны формируется единичная нанопора диаметром 5–7 нм. После этапа формирования нанопоровый образец устанавливается в измерительную электрохимическую ячейку [4] с оптическим доступом. В ходе работы образец облучался монохроматическим излучением от лазерного диода $\lambda = 632$ нм, $P = 10$ кВт/см², которое фокусировалось на участке ~20 мкм².

Электрические измерения проводились в смеси водного раствора KCl и изопропилового спирта (1:1), при разности потенциалов 0,3 В. После выхода тока на стационарный режим образец начинал

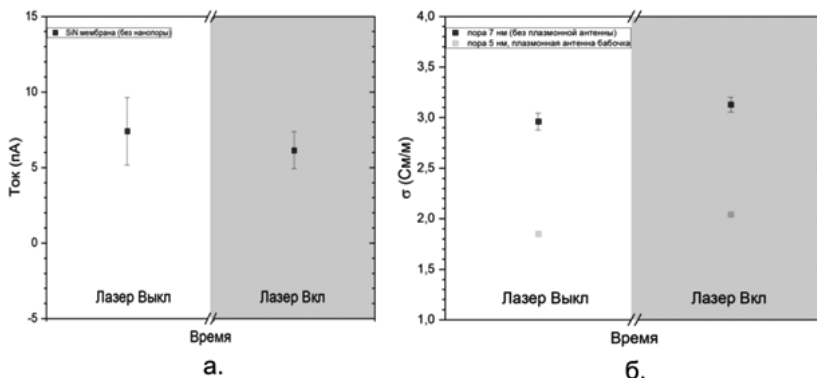


Рис. 1. *a* — зависимость тока утечки от излучения для сплошной мембраны; *б* — зависимость ионного тока через нанопору и плазмонную нанопору от излучения

облучаться светом, что позволило оценить влияние излучения на ионный транспорт в рамках одного измерения. Согласно полученным результатам (см. рис. 1, *a*), облучение светом сплошных мембран (без нанопор) не приводит к увеличению уровня тока (в данном случае тока утечки). Облучение нанопорового образца и нанопорового образца с интегрированной плазмонной антенной-бабочкой, напротив, приводит к увеличению уровня тока и удельной проводимости на 5,7 % и 10,3 % соответственно (см. рис. 1, *б*). Рост удельной проводимости может объясняться возбуждением поверхностных состояний на стенках поры падающим излучением. Возбуждение поверхностных состояний приводит к повышению плотности поверхностного заряда и увеличению заряженной области внутри поры. Плазмонная антенна-бабочка в таком случае усиливает данный эффект, концентрируя электромагнитные поля в поверхностном слое SiN.

Проведенное исследование влияния излучения на проводимость нанопор необходимо для лучшего понимания транспортных процессов в подобных структурах и улучшения их сенсорных свойств.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 20-74-10117).

Литература

1. *Zhao Y., Iarossi M., De Fazio A. F., Huang J. A., De Angelis F.* Label-free optical analysis of biomolecules in solid-state nanopores: toward single-molecule protein sequencing // *ACS photonics*. 2022. 9 (3). P. 730–742.
2. *Xue L., Yamazaki H., Ren R., Wanunu M., Ivanov A. P., Edel J. B.* Solid-state nanopore sensors // *Nature Reviews Materials*. 2020. 5 (12). P. 931–951.
3. *Lu W., Hu R., Tong X., Yu D., Zhao Q.* Electro-Optical Detection of Single Molecules Based on Solid-State Nanopores // *Small Structures*. 2020. 1 (1). P. 2000003.
4. *Vaulin N. V., Afonicheva P. K., Lebedev D. V., Bukatin A. S., Mukhin I. S.* Study of ion transport in single solid state nanopores formed by optical and ion lithography // *St. Petersburg State Polytechnical University Journal. Physics and Mathematics*. 2023. 16 (1.1). P. 385–388.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НАГРЕВА НА ТРАНСПОРТНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТОНКИХ SiN/Si МЕМБРАН С ПОМОЩЬЮ Si НАНОЧАСТИЦ

П. К. Афоничева^{1,*}, Н. В. Ваулин^{1,2}, Д. В. Лебедев^{1,2,3}, А. С. Букатин^{1,2},
А. А. Евстапов¹, И. С. Мухин²
* polina.afonicheva@gmail.com

¹Институт аналитического приборостроения РАН, 198095,
Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А

²СПБАУ РАН им. Ж. И. Алферова, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 8,
к. 3, лит. А

³Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург,
199034, Университетская набережная, д. 7/9

Твердотельные нанопоры в тонких мембранах представляют большой интерес для разработки высокочувствительных биосенсоров и приборов для одномолекулярного детектирования [1]. Реализация контролируемого ионного транспорта через нанопору является ключевой для создания подобных наноустройств. Так, при совмещении нанопор с нанофотоникой появляется возможность изучать ионный транспорт с помощью оптических методов [2]. При воздействии на пору оптическим излучением, поверхностная плотность заряда поры изменяется, позволяя оптически контролировать ионный транспорт и увеличивать проводимость нанопоры [3].

Возможной причиной, по которой оптическое излучение может влиять на транспортные характеристики SiN/Si мембраны, является возникновение локального нагрева на ее поверхности. Для изучения этого эффекта был проведен эксперимент, направленный на исследование локального нагрева SiN/Si мембраны толщиной 40 нм при облучении в широком спектральном диапазоне (галогеновой лампой). Локальный нагрев определялся с помощью комбинационного рассеяния одной Si наночастицы, осажденной на поверхность мембраны. Облучение частицы светом мощностью 2 МВт/см² приводит к сдвигу спектра от 520 до 509 см⁻¹, что соответствует нагреву на 600 К [4].

Эксперимент проводился на рамановском спектрометре Horiba LabRam HR с лазером длиной волны 534 нм. Мембрана с предварительно осажденными на нее наночастицами (со средним диаметром 200 нм) устанавливалась в измерительную ячейку, заполненную деионизированной водой. Путем картирования области мембраны регистрировался спектр одной наночастицы до и после облучения образца лампой в течение 3 минут. Спектр комбинационного рассеяния наночастицы был зафиксирован до и сразу после выключения лампы (рис. 1).

Как видно из полученных данных, облучение мембраны SiN галогенной лампой не приводит к сдвигу спектра. Важно отметить, что положение пика комбинационного рассеяния не полностью соответствует объемному значению Si, что характерно для наночастиц [4].

Дополнительно влияние излучения на температуру внутри ячейки изучалось с помощью термопары, подключенной к мультиметру. Термопара была установлена в отверстия измерительной ячейки и касалась раствора. За 15 минут воздействия галогеновой лампой на ячейку температура выросла с 24,4 до 28,3 °С. Такой рост температуры свидетельствует о том, что облучение светом в широком спектральном диапазоне не приводит к значительному нагреву системы.

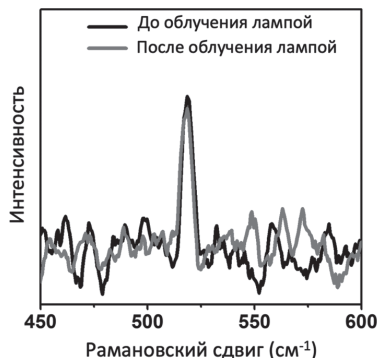


Рис. 1. Спектр комбинационного рассеяния частиц Si до и после облучения лампой

Таким образом, можно сделать вывод, что оптическое воздействие не приводит к эффективному локальному нагреву мембраны, а основным механизмом, влияющим на изменения транспортных свойств при облучении, могут являться фотоиндуцированные поверхностные процессы.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект № 075-15-2021-1057).

Литература

1. *He Y. et al.* Solid-state nanopore systems: from materials to applications // *NPG Asia Materials*. 2021. V. 13. № 1. P. 48.
2. *Fried J. P. et al.* Optical nanopore sensors for quantitative analysis // *Nano Letters*. 2022. V. 22. № 3. P. 869–880.
3. *Lu J. et al.* Light-Controlled Ionic/Molecular Transport through Solid-State Nanopores and Nanochannels // *Chemistry — An Asian Journal*. 2022. V. 17. № 10. P. e202200158.
4. *Zograf G. P. et al.* Resonant nonplasmonic nanoparticles for efficient temperature-feedback optical heating // *Nano letters*. 2017. V. 17. № 5. P. 2945–2952.

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ИЗГОТОВЛЕНИЯ ПВХ-МЕМБРАН ДЛЯ ИОНОСЕЛЕКТИВНЫХ ЭЛЕКТРОДОВ

В. Е. Передкова^{1,2,*}, А. Ю. Зайцева¹

* vpe0075@gmail.com

*¹Институт аналитического приборостроения РАН, 198095,
Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А*

*²Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический
университет Минздрава России, г. Санкт-Петербург*

Ионоселективные электроды являются важными инструментами в химическом анализе и медицинской диагностике, предоставляя возможность измерения концентрации специфических ионов в растворах с высокой точностью и чувствительностью [1]. Однако ключевым компонентом ионоселективных электродов является мембрана, которая должна быть селективной, стабильной и долговечной.

Целью исследования является разработка и оптимизация процесса приготовления ионоселективных мембран на основе поливинилхлорида (ПВХ), обладающих чувствительностью к некоторым видам ионов. Были рассмотрены методология синтеза и характеристики полученных мембран, а также возможности их применения в различных областях. Оценка ионоселективности и стабильности мембраны проводилась с использованием миниатюрной системы для потенциометрического измерения жидких сред (разработка ИАП РАН, г. Санкт-Петербург). На заключительном этапе производилась фиксация и интерпретация данных, полученных с использованием ионоселективного миниатюрного электрода с ПВХ-мембраной.

Осуществлено совершенствование технологии приготовления ПВХ-мембраны. Проведен анализ влияния структуры и состава мембраны на ее эффективность и стабильность. Результаты исследования имеют важное практическое применение в областях для определения наличия различных ионов в многокомпонентных смесях. Таким образом, изготовление мембран из поливинилхлорида для ионоселективных электродов является важным этапом в создании

высокоэффективных сенсорных систем для анализа ионов в областях химического анализа и биомедицинской диагностики.

Благодарности

Исследование выполнено в рамках Государственного задания № 075-01157-23-00.

Литература

1. *Johnson K., Jeffi V.* Numerical Methods in Chemistry. New York: Cambridge University Press, 1983.

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГИПОКСАНТИНА НА ЭЛЕКТРОДАХ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОКСИДАМИ ИРИДИЯ И ВИСМУТА

**Д. А. Коряковцева¹*, Д. Р. Низамиева¹, И. А. Челнокова¹, Л. Г. Шайдарова¹,
Г. К. Будников¹**

* koryakovtzeva_darya@mail.ru

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, 420111, ул. Лобачевского 1/29

Пурины — гетероциклические органические азотистые вещества, входящие в состав нуклеотидов и нуклеозидов. Количественные изменения пуриновых метаболитов возникают у людей, страдающих подагрой и мочекислым диатезом, а также при целом ряде других патологических состояний, например инфаркте миокарда. Важнейшим из гидроксипроизводных пурина является гипоксантин (ГКС).

Для определения ГКС используют различные физико-химические методы. Перспективным методом определения органических соединений является вольтамперометрия, основанная на регистра-

пии и исследовании кривых, полученных при окислении определяемого вещества на рабочем электроде, для изготовления которого используют разные материалы. Наибольшее распространение получили углеродные электроды. Для повышения чувствительности отклика поверхность электродов модифицируют оксидами металлов. Имобилизация бинарной системы на основе оксидов металлов нередко приводит к увеличению их каталитических свойств.

В настоящей работе сопоставлена электрокаталитическая активность электроосажденных на стеклоуглеродном электроде (СУ) смешанновалентных оксидов иридия (IrO_x) и висмута (BiO_x), а также их композитов при окислении ГКС.

Осаждение оксидов металлов проводили электрохимически, используя потенциостатический или потенциодинамический электролиз.

Сопоставление электрохимического поведения ГКС на СУ и модифицированных электродах приводит к выводу, что использование модифицированного оксидами иридия или висмута электрода приводит к улучшению формы сигнала и регистрации пика при потенциалах окисления модификатора. Высота сигнала линейно связана с концентрацией органического соединения в растворе.

Переход от иммобилизованного металлического модификатора к бинарной системе BiO_x - IrO_x приводит к росту каталитической активности электрода при окислении ГКС. При этом каталитический отклик этого модифицированного электрода отличается высокой стабильностью и воспроизводимостью.

Полученные результаты использованы для разработки вольтамперометрического способа определения ГКС. Использование электрода, модифицированного бинарной системой BiO_x - IrO_x , по сравнению с немодифицированным СУ позволяет повысить чувствительность определения рассматриваемых соединений и снизить нижнюю границу определяемых содержаний на 2 порядка (до 5×10^{-6} М). Правильность методик оценена методом введено-найде-но. Относительное стандартное отклонение (S_r) не превышает 5,0 % во всем диапазоне исследуемых концентраций.

Благодарности

Работа выполнена за счет средств Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета («Приоритет-2030»).

ПРОГРАММНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДЛЯ АНАЛИЗА ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ ДЕЙСТВИЯ КАРДИОМИОЦИТОВ

Л. И. Пестрякова^{1,2}, М. Г. Добрецов¹, Ю. А. Филиппов^{1,*}
* yuraf2@yandex.ru

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И. М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, 194223, пр. Тореза, 44.

²Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, 195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, д. 29

Исследование электрогенеза кардиомиоцитов широко применяется для выяснения патогенеза различных сердечно-сосудистых заболеваний. В том числе используется метод регистрации и анализа внутриклеточных потенциалов действия (ПД), который позволяет получать результаты, отражающие функциональные изменения в кардиомиоцитах.

Одним из широко распространенных подходов является оцифровка регистрируемых сигналов с помощью аналого-цифрового преобразователя NIUSB-6211 (National Instruments, США) с последующим их анализом с использованием находящегося в свободном доступе программного пакета WinWCP (Strathclyde Electrophysiology Software, Великобритания). Однако данный программный пакет, включая его самую последнюю версию (5.6.2.), имеет ряд недостатков как программа для обработки полученных данных: в первую очередь необходимость выполнения большого

количества рутинных действий, что замедляет скорость обработки данных. Поэтому для ускорения обработки и анализа внутриклеточных ПД была разработана программа в среде MatLab («Matrix Laboratory»).

Программа позволяет измерять следующие амплитудно-временные характеристики, изображенные на рис. 1:

- Мембранный потенциал покоя.
- Амплитуда ПД.
- Время роста ПД T_r (время 10 % пика ПД до 100 % пика ПД).
- Время спада ПД T_{10} , T_{50} и T_{90} (время снижения от 100 % пика ПД до 90, 50 и 10 % от пика ПД соответственно).
- Максимальная скорость роста ПД V_{max} .
- Латентный период (время от 10 % пика артефакта стимуляции до 10 % пика, вызванного ПД).

Данная программа обладает рядом преимуществ перед WinWCP. Во-первых, она самостоятельно определяет тип потенциала действия: спонтанный (вследствие автоматизма кардиомиоцитов, рис. 1, а) или вызванный (вследствие электрической стимуляции, рис. 1, б), и рассчитывает необходимые для этого типа ПД параметры.

Во-вторых, позволяет накапливать обработанные данные, сравнивать их между собой и сохранять в формате «.xls».

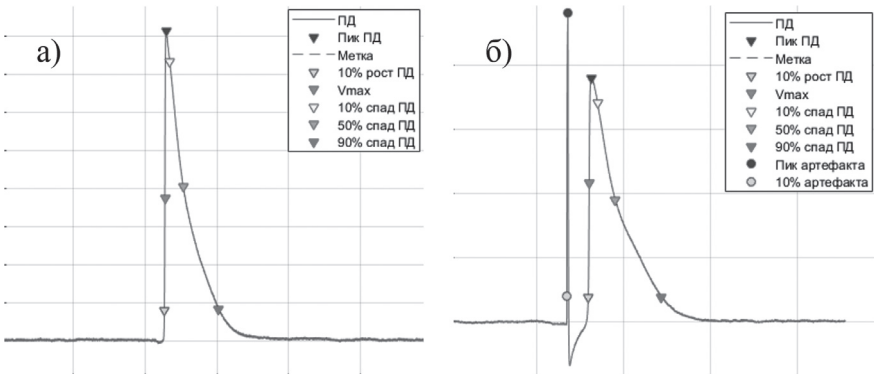


Рис. 1. Графики потенциалов действия с размеченными точками: а — спонтанный потенциал действия; б — вызванный потенциал действия

В-третьих, позволяет наглядно контролировать правильность определения параметров, т. к. точки, используемые в расчете параметров, указываются на графике потенциала действия (рис. 1).

В-четвертых, дает возможность просматривать несколько сегментов записи сразу, в то время как в WinWSP доступен просмотр записи только по одному сегменту.

Таким образом, разработанная программа позволяет уменьшить количество ошибок при обработке данных, автоматизировать многие рутинные операции и, как следствие, упростить и ускорить процесс анализа внутриклеточных ПД, по сравнению с использованием программы WinWSP.

NELM — ПРОГРАММНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДЛЯ АНАЛИЗА БИОИМПЕДАНСНЫХ СПЕКТРОВ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ

Н. А. Бойцова^{1, *}, А. А. Абелит¹, Ф. М. Дубина¹, Д. Д. Ступин¹

* natab2002@yandex.ru

¹СПбАУ РАН им. Ж. И. Алферова, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 8, к. 3, лит. А

На сегодняшний день биоимпедансная спектроскопия (БИС) не только прочно вошла в арсенал экспериментальных методов биологии и медицины, но и стала одним из наиболее широко используемых инструментов для создания биоэлектронных сенсоров [1–3]. В то же время, несмотря на все возрастающую популярность БИС, для анализа получаемых с ее помощью данных обычно применяются прямые методы анализа (например, измерение Cell Index [1]), которые ввиду нелинейной природы импеданса относительно частоты могут не отображать в полной мере те явления, которые имеют место в биологических образцах. Подобное расхождение между распространенностью БИС и примитивностью используемой для

нее обработки данных можно объяснить отсутствием эффективного программного обеспечения, которое позволило бы за разумное машинное время сопоставлять импедансные спектры с теоретическими моделями или эквивалентными схемами с помощью, например, нелинейного комплексного метода наименьших квадратов [4] и исследовать таким косвенным образом различные физические, химические и биологические эффекты в живых системах. Особенно остро данная проблема проявляется при анализе спектров, полученных с высокими частотным и временным разрешениями, т. е. при обработке высокоинформативных данных.

В настоящей работе мы создали и апробировали программное обеспечение NELM на базе пакета прикладных программ MatLab, которое позволяет решить вышеочерченную проблему благодаря применению в нем технологии параллельных вычислений. В результате нам удалось проанализировать процесс дезадгезии одиночных клеток HeLa с поверхности микроэлектродов под действием раствора трипсин-Версена и установить, что в такой системе варьируется не только сопротивление контакта металл/электролит/клетка (МЭК), как предсказывается простой моделью Giaever-Keese [1], но и его псевдоемкость, что может быть связано с диффузией раствора трипсин-Версена в область контакта клетки с электродом (рис. 1).

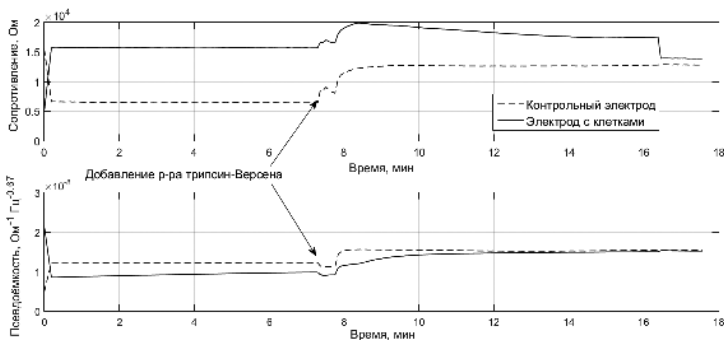


Рис. 1. Результат воздействия раствора трипсин-Версена на электрические свойства контакта (МЭК)

Из полученных данных хорошо видно, что добавление раствора приводит к медленному логистическому падению сопротивления контакта МЭК и к медленному монотонному росту его псевдоемкости, в то время как свойства контрольного (пустого) электрода меняются скачкообразно и быстро.

Таким образом, разработанная нами вычислительная технология позволяет одновременно исследовать отдельные физико-химические явления, имеющие место в контакте МЭК, что открывает новые перспективы в биосенсорной инженерии.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки (FSRM-2023-0005).

Литература

1. *Stupin D. D., Kuzina E. A., Abelit A. A., Emelyanov A. K., Nikolaev D. M., Ryazantsev M. N., Koniakhin S. V., Dubina M. V.* Bioimpedance spectroscopy: basics and applications // ACS Biomaterials Science & Engineering. 2021. 7, no. 6. P. 1962–1986.
2. *Liu Qingjun, Chunsheng Wu, Hua Cai, Ning Hu, Jun Zhou, Ping Wang.* Cell-based biosensors and their application in biomedicine // Chemical reviews. 2014. 114, no. 12. P. 6423–6461.
3. *Jiang Wen G.*, ed. Electric cell-substrate impedance sensing and cancer metastasis. Vol. 17. Springer Science & Business Media, 2012.
4. *Macdonald J. Ross, Schoonman J., Lehnert A. P.* Applicability and power of complex nonlinear least squares for the analysis of impedance and admittance data // Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry. 1982. 131. P. 77–95.

ТЕХНОЛОГИЯ СОЗДАНИЯ ЛИТОГРАФИЧЕСКИХ 25-МКМ СТРУКТУР С ПОМОЩЬЮ ОБОРУДОВАНИЯ БИОЛАБОРАТОРИИ

Ф. М. Дубина^{1*}, А. А. Абелит¹, Н. А. Бойцова¹, А. И. Лихачёв², Д. Д. Ступин¹
* filipp.dubina@gmail.com

¹СПбАУ РАН им. Ж. И. Алферова, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 8, к. 3, лит. А

²ФТИ им. А.Ф. Иоффе, 194021, Санкт-Петербург, Политехническая ул., 26

В настоящее время приборы и методы биоэлектроники активно используются для решения прикладных задач в медицине и биологии. Лимитирующим фактором развития данной отрасли часто является разрыв между технологической оснасткой биологической лаборатории и требованиями к оборудованию, на котором возможно изготовление необходимого устройства. Неотъемлемым шагом производства ряда таких приборов является фотолитография проводящих структур, соответствующих характерным размерам изучаемых клеток [1–5]. В данной работе мы предлагаем метод создания литографических микроструктур, основанный на использовании исключительно типового оборудования биологической лаборатории (конфокальный моторизированный флуоресцентный микроскоп Zeiss Observer.Z1, Zeiss, Германия) и доступных на рынке реагентов (фоторезист AQUA MER ME720, Zhuhai Dynamic Technology, Китай). В целях снижения количества дефектов была модифицирована программа управления конфокальным микроскопом, а пленочный фоторезист был предварительно растворен в этаноле и нанесен центрифугированием. Полученные микроструктуры практически не имели значимых дефектов и обладали характерными размерами 10–25 мкм, что оказалось по крайней мере на 38 % меньше по сравнению с использованием аналогичного подхода в работах [2, 3] (рис. 1). Данные структуры подходят для изготовления микрофлюидных приборов и биоэлектродов, в частности для биоимпедансных устройств или для нейропротезов [4, 5].

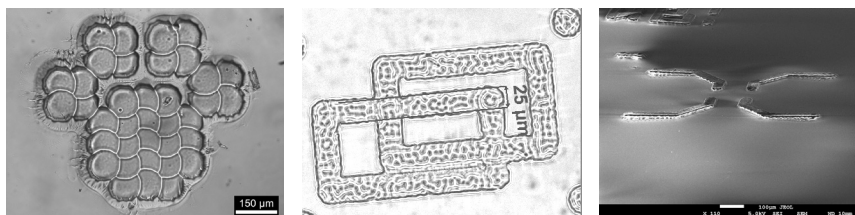


Рис. 1. Оптические (слева и в центре) и СЭМ (справа) изображения структур, полученных с помощью предложенной техники литографии

Мы убеждены, что данный подход будет способствовать значительному прогрессу в области биоэлектронных технологий и позволит решить актуальные медицинские задачи.

Благодарности

Авторы выражают благодарность К. П. Котляру, А. В. Нащёкину и М. В. Дубине за всестороннюю помощь и поддержку. Работа в рамках госзадания Министерства образования и науки (FSRM-2023-0005). Электронно-микроскопические исследования выполнены с использованием оборудования федерального ЦКП «Материаловедение и диагностика в передовых технологиях», поддержанного Минобрнауки России.

Литература

1. *Moreau Wayne M.* Semiconductor lithography: principles, practices, and materials. Springer Science & Business Media, 2012.
2. *Leigh Steven Y. et al.* M3: Microscope-based maskless micropatterning with dry film photoresist // Biomedical microdevices. 2011. 13. P. 375–381.
3. *Higgins MacCallister, Emil J. Geiger.* Epifluorescent direct-write photolithography for microfluidic applications // Journal of Micro/Nanolithography, MEMS, and MOEMS. 2015. 14.1. P. 013504.
4. *Stupin D. D., Kuzina E. A., Abelit A. A., Emelyanov A. K., Nikolaev D. M., Ryzantsev M. N., Koniakhin S. V., Dubina M. V.* Bioimpedance spectroscopy: Basics and applications // ACS Biomaterials Science & Engineering. 2021. 7, no. 6. P. 1962–1986.
5. *Нероев В. В., Астахов Ю. С., Лобанова М. М., Ступин Д. Д., Верлов Н. А., Рязанцев М. Н., Зайцева О. В., Богданов А. А., Васильев В. Н., Дубина М. В.* Искусственное зрение: успехи, проблемы, перспективы // Российский офтальмологический журнал. 2018. 3. С. 3–27.

ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ СВОЙСТВА ГИБРИДНЫХ СТРУКТУР НА ОСНОВЕ CDSE КВАНТОВОРАЗМЕРНЫХ НАНОПЛАСТИН И НАНОЧЕШУЕК ВОССТАНОВЛЕННОГО ОКСИДА ГРАФЕНА В ПРИСУТСТВИИ ПАРОВ АЦЕТОНИТРИЛА

А. В. Болтенко^{1,*}, П. С. Парфенов¹, В. Г. Маслов¹, А. О. Орлова¹
* AlexeyBoltenko@yandex.ru

¹Университет ИТМО, Санкт-Петербург, 197101, Кронверкский пр., д. 49

Задача выявления онкологических заболеваний на ранних стадиях является одной из приоритетных задач современной тераностики [1]. Особые усилия большого числа научных групп сосредоточены на разработке скрининговых подходов в ранней диагностике онкологических заболеваний, которые позволяют массово обследовать население и могут быть основаны на качественном анализе воздуха, выдыхаемого пациентом [2, 3].

Люминесцентные методы диагностики одновременно относятся к наиболее чувствительным и технически просто реализуемым методам, которые, как правило, не требуют сложного оборудования и специально обученного персонала [4]. Такое сочетание особенностей люминесцентной диагностики позволяет разрабатывать эффективные скрининговые системы для общественных медицинских учреждений для массового обследования жителей РФ на предмет раннего выявления онкологических заболеваний.

Развитие синтеза различных наноструктурированных материалов, способных ярко люминесцировать и взаимодействовать с различными ионами и молекулами, положило начало новому направлению в люминесцентной сенсорике [5]. Люминесцирующие полупроводниковые квантоворазмерные нанокристаллы (НК), к которым относятся квантовые точки, квантовые стержни и квантовые нанопластины, являются яркими представителями наноструктурированных люминофоров, поскольку позволяют настраивать оптические свойства, изменяя их форму, размер, химический состав и архитектуру НК [6].

В работе сформированы многослойные структуры на основе квантовых полупроводниковых нанопластин CdSe (НП) на диэлектрической подложке (диоксид кремния) и на проводящей подложке, на слое наночешуек восстановленного оксида графена (rGO). Показано, что формирование гибридной структуры (ГС) НП/rGO сопровождается эффективным тушением люминесценции НП за счет эффективного переноса энергии/заряда от НП к слою rGO. Выполнено исследование интенсивности люминесценции слоев CdSe НП на диэлектрической подложке и в составе ГС в присутствии паров ацетонитрила, который является летучим онкомаркером на рак легкого человека [2, 7].

Для контролируемой подачи ацетонитрила в газовой фазе в работе предложена система автоматической подачи воздушной смеси к образцам с последующей контролируемой продувкой атмосферным воздухом. Фото установки приведено на рис. 1, а. Установка состоит из воздушного насоса, трубок подачи воздуха и газообразного аналита, датчика контроля потока воздуха, регуляторов потока воздуха и герметичной кюветы с вводом и выводом. Для подачи самого аналита в систему использовался автоматический дозатор. Скорость

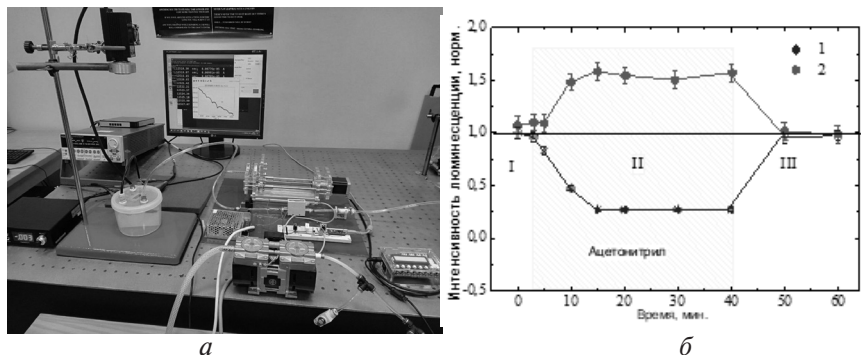


Рис. 1. а — схема установки для автоматизированной подачи аналита; б — зависимость нормированной интенсивности люминесценции CdSe НП на диэлектрической подложке (1) и в составе ГС (2). Длина волны возбуждения люминесценции — 405 нм. I — до введения ацетонитрила, II — в присутствии ацетонитрила, III — после продувки образца воздухом

воздушного потока составляла 1–2 л/мин. Аналит подавался в систему со скоростью 0,2 мл/мин. Объем дозатора 1 мл.

На рис. 1, б, приведены зависимости интегральной интенсивности люминесценции слоев CdSe НП на диэлектрической подложке и в составе ГС. Из рис. 1, б, видно, что после ввода в систему паров ацетонитрила для слоев CdSe НП на диэлектрической подложке наблюдается эффективное тушение люминесценции НП. Молекула ацетонитрила является эффективным акцептором электрона. Поэтому тушение люминесценции НП, скорее всего, связано с эффективным переносом электрона из зоны проводимости НП к сорбированным на поверхности НП молекулам ацетонитрила. В случае ГС люминесценция CdSe НП в присутствии ацетонитрила, напротив, частично восстанавливается, что свидетельствует об изменении условий переноса энергии/заряда между НП и rGO в составе ГС за счет активной сорбции молекул ацетонитрила не только на поверхность CdSe НП, но и на поверхность слоя наночешуек rGO.

Полученные в работе закономерности люминесцентного отклика от CdSe НП в присутствии ацетонитрила показывают перспективность использования слоев CdSe НП в качестве люминофора для разработки новых люминесцентных сенсоров для ранней диагностики онкологических заболеваний. Разнонаправленный характер изменения люминесцентного отклика слоев CdSe НП на диэлектрической подложке и в составе ГС, обусловленный особенностью взаимодействия молекул аналита с компонентами ГС, свидетельствует о возможности создания высокочувствительного и селективного сенсора на летучие маркеры онкологических заболеваний.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, госзадание № 2019-1080.

Литература

1. *Parayan G. V., Akopov A. L.* Photodynamic Theranostics of Central Lung Cancer: Capabilities of Early Diagnosis and Minimally Invasive Therapy (Review) // *Sovrem Tehnol Med.* 2021. V. 13 (6). P. 78.

2. *Rudnicka J., Kowalkowski T., Buszewski B.* Searching for selected VOCs in human breath samples as potential markers of lung cancer // *Lung Cancer*. 2019. V. 135. P. 123–129.
3. *Hakim M., Broza Y. Y., Barash O., Peled N., Phillips M., Amann A., Haick H.* Volatile organic compounds of lung cancer and possible biochemical pathways // *Chem. Rev.* 2012. 112. P. 5949–5966.
4. *Шилов И. П. и др.* Иттербиевые комплексы порфиринов в люминесцентной диагностике и тераностике рака // *Изв. РАН. Сер. физ.* 2020. Т. 84. № 11. С. 1643–1647.
5. *Перепелица А. С.* Оптические свойства локализованных состояний в коллоидных квантовых точках сульфидов кадмия и серебра: автореф. дис. ... канд. физ.-мат. наук. Воронеж, 2017. 214 с.
6. *Ren Z. etc.* Flexible Sensors Based on Organic–Inorganic Hybrid Materials // *Adv Materials Technologies*. 2021. V. 6 (4).
7. *Morozova N.* Luminescence due to structural defects in self-activated A2B6 crystals // *Sciences of Europe*. 2022. (100). P. 51–58.

ПОЛУЧЕНИЕ АНИЗОТРОПНЫХ НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ УСИЛЕНИЯ ПОГЛОЩЕНИЯ КОЛЕБАТЕЛЬНЫХ ПЕРЕХОДОВ ОРГАНИЧЕСКИХ МОЛЕКУЛ

А. В. Афанасьева^{1,*}, Д. Р. Дададжанов¹

* afanasjeva.sasha2011@yandex.ru

¹ *Международный научно-образовательный центр физики наноструктур,
Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия*

Ближняя инфракрасная (БИК) спектроскопия является эффективным методом для обнаружения и анализа химических веществ. Инфракрасная спектроскопия дает возможность получить информацию о структуре, составе химических соединений и может быть определено на основе анализа характеристических частот поглощения, соответствующие колебания атомов водорода относительно

молекул углерода, кислорода или азота. Однако существенной проблемой использования БИК-спектроскопии является относительно низкая интенсивность полос поглощения дипольных колебательных переходов в этой области спектра по сравнению с полосами поглощения в средней инфракрасной области. Один из перспективных способов повышения вероятности колебательных переходов связан с их усилением в ближнем поле металлических наночастиц с плазмонными резонансами. Ранее было теоретически показано, что для усиления поглощения колебательных переходов органических молекул могут быть использованы золотые наноструктуры вытянутой формы [3]. Наночастицы благородных металлов проявляют сильное оптическое поглощение в видимом диапазоне спектра благодаря возбуждению локализованного поверхностного плазмонного резонанса. Так, например, возбуждение плазмонного резонанса золота и серебра приводит к сильным характерным полосам поглощения, как правило, в видимой спектральной области [2]. С другой стороны, сдвиг в ближний ИК-диапазон может быть осуществлен с помощью изменения формы металлических наночастиц, однако получение наночастиц с плазмонными резонансами в области колебаний N-H и C-H является трудоемкой задачей, поскольку относительный выход в ходе синтеза крайне мал.

В рамках этой работы были синтезированы и изучены оптические свойства золотых наностержней с высоким аспектным соотношением. В одном из методов использовался классический способ создания наностержней с использованием цитрата тринатрия и выращиванием длинных стержней с помощью трехростовых растворов [4]. Был приготовлен водный раствор, который содержал $2,5 \cdot 10^{-4}$ М HAuCl_4 и $2,5 \cdot 10^{-4}$ М тринатрийцитрат ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$). К этому раствору, постоянно помешивая, добавляли 0,1 М раствора NaBH_4 . Так же использовался метод, где не требовался цитрат тринатрия и рост осуществлялся за счет гидрохинона и соляной кислоты [5]. Сначала затравочный раствор для золотых наностержней был приготовлен путем восстановления ионов золота (из HAuCl_4). Далее в этот раствор были добавлены 1,0 М соляная кислота и 0,10 М гидрохинон. В зависимости от метода синтеза, получались золотые наностержни

с разным аспектным соотношением сторон, и в зависимости от этого соотношения менялось положение плазмонного пика.

Также в работе были разработаны методы контролируемого осаждения коллоидных наночастиц на поверхности прозрачных диэлектриков и полимеров. Упорядочение наностержней было подтверждено методом спектроскопии линейного дихроизма.

Полученные золотые наночастицы на поверхности диэлектриков и полимеров могут быть использованы для усиления слабого поглощения токсичных и взрывоопасных веществ.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда № 21-72-10098, <https://rscf.ru/project/21-72-10098/>.

Литература

1. *Yeh Y.-C., Creran B., Rotello V. M.* Gold nanoparticles: preparation, properties, and applications in bionanotechnology // *Nanoscale*. 2012. 4 (6). P. 1871–1880.
2. *Sperling R. A., Rivera Gil P., Zhang F., Zanella M., Parak W. J.* Biological applications of gold nanoparticles // *Chemical Society Reviews*. 2008. 37 (9). P. 1896.
3. *Dadadzhanov D. R., Vartanyan T. A., Dadadzhanova A. I., Karabchevsky A.* Surface-enhanced near-infrared absorption (SENIRA) of C-H and N-H groups with gold nanoarray // *Proceedings of SPIE*. 2020. Vol. 11288. P. 1128816.
4. *Khanal B. P., Zubarev E. R.* Chemical transformation of nanorods to nanowires: Reversible growth and dissolution of anisotropic gold nanostructures // *ACS nano*. 2019. Vol. 13. No. 2. P. 2370–2378.
5. *Chang H. H., Murphy C. J.* Mini gold nanorods with tunable plasmonic peaks beyond 1000 nm // *Chemistry of Materials*. 2018. Vol. 30. No. 4. P. 1427–1435.

АНАЛИЗ ОПТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МИКРОСФЕР, ДОПИРОВАННЫХ КВАНТОВЫМИ ТОЧКАМИ

К. Курасова^{1,*}, Е. О. Соловьева¹, Н. А. Торопов², А. А. Старовойтов¹
* camillka713@gmail.com

¹Университет ИТМО, г. Санкт-Петербург, 197101

²University of Southampton, United Kingdom, SO17 1BJ

В последние годы микролазеры, сочетающие в себе микрорезонаторы с модами шепчущей галереи (МШГ) и флуоресцентные материалы, привлекают большое внимание в области фотоники и биомедицины. Такие микролазеры существенно расширяют возможности развития *in vivo* и *in vitro* биосенсоров, поскольку узкая ширина резонансных линий позволяет создать сенсор, крайне чувствительный к мельчайшим изменениям состояния живой клетки [1]. Например, Шуберту с коллегами удалось исследовать и наблюдать сократительную активность сердечной ткани с помощью биоинтегрированных микрорезонаторов [2].

Опубликовано множество статей о создании микролазеров, допированных красителями [3, 4]. Однако, поскольку органические красители подвержены значительному фотообесцвечиванию, предлагается использовать квантовые точки в качестве более фотостабильного люминофора. Для обеспечения биосовместимости для создания МШГ микролазеров были выбраны полимерные материалы и низкотоксичные квантовые точки. В данной работе мы исследуем люминесцентные свойства микросфер, допированных квантовыми точками.

Гидрофильные квантовые точки AgInS_2 (КТ AIS) с ZnS оболочкой были получены методом высокотемпературного синтеза. Выбранная по размеру серия КТ была получена путем их избирательного осаждения из исходных полидисперсных коллоидов. Для создания полимерных микрорезонаторов, допированных низкотоксичными квантовыми точками, были использованы методы капельной микрофлюидики, обладающие высокой производительностью. Концентрированный

раствор КТ AIS был смешан с акриламидом, для ускорения процесса полимеризации акриламида был добавлен тетраметилэтилендиамин.

Исследования люминесцентных свойств полученных микросфер, допированных квантовыми точками, проводились на лазерном сканирующем конфокальном микроскопе Zeiss LSM 710. Для возбуждения люминесценции квантовых точек использовался полупроводниковый лазер (длина волны 405 нм).

10 мкл водного раствора КТ AIS и 15 мкл масляного раствора полиакриламидных микросфер, допированных КТ AIS, нанесли на предметное стекло. Для исследования образцов был выбран объектив 10x/0,75. Мощность возбуждающего излучения варьировалась от 0,05 мВт до 6,05 мВт с шагом 0,6 мВт. Было проведено дополнительное измерение спектра люминесценции микросфер при мощности возбуждения 10 мВт. Спектры люминесценции раствора КТ AIS и полиакриламидных микросфер с КТ AIS представлены на рис. 1 соответственно.

Наблюдается резкий рост интенсивности люминесценции раствора КТ AIS при увеличении мощности возбуждения до 3,65 мВт. Дальнейшее увеличение мощности возбуждения не влияет на интенсивность люминесценции. Фотообесцвечивание КТ при увеличении мощности возбуждения не наблюдалось из-за высокой скорости

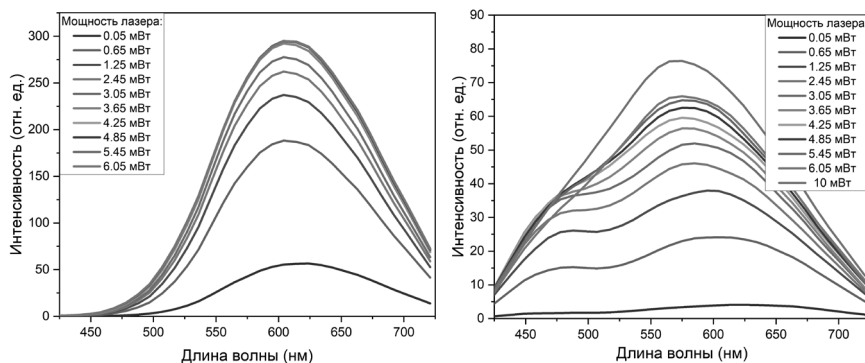


Рис. 1. Спектры люминесценции КТ AIS в растворе (слева) и в полимерных микросферах (справа)

диффузии неповрежденных КТ в область «обесцвеченных» КТ, что может быть обусловлено высокой концентрацией раствора.

Интенсивность люминесценции полиакриламидных микросфер с КТ AIS заметно возрастает в результате увеличения мощности возбуждения. Мощность возбуждения перестает влиять на интенсивность люминесценции при достижении значения 4,25 мВт. Увеличение мощности возбуждения до 10 мВт не привело к разрушению полимерной частицы, т. к. не наблюдалось снижения интенсивности люминесценции.

Литература

1. *Toropov N., Cabello G., Serrano M. P. [et al.]* Review of biosensing with whispering-gallery mode lasers // *Light: Science & Applications*. 2021. Vol. 10. № 1.
2. *Shubert M., Woolfson L., Barnard I. R. [et al.]* Monitoring contractility in cardiac tissue with cellular resolution using biointegrated microlasers // *Nature Photonics*. 2020. Vol. 14. № 7. P. 452–458.
3. *Kuwata-Gonokami M., Takeda K.* Polymer whispering gallery mode lasers // *Optical materials*. 1998. Vol. 9. №1–4. P. 12–17.
4. *François A., Rowland K. J., Shahraam Afshar V. [et al.]* Enhancing the radiation efficiency of dye doped whispering gallery mode microresonators // *Optics express*. 2013. Vol. 21. № 19. P. 22566–22577.

АПРОБАЦИЯ ПЛАЗМОННЫХ НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ СОЗДАНИЯ НИЗКОПороГОВЫХ МИКРОЛАЗЕРОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИМЕРНЫХ МИКРОСФЕР

Е. О. Соловьева^{1*}, К. Курасова¹, А. А. Старовойтов¹, Н. А. Торопов²
* eugeniasoloveva11@gmail.com

¹*ИТМО, 197101, Санкт-Петербург, Кронверкский проспект, д. 49, лит. А*

²*Университет Саутгемптона, SO17 1BJ, Великобритания*

Последнее десятилетие исследования эффективности использования микрорезонаторов с модами шепчущей галереи (МШГ) в качестве биосенсоров [1, 2] привлекают большое внимание. Поскольку принцип работы таких микрорезонаторов основан на полном внутреннем отражении от вогнутой границы, они характеризуются высокой чувствительностью к малым изменениям показателя преломления окружающей среды. Поэтому становится возможным создание на их основе сенсорных систем для детектирования различных биологических объектов, таких как белки и ДНК. Кроме того, микрорезонаторы МШГ обладают потенциалом обнаружения низких концентраций биомолекул с помощью разрешения спектральных сдвигов МШГ [3], что является их преимуществом по сравнению с другими системами детектирования. Однако применение устройств на основе микролазеров с МШГ имеет ряд ограничений, связанных с их биосовместимостью. Одной из наиболее важных проблем при разработке биосенсоров с МШГ является снижение порога генерации для уменьшения негативного воздействия на биологические образцы во время использования.

Данная работа направлена на разработку биосовместимых МШГ микролазеров с низким порогом лазерной генерации. В рамках работы была оптимизирована методика допирования микросфер как красителем, так и плазмонными наночастицами. Кроме того, были изучены люминесцентные свойства полученных микросфер.

Экспериментальные образцы микролазеров были получены методом импрегнирования, за счет пропитки микросферы в водном рас-

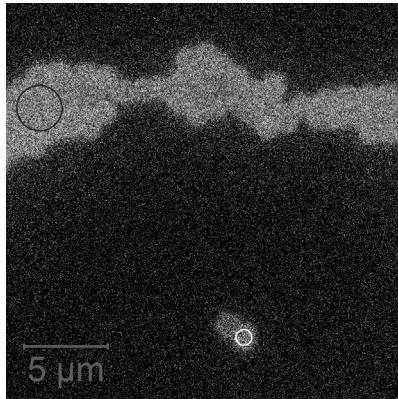


Рис. 1. Люминесцентное изображение полимерных микросфер, допированных красителем и плазмонными наночастицами с указанием сканируемых участков

творе наночастиц с красителем Родамин 6Ж на определенное время. Наночастицы серебра, используемые в разработке микролазера, были получены методом лазерной абляции. Люминесцентные свойства полимерных микросфер, легированных красителем Родамин 6Ж и наночастицами серебра, изучали с помощью лазерного сканирующего конфокального микроскопа Zeiss LSM 710. Для возбуждения люминесценции красителя использовался полупроводниковый лазер с длиной волны 405 нм.

На основе люминесцентных изображений микросфер (рис. 1), полученных с помощью сканирующего конфокального микроскопа, можно сделать вывод, что краситель успешно внедрился в микросферы. В ходе исследования было получено, что интенсивность люминесценции микросфер, допированных только красителем, выше интенсивности люминесценции для микросфер, допированных и красителем, и серебряными наночастицами. Это может свидетельствовать о том, что в данной конфигурации внедрение наночастиц приводит к тушению люминесценции красителя.

Благодарности

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 22-72-10057).

Литература

1. *Foreman M. R., Swaim J. D., Vollmer F.* Whispering gallery mode sensors // *Advances in Optics and Photonics*. 2015. № 7 (2). P. 168–240.
2. *Toropov N., Vollmer F.* Whispering-gallery microlaser for cell tagging and bar-coding: the prospects for *in vivo* biosensing // *Light: Science & Applications*. 2021. № 10 (1).
3. *Capocefalo A., Gentilini S., Barolo L., Baiocco P., Conti C., Ghofraniha N.* Biosensing with free space whispering gallery mode microlasers // *Photonics Res.* 2023. Vol. 11. No. 5. P. 732.

РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА КОРРЕКЦИИ РАМАНОВСКОГО И РЭЛЕЕВСКОГО РАССЕЯНИЯ ПРИ РЕГИСТРАЦИИ МАТРИЦ ВОЗБУЖДЕНИЯ-ИЗЛУЧЕНИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ

Я. И. Мокин^{1*}, А. В. Фонин²

*mokinyakov@mail.ru

¹СПбАУ РАН им. Ж. И. Алфедова, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 8, к. 3, лит. А

²Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Тихорецкий просп., 4

Матричная флуоресцентная спектроскопия излучения-возбуждения (МФСИВ) представляет собой высокочувствительный и неинвазивный метод, широко используемый для сравнения, выявления динамики и трансформаций хромофорных веществ в растворах [1]. Метод заключается в получении и анализе матрицы $N \times M$ излучения-возбуждения (ЕЕМ — Emission Excitation Matrix) — трехмерной диаграммы зависимости интенсивности излучения от длины волны

излучения λ_{em} и длины волны возбуждения λ_{ex} , где N и M — количество значений λ_{em} и λ_{ex} соответственно.

Проблема обработки и анализа данных, полученных методом МФСИВ, заключается в фиксации детектором, помимо спектра исследуемого вещества, еще и рамановского и рэлеевского рассеяния, которые проявляются в виде резких пиков интенсивности излучения на диаграмме при определенных длинах волн излучения и возбуждения. Для рамановского рассеяния $\lambda_{em} = \lambda_{ex}$, для рэлеевского $\lambda_{em} = 2 \cdot \lambda_{ex}$. Это мешает корректному определению интегральной флуоресценции вещества. Целью работы являлась разработка алгоритма поиска таких областей и их коррекции с сохранением истинного спектра вещества.

На основании анализируемых данных были определены эмпирические параметры, позволяющие оценить ширину полосы рассеяния d и h — область опорных значений интенсивности флуоресценции, необходимую для удовлетворительной коррекции рассеяния. Используя попеременный обход ЕЕМ по рядам и столбцам, построчно была применена квадратичная регрессия. Ошибочная коррекция определялась при повторном проходе с помощью коэффициента детерминации и автоматически устранялась варьированием области опорных значений или порядка полиномиальной регрессии. Алгоритм имеет вычислительную сложность $(h \cdot N \cdot M)$ по времени.

Разработанный алгоритм способен автоматизировать процесс коррекции рассеяния. Продолжением работы может стать создание алгоритмов для других методов обработки и анализа данных ЕЕМ и встраивание их в единый программный пакет, что позволит ускорить работу исследователя методом МФСИВ.

Литература

1. Duarte R. M. B. O., Duarte A. C. Multidimensional analytical techniques in environmental research: Evolution of concepts. Elsevier, 2020, P. 1–26. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818896-5.00001-6>.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РАЗМЕРА СУПЕРПАРАМАГНИТНЫХ ЧАСТИЦ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА НА АГРЕГАТИВНУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ В ПОСТОЯННОМ МАГНИТНОМ ПОЛЕ

Е. О. Моисеева¹, С. В. Герман¹, А. С. Комлев², А. И. Дададжанова³,
А. О. Орлова³, Д. А. Горин^{1,*}
* D.Gorin@skoltech.ru

¹ Сколковский институт науки и технологий, 121205, Москва, Большой бул., 30, стр. 1

² Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, 119991, Ленинские горы 1, к. 3

³ Университет ИТМО, Санкт-Петербург, 199034, Биржевая линия В.О., д. 14

Благодаря сочетанию магнитных свойств, низкой токсичности и высокой рентабельности производства суперпарамагнитные наночастицы оксида железа (SPIONs), зарекомендовали себя как в качестве уникального функционального материала для широкого практического применения в медицине и биотехнологии. В настоящее время SPIONs активно используются в клинике для магнитной сепарации клеток и нуклеиновых кислот [1] и в качестве T₂ контрастного агента магнитно-резонансной томографии (МРТ) [2]. Более того, новым перспективным направлением является разработка биосенсоров, в которых откликом служит магнитный сигнал, обусловленный агрегацией магнитных частиц в присутствии аналита [3]. Многие особенности поведения растворов магнитных наночастиц в магнитном поле возникают в результате образования агрегатов. Однако, несмотря на то что агрегация определяет применение SPIONs в различных областях техники, этот эффект слабо изучен.

В данной работе наночастицы оксида железа с размером магнитного ядра 3,5 и 9 нм получены по методике соосаждения солей двухвалентного и трехвалентного железа в автоматическом химическом реакторе CR-1 (TetraQuant, Россия) [4]. Магнитометрия образцов показала, что при нормальных условиях полученные наночастицы

не имеют коэрцитивной силы и не проявляют гистерезиса, а намагниченность насыщения (M_s) увеличивается с 2 до 40 А·м²/кг с ростом размера ядра. Гидродинамический диаметр SPIONs в воде, измеренный методом динамического светорассеяния (ДСР), составил 6 и 17 нм, при этом отсутствовали признаки наличия агрегатов. Для того чтобы исследовать влияние магнитного поля на водный растворы SPIONs с различным средним размером частиц, использована спектроскопия магнитного кругового дихроизма (МКД). В спектрах МКД наблюдалась корреляция между размером частиц и их устойчивостью к образованию агрегатов под действием постоянного внешнего магнитного поля. Показано, что более крупные наночастицы размером 9 нм агрегируют при полях около 0,75 Тл, тогда как мелкие наночастицы размером 3,5 нм остаются стабильны даже в высоком поле (1,5 Тл). Таким образом, полученные результаты имеют практическое значение и актуальны для будущих разработок приложений систем на основе SPIONs.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы «Клевер»: Совместные проекты Сколтеха, МФТИ и ИТМО.

Литература

1. *Horak D. et al.* Preparation and properties of magnetic nano- and micro-sized particles for biological and environmental separations // *J. of separation science*. 2007. 30.11. P. 1751–1772.
2. *Toth G. B. et al.* Current and potential imaging applications of ferumoxytol for magnetic resonance imaging // *Kidney international*. 2017. 92.1. P. 47–66.
3. *Lee H. et al.* Recent developments in magnetic diagnostic systems // *Chemical reviews*. 2015. 115.19. P. 10690–10724.
4. *German S. V. et al.* Synthesis of magnetite hydrosols in inert atmosphere // *Colloid Journal*. 2013. 75. P. 483–486.

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ОЦЕНКИ ПОПУЛЯЦИИ HER2+ ЭКЗОСОМ НА ОСНОВЕ ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫХ МАГНИТНЫХ ЧАСТИЦ, АПТАМЕРОВ И ПРОТОЧНОЙ ФЛУОРИМЕТРИИ

**Д. Д. Кожевникова^{1,*}, А. М. Яценко¹, Е. О. Моисеева¹, В. С. Чернышев²,
Д. А. Горин¹**

* Daria.Kozhevnikova@skoltech.ru

¹Сколковский институт науки и технологий, 121205, Москва, Территория инновационного центра «Сколково», Большой бульвар, д. 30, стр. 1

²ФБГУ НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В. И. Кулакова, 117997, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4

Внеклеточных везикулы (ВВ) — секретлируемые везикулы сложного состава, циркулирующие в биологических жидкостях и представляющие значительный интерес для диагностики заболеваний, в том числе онкологических. Типы ВВ, наиболее значимые для клинических применений, — это малые внеклеточные везикулы (мВВ), к которым относятся экзосомы и микровезикулы. Присутствие широкого спектра маркерных белков на поверхности и в полости мВВ позволяет оценить физиологические процессы в клетках их происхождения, в частности раковое перерождение. К примеру, поверхностный экзосомальный маркер HER2 (рецептор человеческого эпидермального фактора роста 2-го типа) применяется для оценки статуса рака молочной железы. Гиперэкспрессия HER2 в опухолевых клетках молочной железы приводит к появлению этого маркера на поверхности продуцируемых мВВ. HER2 положительная популяция экзосом может быть определена в образце плазмы крови пациента. По ее размеру можно судить о прогрессе протекания опухолевой трансформации [1].

Наиболее совершенная группа методов выделения мВВ из биологической жидкости с точки зрения чистоты получаемого образца — аффинный захват — селективное связывание везикулярных поверх-

ностных молекул с платформой. Частным случаем такой платформы являются магнитные частицы — они обеспечивают большую поверхность взаимодействия и легко собираются магнитом [2]. Частицы, использованные в данной работе, — это частицы собственного производства, содержащие магнитное ядро, покрытое диоксидом кремния, поверхность которого модифицирована карбоксильными группами. В данной работе была выполнена апробация протокола модификации данных нМС аптамером, специфичным к универсальному экзосомальному маркеру CD63 на основе стрептавидин-биотин взаимодействия. Функционализированные таким образом частицы используются для специфического связывания экзосом и их очистки. Дальнейший анализ везикул на наличие HER2 рецептора проводится с помощью флуоресцентно-меченого HER2-специфичного аптамера. Величина сигнала флуоресценции, детектируемого при проточной флуориметрии, служит мерой представленности целевой популяции экзосом в образце.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-74-00022).

Литература

1. *Yashchenok A. et al.* AntiCD63Oligonucleotide Functionalized Magnetic Beads for the Rapid Isolation of Small Extracellular Vesicles and Detection of EpCAM and HER2 Membrane Receptors using DARPIn Probes // *Analysis & Sensing*. 2022. 3. 10.1002/anse.202200059.
2. *Kozhevnikova D. et al.* Progress in Isolation and Molecular Profiling of Small Extracellular Vesicles via Bead-Assisted Platforms // *Biosensors*. 28 Jun. 2023. Vol. 13,7 688. doi:10.3390/bios13070688.

РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ ГИБКИХ ЭЛЕКТРОДОВ ДЛЯ НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ СПИННОГО МОЗГА

В. Д. Сафаров^{1,2,*}, А. С. Шабунин^{1,2}

* safarov.vd@edu.spbstu.ru

¹Национальный медицинский исследовательский центр детской травматологии и ортопедии им. Г. И. Турнера, Санкт-Петербург.

²Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, 195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, д. 29

При моделировании травмы спинного мозга необходимо проводить нейрофизиологические исследования (МВП, ССВП) как в остром периоде до 3 дней, так и в хроническом. Для моделирования эксперимента в остром периоде применяются игольчатые электроды из золота и hook-электроды из нержавеющей стали [1], данная система электродов не подходит для применения в хроническом эксперименте из-за ряда недостатков, таких как высокая травматичность hook-электродов, и специфического вывода контактов.

Для регистрации вызванных потенциалов в хроническом периоде была разработана инвазивная система электродов, схема локализации и разводки электродов приведена на рис. 1. Система включает в себя 2 пары внутричерепных электродов, 3 пары внутримышечных, 1 пару спинальных электродов, 2 пары манжетных электродов, а также провода, отводящие сигнал от целевой области к месту вывода, и выводной разъем. В ходе анализа литературных данных были выделены перспективные биоинертные компоненты для изготовления системы: золотая проволока, токопроводящая нить из нержавеющей стали и двухкомпонентный силиконовый эластомер на платиновой основе. Также были спроектированы и собраны: установка для нанесения силиконовой изоляции на поверхность нити и формы для получения манжетных электродов.

Полученные образцы проводов были имплантированы для изучения тканевого ответа на материалы. В течение 8 недель изолиро-

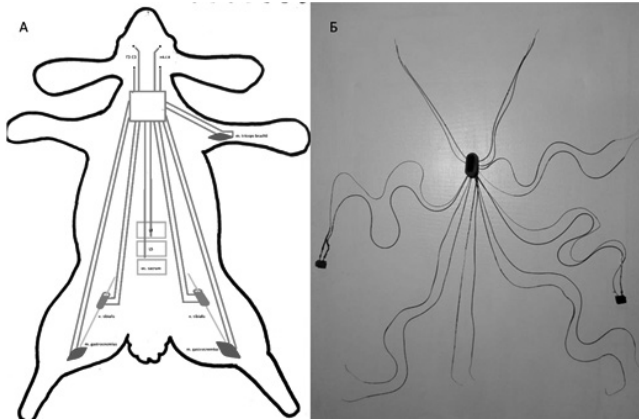


Рис. 1. *a* — схема имплантируемой системы электродов; *б* — фотография собранной системы

ванные провода не оказывали токсического воздействия на окружающие ткани и покрылись соединительнотканной капсулой.

Также была собрана финальная система электродов, которая была апробирована *in vivo* на двух кроликах. Результаты нейрофизиологических исследований показали увеличение амплитуды сигнала, по сравнению с предыдущей системой, и уменьшение количества артефактов при записи.

Таким образом, разработанная система электродов может применяться в лабораторных целях, при исследовании нейрофизиологических показателей травмы спинного мозга на лабораторных животных.

Литература

1. Патент № 2768486 С1 Российская Федерация, МПК G09В 23/28. Способ моделирования травматического повреждения спинного мозга из вентрального доступа в поясничном отделе позвоночника: № 2021124504 : заявл. 16.08.2021 : опубл. 24.03.2022 / С. В. Виссарионов, Т. С. Рыбинских, М. С. Асадулаев, А. С. Шабунин; заявитель Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр детской травматологии и ортопедии имени Г. И. Турнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации. EDN TWHNDY.

АНАЛИЗ ГЛАЗОДВИГАТЕЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ В ПРОЦЕССЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТЕМАТИЧЕСКИХ РОЛЕЙ В ПРЕДЛОЖЕНИЯХ СО СЛОЖНОЙ ГРАММАТИКОЙ

Т. А. Просвирнина^{1,2,*}, Д. В. Лундина¹, О. В. Кручинина¹, Е. И. Гальперина¹
* Prosvirnina2000@yandex.ru

¹ *Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И. М. Сеченова РАН, 194223, Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44*

² *Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, 195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, д. 29*

Исследование параметров движения глаз (саккад и фиксаций) направлено на изучение механизмов, лежащих в основе установления субъектно-объектных отношений в предложениях. Целью данного исследования является анализ глазодвигательных реакций в процессе сопоставления предъявляемых на слух предложений (в активном и пассивном залоге) с соответствующей иллюстрацией.

У 29 взрослых (28 женщин, средний возраст 21 лет 7 месяцев) регистрировали движения глаз (айтрекер GP3 Desktop 60 Hz) в процессе прослушивания 96 предложений (4 серии предъявления) в активном залоге с прямым (АП) и обратным (АО) порядком слов, пассивном залоге с прямым (ПП) и обратным (ПО) порядком слов. Испытуемые выполняли тест на соотнесение картинки и предложения (sentence-picture matching task). Протокол исследования был адаптирован для айтрекер-исследования из оригинальной программы «Грамконструктор» (Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2020616013, г. Санкт-Петербург, Россия) [1]. Параметры глазодвигательной активности рассчитывались для областей интереса (ОИ) объекта, субъекта и действия, а также для зоны, соответствующей и несоответствующей предъявленному предложению. Регистрация глазодвигательной активности проводилась на стадии восприятия предложения отдельно для каждого слова и на стадии принятия решения (рис. 1). В соответствии с моделью понимания речи А. Фредеричи [2] при восприятии предложения на



Круг – фиксации, линии – саккады

Рис. 1. Запись регистрации движений зрения испытуемого при прослушивании предложения «Кот облит волком»

поздних этапах (600 мс и позже от начала предъявления) происходит интеграция лексико-семантической информации и принятие решения. Ранее показано, что фокус внимания, оцениваемый по параметрам глазодвигательного поведения, перемещается между субъектом и объектом действия в зависимости от грамматического строя предложения [3].

При анализе глазодвигательного поведения во время прослушивания предложений обнаружены различия по параметрам фиксаций и саккад на изображении, соответствующем предложению и несоответствующем. При восприятии первого слова в предложениях статистических отличий между предложениями различных грамматических конструкций не выявлено. При восприятии второго слова уже выявлены отличия между типами предложений — ПП от АП, АО, ПО по параметрам: время от начала стимула до первой фиксации (tff), длительность всех фиксаций (fix time), средняя длительность фиксаций (mean fix), общее количество фиксаций (all fix), амплитуда саккад (saccad ampl), количество саккад (saccad count), также АО отличался от АП, ПП и ПО по количеству возвратов (returns). Кроме того, выявлены отличия по параметрам фиксаций и саккад при рассмотрении изображения, соответствующего vs несоответствующего

предложению. Эти отличия проявляются на втором и третьем слове (все параметры больше для стороны, соответствующей прослушанному предложению). Полученные результаты позволяют предположить, что гипотеза о смысле предложения формируется при прослушивании уже второго слова, независимо от типа предложения: активный или пассивный залог, прямой или обратный порядок слов. При прослушивании третьего слова происходит проверка гипотезы, что подтверждается большими значениями параметров глазодвигательных реакций на изображении, соответствующем предложению. По характеру установления субъекта и объекта действия в предложениях с активным и пассивным залогом можно предположить, что определение тематических ролей в предложениях с активным залогом более автоматизировано, что, возможно, связано с частотностью таких конструкций в языке [4]. Вне зависимости от типа предложения глазодвигательная активность выше в начале прослушивания предложения (на стадии анализа), чем на стадии принятия решения.

Благодарности

Работа выполнена в рамках ГЗ ИЭФБ РАН 075-00967-23-00.

Литература

1. *Stankova E. P., Guillemard D. M., Galperina E. I.* Morpho-Functional Basis of Complex Sentence Processing in Adults and Children // *Hum Physiol.* 2020. V. 46. P. 332–342.
2. *Friederici A. D.* Neurophysiological aspects of language processing // *Clinical Neuroscience.* 1997. V. 4. № 2. P. 64–72.
3. *Походай М. Ю., Мячиков А. В.* Роль системы внимания в порождении предложений // *МЕТОД: Московский ежегодник трудов из обществоведческих дисциплин.* 2017. № 7.
4. *Vasilyeva M., Huttenlocher J., Waterfall H.* Effects of language intervention on syntactic skill levels in preschoolers // *Dev. Psychol.* 2006. V. 42. P. 164–174.

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ПРОЦЕССА ПРОТОЧНОГО ВЫДЕЛЕНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

М. В. Зайцева^{1, *}, И. Е. Антифеев¹, Д. Г. Петров¹

* marishkask.mz@mail.ru

¹Институт аналитического приборостроения РАН, 198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А

Для молекулярной диагностики важную роль играет этап выделения нуклеиновых кислот (НК) в процессе пробоподготовки [1]. Качество выполнения данного этапа во многом обеспечивает точность и достоверность результата всего анализа [2, 3]. Оптимальные условия процесса выделения могут позволить не только достичь максимальной эффективности, минимизировать потери материала и исключить возможность загрязнения полученной НК, но и значительно сократить время выделения. Важно заметить, что различные этапы протокола выделения НК для автоматизированного режима, в частности проточного, требуют сложных конструктивных и схемотехнических решений. Однако адаптация метода без потери эффективности может позволить упростить разработку прибора для выделения НК и сократить финансовые затраты.

В рамках данной работы были изучены параметры различных этапов процесса выделения НК: лизиса (время и температура), промывки (количество промывок и состав промывочных растворов) и десорбции (наличие и отсутствие процесса сушки для удаления остатков промывочных растворов).

В качестве образца был выбран стандартный модельный объект — бактерии *E. coli*, которые культивировались до рабочей концентрации $(3,7 \pm 0,3) \times 10^8$ кл/мл и использовались в работе. Процесс выделения НК проводился с помощью коммерческого набора (ООО «СИНТОЛ») по соответствующему набору протоколу с последовательным внесением изменений, необходимых для выполнения поставленных задач. Эффективность процесса выделения НК оценивалась методом полимеразной цепной реакции в реальном времени

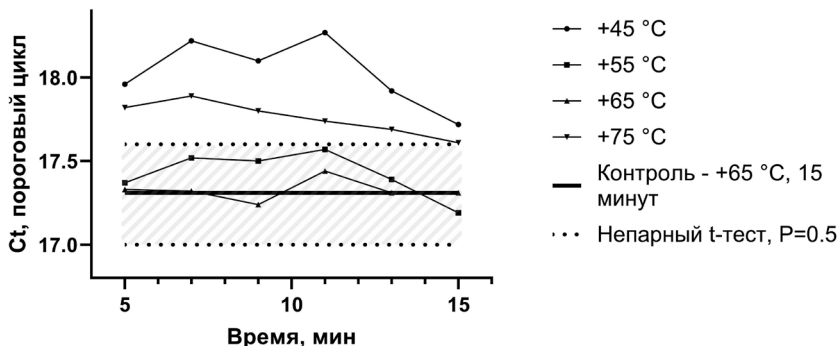


Рис. 1. Графики средних значений пороговых циклов (Ct) температурных групп в зависимости от времени лизиса. На графике обозначено значение контрольного порогового цикла при лизисе в течение 15 минут при +65 °C, пунктиром и штриховкой обозначен интервал пороговых циклов $P \leq 0,05$

(ПЦР-РВ). ПЦР-РВ проводилась с помощью коммерческого набора (ООО «СИНТОЛ») по соответствующему набору протоколу на приборе АНК-48 (ООО «СИНТОЛ»). Обработка полученных данных проводилась с помощью пакета GraphPad Prism 8.0.

По результатам проведенной работы получены следующие выводы:

1. Показана возможность сокращения времени лизиса на 67 % (10 минут) и снижения температуры для процесса лизиса клеток на 15 % (10 °C) без потери эффективности (рис. 1) в сравнении с рекомендованными условиями (15 минут 65 °C).

2. При изучении различных схем использования промывочных растворов была показана возможность использования коммерческого солевого промывочного раствора вместо аналогичной спиртовой промывки без потери эффективности. В частности, было достоверно показано, что применение солевого промывочного раствора на последней стадии этапа промывки не влияет на полученный результат.

3. Достоверно показано, что на этапе десорбции допустимо отсутствие процесса сушки магнитного сорбента без потери эффективности процесса. Данный вывод применим для удаления остатков как спиртового промывочного раствора, так и аналогичной солевой промывки.

Литература

1. *Karlikow M., Pardee K.* The Many Roads to an Ideal Paper-based Device // Paper-based Diagnostics. 2018. Dec 11. P. 171–201. DOI: 10.1007/978-3-319-96870-4_6.
2. *Rahman M. M., Elaissari A.* Nucleic acid sample preparation for in vitro molecular diagnosis: from conventional techniques to biotechnology // Drug Discov Today. 2012. Nov. 17 (21–22). P. 1199–1207. doi: 10.1016/j.drudis.2012.07.001. Epub 2012 Jul 20. PMID: 22819926.
3. *Петров Д. Г., Макарова Е. Д., Корнева Н. А., Альдекеева А. С., Князьков Н. Н.* Воздействие полей разной природы на выход ДНК при выделении из модельных растворов на двуокиси кремния. 1. Влияние температуры // Научное приборостроение. 2015. Т. 25. № 2. С. 91–101.

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКАЯ МЕТОДИКА КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА И СОСТАВА МОЛОЧНОЙ ПРОДУКЦИИ

Ю. В. Лямина¹, А. Ю. Зайцева^{2, *}, Ю. А. Титов², А. Г. Кузьмин²
* anna@da-24.ru

¹ *СПбАУ РАН им. Ж. И. Алферова, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 8, к. 3, лит. А*

² *Институт аналитического приборостроения РАН, 198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А*

Введение. Молочная продукция является важной частью питания человека, а контроль качества и безопасности пищевых продуктов становится все более важным [1]. Масс-спектрометрия является эффективным инструментом контроля благодаря своей универсальности, чувствительности, селективности и экспрессности анализа [2, 3].

Объекты и методы исследования. В данной работе были использованы образцы промышленно выпускаемых йогуртов от разных производителей с различными микробиологическими заквасками,

молочным сырьем, функциональными пищевыми добавками и т. п. Для оценки состава и качества использованных материалов был использован малогабаритный газовый квадрупольный масс-спектрометр «МС7-200», с последующей математической обработкой данных методом главных компонент.

Результаты. Разработанный метод позволил достоверно различать образцы молочной продукции не только по степени свежести, но также по составу и качеству использованных при изготовлении этих образцов микробиологических заквасок, молочного сырья, функциональных пищевых добавок.

Выводы. Использование газовой масс-спектрометрии с последующей математической обработкой данных позволяет достоверно оценивать состав и качество образцов молочной продукции. Эти методы могут быть использованы как высокоэффективный инструмент контроля состава и качества молочной продукции с высокой экспрессностью, экономичностью и невысокими требованиями к квалификации оператора.

Благодарности

Исследование выполнено в рамках Государственного задания № 075-01157-23-00.

Литература

1. *Макгиббон А.* Исследование на выявление примесей в молочных жирах (фальсификации молочной продукции). Текст: электронный // dairynews.ru: [сайт]. 2015. 7 окт. URL: http://www.dairynews.ru/news/issledovanie-na-vyyavlenie-primesey-v-molochnykhzh.html?sphrase_id=5215112 (дата обращения: 10.10.2019).
2. *Domon B., Aebersold R.* Mass spectrometry and protein analysis // *Journal Science*. 2006. Apr 1.
3. *Guerrera I. C., Kleiner O.* Application of mass spectrometry in proteomics // *Biosci Rep*. 2005. Feb-Apr. 25 (1–2).

ОЦЕНКА ОПТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК МНОГОКОМПОНЕНТНОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ СРЕДЫ

М. Ю. Заневская^{1*}, К. В. Бабаев², М. С. Мазинг³, А. Ю. Зайцева³
* mnevskaya1@gmail.com

¹Государственный университет аэрокосмического приборостроения, 190000, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 67

²Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, 195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, д. 29

³Институт аналитического приборостроения РАН, 198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А

Изучение оптических параметров биологической среды — одна из основных задач, которой посвящаются физики, работающие в области разработки медицинского оборудования [1]. В связи с тем что реальные ткани и среды живых организмов обладают множеством компонентов, необходимо проведение теоретического расчета параметров этих многофазных сред. Благодаря таким расчетам становится возможной разработка современных методов мониторинга состояния биологической ткани, которые отличаются высокой скоростью, точностью и отсутствием инвазивности. Оптические параметры среды, включая коэффициент поглощения, содержат важную информацию о состоянии ткани и могут быть использованы для диагностики и мониторинга сердечно-сосудистых заболеваний, онкологии кожи, а также заболеваний сетчатки глаза [2, 3]. Целью работы являлось изучение механизмов взаимодействия оптического излучения с биологической тканью с последующим теоретическим расчетом глубины проникновения оптического излучения в многокомпонентную модель, учитывающую оптические свойства основных составляющих биологических тканей.

Расчет коэффициента поглощения многокомпонентной среды $\mu_{a_биотк}$, учитывающего коэффициент поглощения μ_a и концентрацию сразу нескольких хромофоров, содержащихся в многокомпонентной модели биологической ткани, был произведен по формуле:

$\mu_{a_{\text{биотк}}}(\lambda) = \text{Water} * \mu_{a_w}(\lambda) + \text{Hb} * \mu_{a_{\text{Hb}}}(\lambda) + \text{HbO2} * \mu_{a_{\text{HbO2}}}(\lambda) + \text{Fat} * \mu_{a_{\text{Fat}}}(\lambda)$
 где *Water* — объемное содержание воды, *Hb* — объемное содержание гемоглобина, *HbO2* — объемное содержание оксигемоглобина, *Fat* — объемное содержание жира, λ — длина волны излучения.

Было рассмотрено три случая: в первом случае вклад в расчеты вносят только вода и гемоглобин, во втором случае — вода, гемоглобин и оксигемоглобин, а в третьем случае также учитывалось объемное содержание жира в биологической ткани. Численные результаты глубины проникновения оптического излучения были получены для двух вариантов биологических сред — для кожи и для мышечной ткани. Полученные зависимости глубины проникновения излучения h в биологическую ткань от длины волны λ представлены на рис. 1.

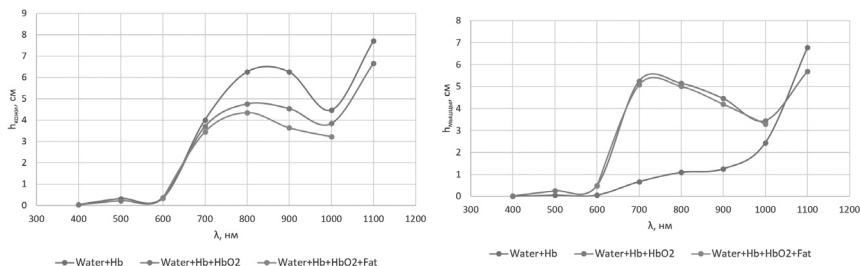


Рис. 1. Зависимость глубины проникновения излучения в биологическую ткань от длины волны: кожа (слева) и мышечная ткань (справа)

Полученные результаты могут быть использованы для оптимизации методов исследования биологических тканей, а также для повышения эффективности оптических технологий, применяемых в диагностике и лечении сердечно-сосудистых и других заболеваний.

Литература

1. Шангина О. Р., Гайнутдинова Р. Д. Взаимодействие лазерного излучения с биологическими тканями // Практическая медицина. 2019. Т. 17. № 1. С. 24–27.
2. Цыганкова Е. А., Корнева Ю. С. Применение спектроскопических методов в исследованиях новообразований в биологических тканях //

Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2021. Т. 20. № 2. С. 150–156.

3. *Kozlovska T. I. et al.* Physical-mathematical model of optical radiation interaction with biological tissues // *Photonics Applications in Astronomy, Communications, Industry, and High Energy Physics Experiments 2017*. SPIE, 2017. Т. 10445. Р. 1047–1053.

АВТОМАТИЗАЦИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ НА ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОМ ЭТАПЕ ЛАБОРАТОРНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

И. О. Шмидт^{1, *}

* istokbastion@mail.ru

*¹Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого
Институт биомедицинских систем и биотехнологий
Высшая школа биомедицинских систем и технологий, Санкт-Петербург,
Россия, СПб ГБУЗ «Клиническая больница Святителя Луки», Санкт-
Петербург, Россия*

Введение. В настоящее время в большинстве медицинских лабораторий на преаналитическом этапе лабораторного исследования используются ручные трудоемкие субъективные методы с привлечением большого количества сотрудников, что увеличивает время получения результата и может стать источником ошибки. Однако современные автоматизированные решения позволяют объективно оценить и быстро подготовить большое количество проб биологического материала к аналитическому этапу.

Цель. Оценить преимущества и недостатки лабораторного оборудования для преаналитического этапа исследования в медицинских лабораториях.

Материалы и методы. Изучить возможности применения автоматического оборудования для преаналитического этапа лабораторного исследования в медицинской лаборатории по данным из открытых литературных источников.

Результаты. Данные технологии стандартизируют процесс, ускоряют обработку биологического материала, позволяют проводить первичную оценку и отбраковку проб.

Выводы. Внедрение автоматизации преаналитического этапа в ежедневную практику уменьшает трудозатраты персонала, повышает эффективность и качество работы медицинской лаборатории.

Литература

1. *Гудер с соавт.* Диагностические пробы: от пациента до лаборатории / перевод с англ. 5-е издание. 2010. Преаналитические факторы как возможные источники лабораторных ошибок.
2. *Миронова И. И., Романова Л. А., Долгов В. В.* Общеклинические исследования: моча, кал, ликвор, мокрота, синовиальная жидкость. Лабдиаг, 2021.
3. Материалы научно-практических конференций в рамках IX Российского конгресса лабораторной медицины 4–6 октября 2023 года, Москва.



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ

**САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ АКАДЕМИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ Ж.И. АЛФЕРОВА**
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

Академический университет имени Ж.И. Алферова РАН - научно-исследовательский и образовательный центр мирового уровня с самым современным и высокотехнологичным оборудованием для совершения передовых научных открытий, в области физики и биоинформатики.

Подготовка высококвалифицированных специалистов, способных решать научные задачи фундаментального и прикладного характера, проходит под руководством команды действующих учёных с мировым именем – лидеров соответствующих научных направлений РФ.

Алферовский университет это:

- Интеграция научной деятельности, высшего и общего образования
- Индивидуальный подход к обучению и вовлечение в науку с ранних лет
- Тесное взаимодействие с ведущими исследовательскими центрами
- Один из лучших в России технопарков научного оборудования
- Возможность разрабатывать новые виды лазеров, фотоэлементов, лекарств, методов нанобиотехнологий
- Работа в ведущих лабораториях институтов РАН и вузах РФ и мира
- Получение нового научного знания в различных областях науки, предприятиях микро- и нанoeлектроники, биотехнологий, IT технологий

Лучший вуз в Северо-Западном регионе по данным агентства RAEX за 2023 год!

Цитата руководителя:

«Наши выпускники занимают ключевые позиции научных работников, руководителей образовательных структур лучших исследовательских институтов и университетов России. Миссия нашего университета – чтобы путь поиска не прерывался, и в науку постоянно приходили молодые люди. Тогда можно быть уверенным в успешности отечественной прикладной физики в будущем!» (А.Р. Наумов)



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ АНАЛИТИЧЕСКОГО ПРИБОРОСТРОЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

ИАП РАН - ведущая научно-исследовательская организация в области научного приборостроения, обладает уникальным опытом разработки новых методов и приборов по следующим основным направлениям:

- Методы и приборы диагностики поверхности, элементного и структурного анализа веществ и соединений.
- Методы и приборы нанотехнологии и нанодиагностики. Наноструктуры.
- Методы и приборы для исследований в науках о жизни и медицине. Микро- и наносистемная техника, нанобиотехнология.
- Информационные технологии, системы автоматизации, математическое моделирование в научном приборостроении.

Институт разрабатывает и производит наукоемкое аналитическое оборудование:

- Масс-спектрометры для изотопного, элементного и биоорганического анализа
- Приборы для ПЦР в реальном времени серии АНК
- Секвенаторы ДНК серии НАНОФОР®
- Комплекс для выделения нуклеиновых кислот
- Планетарные центрифуги
- Анализаторы сортовой принадлежности семян
- Кислородомеры, рН-метры
- Анаэроостаты

ИАП РАН готов сотрудничать с научными и производственными организациями как в области разработки новых приборов и комплексов, так и в области создания новых методик анализа.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗАТОР НАНОФОР® 05 УСТРОЙСТВО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДНК



- 8-капиллярный
- 7-цветный
- Комплектуется российскими реагентами

Генетический анализатор НАНОФОР®05 предназначен для автоматического определения последовательности ДНК и для проведения фрагментного анализа ДНК.

НАНОФОР®05 – это высокопроизводительный прибор, способный работать в автоматическом режиме 24 часа в сутки.

ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ

- Медицина
- Санитарно-эпидемиологический контроль
- Сельское хозяйство
- Криминалистика
- Биотехнология
- Фундаментальные исследования в области анализа нуклеиновых кислот

НАНОФОР® СПС

АППАРАТНО-ПРОГРАММНЫЙ КОМПЛЕКС МАССОВОГО ПАРАЛЛЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДНК

Аппаратно-программный комплекс предназначен для быстрой расшифровки полных последовательностей геномов патогенных микроорганизмов (бактерий и вирусов) методом массового параллельного секвенирования для их дальнейшей идентификации.

ПРИБОР НА СТАДИИ ОСВОЕНИЯ
СЕРИЙНОГО ПРОИЗВОДСТВА



АНАЛИЗАТОР НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ АНК – 32

НА ОСНОВЕ ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ



- **Быстрый**
(40 циклов ПЦР - менее чем за 1 час)
 - **Многоканальный**
(от 5 до 8 каналов детекции флуоресценции)
 - **Высокочувствительный**
(чувствительность каждого канала - 1×10^{-10})
 - **Многофункциональный**
(ПЦР, плавление, измерение флуоресценции)
- Возможность работы с фильтрами, позволяющими детектировать все основные красители: FAM, R6G, HEX, JOE, TAMRA, ROX, Cy5, Cy5.5, а также SYBR Green I, Eva Green I
 - Возможность использования до 8 пар светофильтров, возможность комбинаций фильтров возбуждения и эмиссии для детекции FRET
 - Высокая чувствительность по всем каналам детекции обеспечивает высокую точность получаемых результатов и позволяет работать с очень малым количеством зонда (от 0,2 пкмоль на реакцию)
 - Приборы не требуют калибровки
 - Возможность использования тест-систем и наборов реагентов различных производителей

КВНК

КОМПЛЕКС ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Комплекс КВНК предназначен для выделения нуклеиновых кислот из различных проб. Использование одноразовых картриджей позволяет ускорить, упростить и повысить безопасность работ с пробами опасных биологических объектов в стационарных и передвижных микробиологических и медицинских лабораториях при проведении генетических исследований.



Комплекс КВНК представляет собой комплекс средств (прибор и одноразовые картриджи, заправленные реагентами), обеспечивающий высокоэффективное выделение нуклеиновых кислот в автоматическом режиме под управлением программ, хранящихся в ПЗУ комплекса (до 10 программ). Обеспечена возможность создания новых алгоритмов выделения НК за счет корректировки программ ПЗУ.

ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ

- Аналитическая химия
- Биохимия
- Биотехнология
- Фармакология
- Медицина
- Экология

СЕНСОРНАЯ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СИСТЕМА ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДЛЯ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

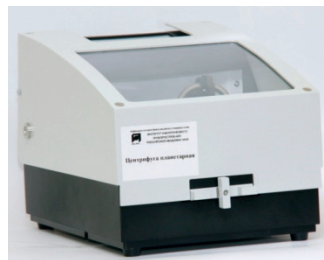


«Электронный язык» - сенсорная система искусственного интеллекта, позволяющая проводить качественное ранжирование жидких сред. В работе «электронного языка» используются электрохимические сенсоры, обладающие чувствительностью к основным значимым компонентам исследуемой среды. Методы машинного обучения применяются с целью визуализации и ранжирования, а также для выявления групп жидких сред, схожих по своим свойствам. Анализируя результаты экспериментальных исследований, можно говорить об эффективности применения «электронного языка» для медико-биологических исследований и качественного анализа состава пищевой продукции.

ПЛАНЕТАРНАЯ ЦЕНТРИФУГА

Планетарная центрифуга предназначена:

- для аналитического и препаративного разделения;
- для концентрирования и экстракции органических и неорганических веществ из жидких проб.



ОСОБЕННОСТИ

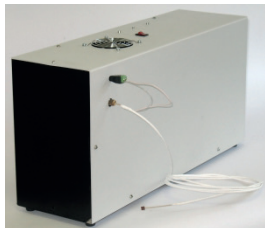
- Возможность выделения целевых компонентов непосредственно из неоднородных, сложных по составу матриц, минуя стадии предварительной очистки и разделения
- Разнообразие используемых двухфазных жидкостных систем
- Легкость перехода от одной распределительной системы к другой
- Высокий выход целевого продукта
- Возможность работы с гетерогенными образцами (взвеси, суспензии)
- Срок службы устройства до смены подводящих капилляров в 2-3 раза больше, чем у зарубежных аналогов.

ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ

- Аналитическая химия
- Биохимия
- Экология
- Фармакология
- Биотехнология

АРОМАСС-2

КВАДРУПОЛЬНЫЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТР ДЛЯ АНАЛИЗА СОСТАВА ГАЗОВЫХ СМЕСЕЙ



Квадрупольный масс-спектрометр «АРОМАСС-2» предназначен для анализа молекулярного состава газовых смесей при атмосферном давлении в режиме реального времени.

ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ

- Медицина
- Биология
- Экология
- Геология
- Санитарно-эпидемический мониторинг
- Промышленность
- Производство особочистых газов (контроль состава примесей)

ПРЕИМУЩЕСТВА

- Высокая чувствительность анализа по примесям - до 0,01 ppm (мг/м³).
- Возможность оперативной неинвазивной диагностики состояния здоровья пациентов.
- Одновременное измерение в режиме реального времени концентраций различных примесей в атмосфере и газовых смесях.
- Возможность использования в передвижных лабораториях для оперативного контроля.
- Прибор не требует расходных материалов.
- Прибор не имеет отечественных аналогов.
- Конструктивное исполнение масс-спектрометра, его малые габариты и вес позволяют использовать прибор в передвижных контрольно-аналитических лабораториях.

АНАЭРОСТАТ АЭ-01

Анаэростат АЭ-01 предназначен для культивирования в чашках Петри микроорганизмов группы облигатных анаэробов (бактероидов) и микроаэрофилов (кампилобактеров).

ОСНОВНЫЕ ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

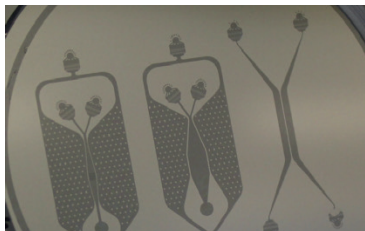
Рабочий объем, л	3
Максимальное количество стеклянных чашек Петри, одновременно помещаемых в АЭ-01, шт.	10
Максимальное количество пластмассовых чашек Петри, одновременно помещаемых в АЭ-01, шт.	15
Габаритные размеры:	
высота; диаметр не более, мм	320; 190
Масса не более, кг	1.5



ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ

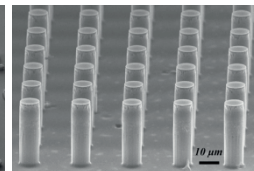
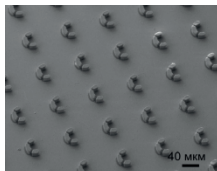
Культивирование микроорганизмов в анаэробных и микроаэрофильных условиях в лабораториях центров гигиены и эпидемиологии, лабораториях лечебно-профилактических учреждений и научно-исследовательских институтов.

КРЕМНИЕВЫЕ МАСТЕР-ФОРМЫ для изготовления микрофлюидных чипов из PDMS



ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Размеры чипов до 50x75 мм
- Глубина микроканалов 1-200 мкм
- Ширина каналов от 2 мкм
- Многослойный дизайн каналов
- Интеграция пневматических клапанов, микроэлектродов, микролазеров и др.



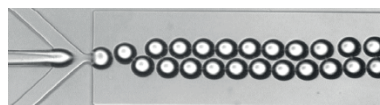
МИКРОФЛЮИДНЫЙ КОНТРОЛЛЕР ДАВЛЕНИЙ для ввода жидкостей в микрофлюидные устройства

- 4 канала давления: 0-100 кПа или 0-500 кПа
- Вакуум до -90 кПа
- Электромагнитные реле для подключения внешних устройств
- Цифровые протоколы I2C и UART
- Аналоговые входы
- Цифровые входы/выходы



ОСНОВНЫЕ ПРИМЕНЕНИЯ

- Капельная микрофлюидика
- Синтез липосом и наночастиц
- Цифровая капельная ПЦР



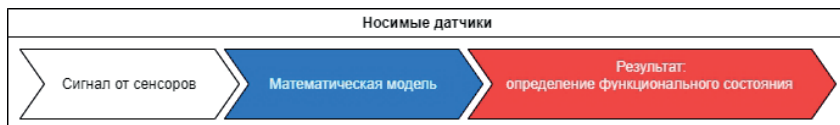
НОСИМЫЕ ДАТЧИКИ

КОНТРОЛЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ



Принципиально новая технология оценки физиологического состояния по детектированию сигналов с видеоизображения и сигналов носимых оптических и других датчиков.

- Высокая скорость оценки функционального состояния
- Не требуется медицинский специалист для расшифровки
- Вес датчиков - 30 г
- Толщина датчиков - менее 4 мм



ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ФУНКЦИИ

- Обратная связь при тренировках и обучении
- Подача сигнала о необходимости оказания помощи
- Прогноз состояния, очередности оказания медицинской помощи
- Помощь врачам и иным медицинским специалистам в работе с задачами, связанными с принятием клинических решений (в качестве медицинской информационной системы)



ДЛЯ ЗАМЕТОК

Научное издание

**Тезисы докладов
Второй ежегодной всероссийской молодежной
конференции по методам и приборам для анализа
биологических объектов «АналитБиоПрибор-2023»**

Подготовка оригинал-макета *М. А. Ивановой*
Корректор *А. В. Горелкина*

Подписано в печать 20.11.2023. Формат 60×84/16. Печать цифровая.
Усл. печ. л. 11,51. Тираж 80. Заказ 187.

Выпущено Издательско-полиграфической ассоциацией
высших учебных заведений
194021, Санкт-Петербург, Политехническая ул., д. 28, лит. А,
пом. 3-Н, ком. 184.
Тел.: (812) 987-75-26
mediapapir@gmail.com www.mediabooks.ru www.vuzizdat.ru