

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

# АналитБиоПрибор-2024

14-15 ноября, г. Санкт-Петербург

## Сборник тезисов докладов



Третья ежегодная всероссийская молодежная конференция  
по методам и приборам для анализа биологических объектов  
«АналитБиоПрибор-2024»

**Тезисы докладов**  
**Третьей ежегодной всероссийской молодежной**  
**конференции по методам и приборам**  
**для анализа биологических объектов**  
**«АналитБиоПрибор-2024»**

Санкт-Петербург  
Издательско-полиграфическая ассоциация  
высших учебных заведений  
2024

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 Третьей ежегодной всероссийской молодежной конференции по методам и приборам для анализа биологических объектов «АналитБиоПрибор-2024».** — СПб.: Издательско-полиграфическая ассоциация высших учебных заведений, 2024. — 224 с.

14–15 ноября 2024 г. в Санкт-Петербургском национальном исследовательском Академическом университете имени Ж. И. Алферова РАН проходила 3-я ежегодная всероссийская молодежная конференция по методам и приборам для анализа биологических объектов «АналитБиоПрибор-2024». На конференции были представлены новейшие результаты и достижения молодых ученых, которые сопровождались докладами ведущих специалистов в области аналитического приборостроения. На круглом столе прошла дискуссия возможностей и перспектив развития российского научного приборостроения для решения актуальных биологических и медицинских задач. В сборнике представлены тезисы 75 докладов участников конференции.



ИАП РАН



СПБАУ РАН



СИНТОЛ



*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 гг. (Соглашение № 075-15-2021-1057).*

- © Коллектив авторов, 2024
- © Издательско-полиграфическая ассоциация высших учебных заведений, 2024

ISBN 978-5-91155-333-3

DOI 10.52565/9785911553333

**Организаторы конференции**

Институт аналитического приборостроения  
Российской академии наук  
Санкт-Петербургский национальный исследовательский  
Академический университет им. Ж. И. Алферова  
Российской академии наук  
Российское химическое общество им. Д. И. Менделеева

**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  
Е. П. Подольская — д.т.н., ведущий научный сотрудник 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. Ю. Зайцева — к.ф.-м.н., заведующая лабораторией ИАП РАН  
И. С. Мухин — д.ф.-м.н., профессор, проректор по науке СПбАУ РАН им. Ж. И. Алферова

**Организационный комитет**

А. С. Букатин — *председатель*  
В. В. Романова — *секретарь*  
А. В. Кретинина  
И. С. Мухин  
А. С. Гладчук

## ПРОГРАММА КОНФЕРЕНЦИИ

**14 НОЯБРЯ**

9:30–10:00

**Регистрация участников**

10:00–10:10

**Торжественное открытие конференции**

10:10–10:30

**Пленарный доклад**

**Молекулярно-диагностические платформы на основе методов  
нанопотоники и электрохимии**

Курочкин Илья Николаевич

*д.х.н., профессор, директор Института биохимической физики  
им. Н. М. Эмануэля РАН*

10:30–11:30

**Секция № 1**

**Биосенсорные системы и устройства**

*Модератор — директор ИБХФ РАН, д.ф.-м.н.,  
проф. И. Н. Курочкин*

10:30–10:45

**Технологии одномолекулярного оптического  
детектирования для ранней диагностики  
сердечно-сосудистых и вирусных заболеваний человека**

Мелентьев Павел Николаевич

*д.ф.-м.н., заведующий лабораторией оптических методов  
секвенирования молекул ДНК Института спектроскопии РАН*

10:45–11:00

**Интегральная биофотоника от видимого до среднего  
ИК-диапазона**

Родионов Илья Анатольевич

*к.т.н., директор НОЦ Функциональные микро/  
наносистемы МГТУ им. Н. Э. Баумана и ФГУП  
«ВНИИА» ГК «Росатом»*

- 11:00–11:15 **Иммуномагнитная изоляция внеклеточных везикул и анализ мембранных маркеров везикул методом флуоресцентной проточной цитометрии**  
Ященко Алексей Михайлович  
*д.ф.-м.н., доцент Сколковского института науки и технологий*
- 11:15–11:30 **Картриджный микрофлюидный биоаналитический комплекс для проведения иммуноферментного анализа на микрочастицах**  
Пруссаков Кирилл Александрович  
*научный сотрудник ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю. М. Лопухина ФМБА России*

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 **Разработки института биологического приборостроения РАН**  
Авхачева Надежда Владимировна  
*к.б.н., и. о. директора Института биологического приборостроения РАН — обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН*
- 12:15–12:30 **Приборы для микрохирургических исследований клеток и субклеточных структур**  
Левченко Александр Геннадьевич  
*начальник отдела Института биологического приборостроения РАН*

- 12:30–12:45     **Система автоматического синтеза олигонуклеотидов**  
Гадиров Руслан Магомедтахирович  
*к.х.н., заведующий лабораторией*  
*Томского государственного университета систем*  
*управления и радиоэлектроники*
- 12:45–13:00     **Микрофлюидные технологии и приборы компании**  
**«ФЛИКСБИО»**  
Филатов Никита Алексеевич  
*к.т.н., генеральный директор ООО «ФЛИКСБИО»,*  
*младший научный сотрудник СПбАУ РАН*  
*им. Ж. И. Алферова*
- 13:00–13:15     **Автоматизированные системы конечного пользователя**  
**для изготовления и считывания микрокапельных матриц**  
Андреев Дмитрий Станиславович  
*PhD, старший научный сотрудник НИИ группа*  
*им. А. А. Смородинцева*
- 13:15–13:30     **Развитие технологий гибридной интеграции**  
**для органов на чипе**  
Рыжков Виталий Витальевич  
*руководитель направления «Бионанотехнологии*  
*и микрофлюидика» НОЦ «Функциональные микро/*  
*наносистемы» МГТУ им. Н. Э. Баумана и ФГУП*  
*«ВНИИА» ГК «Росатом»*

13:30–14:30

**Обед**

14:30–16:00

**Секция № 3**

**От разработки к серийному производству**

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

14:30–14:45 **Практика передачи опытных образцов научных приборов в серийное производство**

Веретенников Александр Владимирович  
*к.ф.-м.н., заместитель генерального директора по научно-технической работе и проектам АО «ЭЗАН»*

14:45–15:00 **Подход к планированию размерных цепей сборки**

Пономарев Сергей Вячеславович  
*инженер ООО «Айвок»*

15:00–15:15 **Технические испытания медицинских изделий**

Куксин Дмитрий Николаевич  
*операционный директор ООО «Тест МИ»*

15:15–15:30 **Старт серийного производства point-of-care системы «Veepu»: проблемы и решения**

Пауль Станислав Юрьевич  
*ведущий инженер-исследователь ООО «Троицкий инженерный центр»*

15:30–15:45 **Разработка экспресс-тестов и перспективы рынка point-of-care устройств**

Мучкинова Екатерина Аркадьевна  
*ученый-исследователь ООО «Рapid Био»*

15:45–16:00 **Метрологическое обеспечение измерений содержания фталатов в полимерных материалах**

Будко Александр Германович  
*научный сотрудник ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева»*

16:00–18:00

**Кофе-брейк и Постерная сессия**



## 15 НОЯБРЯ

9:30–10:00

### Регистрация участников

10:00–10:30

### Пленарный доклад

#### Масс-спектрометрия в определении пространственной структуры белков

Егоров Владимир Валерьевич

*д.б.н., старший научный сотрудник  
лаборатории системной вирусологии*

*НИИ гриппа им. А. А. Смородиной Минздрава России*

10:30–11:30

### Секция № 4

#### Масс-спектрометрия для анализа биологических проб

*Модератор — д.т.н., ведущий научный сотрудник ИАП РАН  
Е. П. Подольская*

- 10:30–10:50    **МАЛДИ масс-спектрометрия и формат «лаборатория на мишени»**  
*Подольская Екатерина Петровна  
д.т.н., ведущий научный сотрудник ИАП РАН*
- 10:50–11:00    **Использование технологии Ленгмюра для анализа полипреолов методом МАЛДИ масс-спектрометрии**  
*Гладчук Алексей Сергеевич  
к.т.н., старший научный сотрудник ФГУП «НИИ ГПЭЧ»  
ФМБА России*
- 11:00–11:10    **Метаболомное профилирование в изучении сепсис-ассоциированной энцефалопатии**  
*Кессених Елизавета Дмитриевна  
научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»  
Минздрава России*

11:10–11:20 **Масс-спектрометрические измерения состава фумарольных газов на конусах толбачинского дола (Камчатка)**  
Титов Юрий Алексеевич  
*научный сотрудник ИАП РАН*

11:20–11:30 **Дискуссия**

11:30–12:00

**Кофе-брейк**

12:00–13:30

**Секция № 5**

**Современные методы обнаружения и исследования биологических объектов**

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

12:00–12:15 **Новые разработки «ДНК-Технология»**  
Климочкин Кузьма Олегович  
*начальник отдела разработки «ДНК-Технология»*

12:15–12:30 **Разработка отечественного нанопорового секвенатора «Нанопорус» и реагентики к нему**  
Ермаков Артем Михайлович  
*к.б.н., заведующий лабораторией Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН, ООО «Нанопорус»*

12:30–12:45 **Импедансные цитосенсоры на основе адаптивной фильтрации – простейшей технологии искусственного интеллекта**  
Ступин Даниил Дмитриевич  
*к.ф.-м.н., заведующий лабораторией биоэлектроники СПбАУ РАН им. Ж. И. Алферова*

12:45–13:00 **Использование микрочиповой ПЦР для выявления молекулярных маркеров, применимых для оценки степени тяжести цервикальных дисплазий**  
Локтева Полина Алексеевна  
*лаборант-исследователь ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова»*

- 13:00–13:10     **Поиск соматических мутаций гена Р1К3СА методом ddPCR**  
Голодушкин Алексей Алексеевич  
*Медицинский лабораторный техник МКНЦ им. А. С. Логинова*
- 13:10–13:20     **Изучение динамики изотермической амплификации колоний ДНК в приборах массового параллельного секвенирования**  
Малахова Мария Алексеевна  
*младший научный сотрудник ООО «НПФ Синтол»*
- 13:20–13:30     **Регистрация одиночных молекул ДНК с помощью твердотельного нанопорового SiN биосенсора**  
Ваулин Никита Васильевич  
*младший научный сотрудник СПБАУ РАН им. Ж. И. Алферова*

13:30–14:30

**Обед**

14:30–15:30

**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     **Лантаноиды как основа металл-аффинных сорбентов в формате «лаборатория на мишени»**  
Калния Яна Константиновна  
*научный сотрудник ФГБУ НКЦТ им. С. Н. Голикова ФМБА России*
- 14:40–14:50     **Аналитическая система для экспресс-оценки возможности образования метаболитов ксенобиотиков в рамках концепции «лаборатория на мишени»**  
Афанасьева Анна Андреевна  
*младший научный сотрудник ФГБУ НКЦТ им. С. Н. Голикова ФМБА России*

- 14:50–15:00    **Применение установки микродисперсного электрораспыления для моделирования метаболизма диклофенака**  
Ильюшонок Семен Кириллович  
*аспирант ИАП РАН*
- 15:00–15:10    **Использование теплотенциостата при исследовании формирования условного рефлекса**  
Пестерева Нина Сергеевна  
*к.б.н., ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»*
- 15:10–15:20    **Разработка субреагерцовых гиротронов для медицинских и биологических приложений**  
Тарадаев Сергей Петрович  
*Инженер Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого*
- 15:20–15:30    **Исследование аппроксимирующего полинома для электрокардиосигналов сверхвысокого разрешения**  
Денисова Елена Артемовна  
*младший научный сотрудник ИАП РАН*

15:30–16:00

**Пленарный доклад**

**Импортозамещение в научном приборостроении для молекулярно-генетических исследований. Каковы приоритеты?**

Имянитов Евгений Наумович

*д.м.н., профессор, член-корр. РАН, заведующий научным отделом биологии опухолевого роста, врач-генетик НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова*

16:00–16:30

**Кофе-брейк**

16:30–17:30

**Круглый стол**

**Развитие российского научного приборостроения для биомедицинских исследований**

*Модераторы — заместитель директора по научной работе ИАП РАН*

*А.С. Букатин и директор по науке ООО «Синтол» Я. И. Алексеев*

16:30–16:40

**Тенденции развития технологий**

**высокопроизводительного секвенирования, выявленные на основе анализа патентных документов**

Белов Дмитрий Анатольевич

*к.т.н., научный сотрудник ИАП РАН*

16:40–17:30

**Дискуссия**

17:30–18:00

**Торжественное закрытие конференции**

**Награждение молодых ученых за лучшие устные и стендовые доклады**

### Стендовые доклады

1. Изучение аналитической чувствительности детекторов лазер-индуцированной флуоресценции капиллярных генетических анализаторов  
**Козлова Полина Алексеевна**  
*Инженер ООО «НПФ Синтол»*
2. Лазерная технология очистки кварцевых капилляров от защитной оболочки  
**Владимиров Федор Львович**  
*к.ф.-м.н, ведущий инженер ИАП РАН*
3. Способ контроля качества тотальной РНК методом капиллярного неденатурирующего гель-электрофореза на приборе «Нанофор 05»  
**Ващенко Кристина Дмитриевна**  
*Техник ИАП РАН*
4. Разработка алгоритма анализа размеров фрагментов геномной библиотеки и тотальной РНК в капиллярном неденатурирующем гель-электрофорезе  
**Адельшина Элина Валерьевна**  
*Инженер ИАП РАН*
5. Метод линейной регрессии для коррекции флуоресцентных сигналов, искаженных перекрытием спектральных полос, в секвенаторе «Нанофор СПС»  
**Логинов Александр Ярославович**  
*инженер ИАП РАН*

6. Алгоритмы машинного обучения в задаче сегментации изображений для определения молекулярных кластеров в секвенаторе «Нанофор СПС»  
**Сараев Алексей Сергеевич**  
*инженер 1 категории ИАП РАН*
7. Модель формирования флуоресцентного сигнала интеркалирующего красителя sYBR Green I в ходе полимеразной цепной реакции  
**Ибрагимов Данииль Рустамович**  
*инженер ИАП РАН*
8. Исследование случайных погрешностей сигналов флуоресценции для моделирования кривых плавления  
**Морозов Роман Ростиславович**  
*студент ГУАП*
9. Выбор оптимальных условий регистрации флуоресцентных сигналов и формирования кривых плавления на амплификаторе АНК-48  
**Круглов Владислав Александрович**  
*инженер 2 категории ИАП РАН*
10. Современные способы сбора генетического материала с поверхности  
**Петров Дмитрий Григорьевич**  
*к.т.н., заведующий сектором ИАП РАН*
11. Устройство управления элементом Пельтье для задач формирования температурных режимов при проведении мультиплексной ПЦР в микрофлюидном чипе  
**Мацута Илья Максимович**  
*инженер ИАП РАН*

12. Моделирование распределения молекул ДНК при проведении цкПЦР для повышения точности измерений  
**Степанова Анастасия Павловна**  
*техник ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева»*
  
13. Применение автоматического анализа изображений для оптимизации процесса измерений концентрации копий ДНК методом цифровой капельной ПЦР  
**Горняя София Борисовна**  
*инженер ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева»*
  
14. Эффективное возбуждение и регистрация единичных флуоресцентных молекул в массиве ZMW  
**Сафонова Арина Михайловна**  
*лаборант ИСАН, магистрант НИУ ВШЭ*
  
15. Применение твердотельных нанопор для исследования транспорта биологических молекул  
**Лебедев Денис Владимирович**  
*к.ф.-м.н., старший научный сотрудник СПбАУ РАН  
им. Ж. И. Алферова*
  
16. Инерциальные пьезоприводы в системах позиционирования и сканирования биоаналитического оборудования  
**Пичахчи Степан Витальевич**  
*младший научный сотрудник ИАП РАН*
  
17. Влияние геометрии апертуры СКМ-зонда на ионную проводимость: эксперимент и модель  
**Лукашенко Станислав Юрьевич**  
*младший научный сотрудник ИАП РАН*



18. Методика характеристики нанокапиллярного зонда: измерение апертуры и механической стабильности  
**Жуков Михаил Валерьевич**  
*к.т.н., младший научный сотрудник ИАП РАН*
  
19. Оптическая мультисенсорная система  
**Глебов Степан Николаевич**  
*аспирант СПбАУ РАН им. Ж. И. Алферова*
  
20. Перспективы использования электрохимической детекции в диагностических устройствах формата point-of-care  
**Агишева Александра Романовна**  
*старший лаборант-исследователь ООО «Рapid Био»*
  
21. Хемилюминесцентный сенсор на основе g-квадруплекса для обнаружения нуклеиновых кислот бактерий на предприятиях пищевой промышленности  
**Горбенко Дарья Александровна**  
*младший научный сотрудник Университета ИТМО*
  
22. Разработка и исследование прототипа электронного сенсорного цифрового дегустатора мясной продукции с применением методов машинного обучения  
**Романова Вероника Вячеславовна**  
*младший научный сотрудник ИАП РАН*
  
23. Классификация сортов яблок по электрохимическим показателям с использованием методов статистического анализа многомерных данных  
**Митенков Андрей Эдуардович**  
*студент Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого*

24. Метод оценки функционального состояния человека на основе технологий машинного обучения с использованием данных АПК оптического мониторинга  
**Маркушина Любовь Алексеевна**  
*студент СПБАУ РАН им. Ж. И. Алферова*
  
25. Разработка аппаратно-программного комплекса для оценки функционального состояния микрососудов  
**Заневская Мария Юрьевна**  
*техник ИАП РАН, студент Государственного университета аэрокосмического приборостроения*
  
26. Сравнение алгоритмов масштабирования кардиоциклов для задач синхронного анализа  
**Шевяков Даниил Олегович**  
*младший научный сотрудник ИАП РАН*
  
27. Применение принципа бритвы Оккама для стабилизации обработки импедансных спектров  
**Бойцова Наталья Андреевна**  
*аспирант СПБАУ РАН им. Ж. И. Алферова*
  
28. Исследование архитектур микрофлюидных миксеров для определения оптимальных параметров перемешивания ламинарных потоков  
**Наумов Евгений Игоревич**  
*аспирант СПБАУ РАН им. Ж. И. Алферова*
  
29. Устройство на основе спирального чипа для выявления циркулирующих опухолевых клеток в плазме крови пациентов  
**Колпаков Владимир Николаевич**  
*младший научный сотрудник ННГУ им. Н. И. Лобачевского*

30. Разработка микрофлюидного устройства «орган-на-чипе» с возможностью интеграции в него трехмерных клеточных структур  
**Алтынбаев Линар Алмазович**  
*аспирант СПБАУ РАН им. Ж. И. Алферова*
  
31. Разработка и модификация биочернил для тканевой инженерии  
**Тюшкевич Андрей Андреевич**  
*аспирант СПБАУ РАН им. Ж. И. Алферова*
  
32. Исследование смачиваемости поверхности полидиметилсилоксана, обработанной разными способами, для микрофлюидных устройств формирования двойной эмульсии  
**Белоусова Дарья Алексеевна**  
*студент СПБАУ РАН им. Ж. И. Алферова*
  
33. Изучение влияния процентного соотношения сред Прата и Тамия на рост водоросли *Chlorella vulgaris*  
**Житкова Анна Андреевна**  
*студент МГУТУ им. К. Г. Разумовского (ПКУ)*
  
34. Оценка острой токсичности нанопластика на стандартный тест-объект *Daphnia magna*  
**Пачулия Валерий Бадриевич**  
*студент МГУТУ им. К. Г. Разумовского (ПКУ)*
  
35. Оценка влияния хлорида железа (III) на водоросль *Chlorella vulgaris*  
**Простомолотова Елизавета Александровна**  
*студент МГУТУ им. К. Г. Разумовского (ПКУ)*

36. Возможности электростатической фокусировки при высоком давлении  
**Ткач Егор Андреевич**  
*младший научный сотрудник ИАП РАН*
37. Использование масс-спектрометрии для анализа и классификации спиртных напитков по органолептическим характеристикам  
**Лямина Юлия Владимировна**  
*младший научный сотрудник ИАП РАН*
38. Микродисперсный режим электрораспыления в отрицательной моде как способ нанесения образца на ЛДИ-мишень  
**Столоногова Светлана Игоревна**  
*магистр Университета ИТМО*
39. Прототип микрокапельного химического реактора на основе мультикапиллярного электрораспыления  
**Кулешов Денис Олегович**  
*младший научный сотрудник ИАП РАН*
40. Стеарат кобальта как металл-аффинный сорбент для проведения пробоподготовки образца в методе масс-спектрометрии с лазерной десорбцией  
**Кельциева Ольга Александровна**  
*научный сотрудник ФГБУ им. акад. С. Н. Голикова ФМБА России*

## **МОЛЕКУЛЯРНО-ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ПЛАТФОРМЫ НА ОСНОВЕ МЕТОДОВ НАНОФОТОНИКИ И ЭЛЕКТРОХИМИИ**

**И. Н. Курочкин**  
inkurochkin@gmail.com

*Институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля РАН, 119334, Москва,  
ул. Косыгина, 4*

В докладе рассмотрены достижения нанофотоники, электрохимии и технологий получения сенсорных наноматериалов и диагностических картриджей для целей сверхчувствительной детекции ряда метаболитов, маркеров патологических состояний, вирусных и бактериальных частиц, скрининга и оценки воздействия лекарственных препаратов.

Показаны возможности использования этих достижений для создания:

— средств, ориентированных на быстрое и высокочувствительное определение биологических маркеров различных состояний человека, маркеров ранних стадий заболеваний, нарушения метаболических процессов и на профилактику заболеваний, в том числе нарушений углеводного обмена, рака, определения концентраций важных веществ и метаболитов в режиме реального времени,

— средств, ориентированных на комплексное определение загрязняющих веществ, токсинов и микробиологических объектов в окружающей среде, пищевых продуктах и сырье.

### **Благодарности**

Работа выполнена в рамках бюджетного финансирования по темам 122041400080-0, 124061300002-9 и при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 22-14-00213).

**ТЕХНОЛОГИИ ОДНОМОЛЕКУЛЯРНОГО ОПТИЧЕСКОГО  
ДЕТЕКТИРОВАНИЯ ДЛЯ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ  
СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ И ВИРУСНЫХ  
ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА**

**П. Н. Мелентьев<sup>1\*</sup>, А. С. Калмыков<sup>1</sup>, А. С. Гритченко<sup>1</sup>, В. И. Балыкин<sup>1</sup>,  
Д. С. Кудрявцев<sup>2</sup>, В. А. Можяева<sup>2</sup>, Л. В. Сон<sup>2</sup>, В. И. Цетлин<sup>2</sup>,  
Я. И. Алексеев<sup>3</sup>, А. С. Букатин<sup>3</sup>, А. А. Евстрапов<sup>3</sup>**  
\* melentiev@isan.trotisk.ru

*<sup>1</sup>Институт спектроскопии РАН, 108840, Москва, Троицк, ул. Физическая, 5*

*<sup>2</sup>Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина  
и Ю. А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10*

*<sup>3</sup>Институт аналитического приборостроения РАН, 198095,  
Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А*

В настоящем докладе представлен краткий обзор достигнутого уровня оптических методов детектирования единичных молекул в биомедицинских приложениях. Будет показано, что регистрация флуоресценции единичных молекул красителей, ковалентно связанных с антителами (биомолекулами), совместно с использованием современных методов нанофотоники может быть применена для решения различных задач в биологии и медицине: (1) визуализации биомолекул, токсинов, вирусных частиц [1, 2], (2) определения ультранизких концентраций аналитов напрямую во взятой пробе, без использования методов повышения концентрации аналита [3], (3) оптического одномолекулярного секвенирования молекул ДНК [4]. Будет приведено обсуждение существующих физических ограничений методов оптического детектирования и счета единичных молекул, их влияния на решение существующих проблем биологии и медицины.

**Благодарности**

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-42-00049).

### Литература

1. *Melentiev P. N., Son L. V., Kudryavtsev D. S., Kasheverov I. E., Tsetlin V. I., Esenaliev R. O., Balykin V. I.* Ultrafast, Ultrasensitive Detection and Imaging of Single Cardiac Troponin-T Molecules // *ACS Sensors*. 2020. Vol. 5, № 11. P. 3576–3583.

2. *Kudryavtsev D. S., Mozhaeva V. A., Ivanov I. A., Siniavin A. E., Kalmykov A. S., Gritchenko A. S., Khlebtsov B. N., Wang S.-P., Bin Kang, Tsetlin V. I., Balykin V. I., Melentiev P. N.* Optical detection of infectious SARS-CoV-2 virions by counting spikes // *Nanoscale*. 2024. Vol. 16. P. 12424–12430.

3. *Cai S. et al.* Single-molecule amplification-free multiplexed detection of circulating microRNA cancer biomarkers from serum // *Nature communications*. 2021. Vol. 12 (1). P. 3515.

4. *Melentiev P. N. et al.* Optical methods for the detection of single biomolecules: visualization, detection and sequencing of DNA molecules // *Physics-Uspekhi*. 2024. Vol. 67.

## ИММУНОМАГНИТНАЯ ИЗОЛЯЦИЯ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ И АНАЛИЗ МЕМБРАННЫХ МАРКЕРОВ ВЕЗИКУЛ МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ

Д. Д. Кожевникова<sup>1</sup>, Е. О. Моисеева<sup>1</sup>, В. С. Чернышев<sup>2</sup>, А. М. Яшенюк<sup>1,\*</sup>

\* A.Yashchenok@skoltech.ru

<sup>1</sup>Сколковский институт науки и технологий, 121205, Москва,  
Территория инновационного центра «Сколково», Большой бульвар, 30/1

<sup>2</sup>НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика  
В. И. Кулакова, 117997, Москва, ул. Академика Опарина, 4

Выделение и профилирование отдельных субпопуляций внеклеточных везикул (экзосом), секретируемых патологическими клетка-

ми, имеют важное значение для развития области диагностики заболеваний на ранних стадиях (жидкостная биопсия) и понимания механизма образования и секреции экзосом. Для изучения фундаментальных вопросов и практического применения необходимо получение образцов, свободных от примесей, с биологически активными внеклеточными везикулами. Традиционные методы выделения экзосом из биологических образцов, к которым следует отнести ультрацентрифугирование, ультрафильтрацию, гель-фильтрацию, осаждение полимерами и др., являются трудоемкими, дорогостоящими и зачастую не обеспечивают надлежащей чистоты и биологической активности образцов. В этой связи системы, основанные на иммуномагнитной сепарации отдельных частиц, вызывают повышенный интерес для получения субпопуляций внеклеточных везикул с минимальным содержанием примесей в образце [1]. Кроме того, магнитное разделение позволяет без дополнительной пробоподготовки проводить иммунохимический анализ белковых мембранных маркеров экзосом, выявляя в том числе целевые онкомаркеры [2]. В наших исследованиях мы применяем два вида магнитных частиц: 1) магнитные частицы, поверхность которых функционализована молекулами дубильной кислоты, которая способна встраиваться в липидный бислой внеклеточных везикул и тем самым связывать везикулы из культуральной среды [3]; 2) магнитные наночастицы, покрытые стрептавидином для иммобилизации биотин-модифицированного аптамера (антитела), что позволяет селективно выделять опухолевые везикулы из культуральной среды и проводить детектирование патологических везикул, используя метод проточной флуоресцентной цитометрии [2].

### Благодарности

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-74-00022, <https://rscf.ru/project/23-74-00022/>.

### Литература

1. *Kozhevnikova D., Chernyshev V., Yashchenok A.* Progress in Isolation and Molecular Profiling of Small Extracellular Vesicles via Bead-Assisted



Platforms Biosensors // Special Issue Feature Issue of Biosensors and Healthcare Section. 2023. Vol. 13 (7). P. 688.

2. *Yashchenok A. M., Chernyshev V. S., Konovalova E. V., Kholodenko R., Tsydenzhapova E., Shipunova V. O., Schulga A. A., Deyev S. M., Gorin D. A.* AntiCD63 Oligonucleotide Functionalized Magnetic Beads for the Rapid Isolation of Small Extracellular Vesicles and Detection of EpCAM and HER2 Membrane Receptors using DARPIn Probes // *Analysis&Sensing*. 2023. P. e202200059.

3. *Grishaev N. A., Moiseeva E. O., Chernyshev V. S., Komlev A. S., Novoselov A. M., Yashchenok A. M.* Studying the small extracellular vesicle capture efficiency of magnetic beads coated with tannic acid // *J. Mater. Chem. B*. 2024. Vol. 12. P. 6678–6689.

## **КАРТРИДЖНЫЙ МИКРОФЛЮИДНЫЙ БИОАНАЛИТИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА НА МИКРОЧАСТИЦАХ**

**К. А. Прусаков<sup>1,\*</sup>, К. Г. Алдаров<sup>1</sup>, А. К. Воробьева<sup>2</sup>, Т. С. Константинова<sup>2</sup>,  
О. Н. Сорокина<sup>2</sup>, А. В. Еременко<sup>2</sup>, Д. В. Басманов<sup>1</sup>**  
\* kaprusakov@gmail.com

<sup>1</sup>*ФНКЦ физико-химической медицины им. Ю. М. Лопухина ФМБА, 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, 1а*

<sup>2</sup>*Институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4*

В настоящей работе представлен оригинальный картриджный биоаналитический комплекс для автоматического проведения иммуноферментного анализа (ИФА) на микрочастицах с электрохимическим детектированием. Комплекс состоит из набора реагентов, набора одноразовых микрофлюидных картриджей и стенда для их процессирования. При разработке комплекса была применена

совокупность оригинальных аналитических и технологических подходов:

- использование микрочастиц в качестве гетерогенной фазы при сборке иммунологического молекулярного сэндвича позволяет преодолевать диффузионные и количественные ограничения, характерные для гетерогенных процессов, протекающих на плоских поверхностях;
- реакционная камера с фильтрующим дном обеспечивает равномерную промывку сформировавшегося иммунологического молекулярного сэндвича;
- топология микрофлюидных каналов исключает «мертвые» объемы, в которых могут скапливаться несвязавшиеся компоненты;
- неспецифические взаимодействия в картридже минимизированы благодаря предварительной пассивации фильтрующей мембраны и реакционной камеры блокирующим раствором.

Апробация данного картриджного биоаналитического комплекса проводилась на примере определения N-терминального фрагмента мозгового натрийуретического пропептида (NT-proBNP) в сыворотке крови здоровых людей и пациентов с диагнозом острая сердечная недостаточность.

*Конструкция картриджа и системы управления клапанами и потоками*

Микрофлюидный картридж представляет собой многослойную конструкцию из полиметилметакрилата и акрилового адгезива (рис. 1, *a*), в которой резервуары с реагентами (рис. 1, *a*, элемент 1) соединяются между собой тонкими капиллярами для перекачивания жидкостей и их смешивания.

Система поворотных клапанов картриджа (рис. 1, *a*, элемент 2) используется для переключения между резервуарами и режимами прокачки. Создание потоков в картридже осуществляется с помощью прецизионного контроллера давления OB1 MK3+ (Elveflow, Франция) путем создания разрежения. В качестве резервуара для проведения реакций анализа используется специальная реакционная камера с фильтрующим дном (рис. 1, *a*, элемент 3) из гидрофильной мембраны с размерами пор 0,45 мкм.

*Процедура проведения анализа в картридже*

Детектирование NT-proBNP в сыворотке крови человека в одно-разовом микрофлюидном картридже с автоматизированной системой управления осуществляется путем проведения в нем всех стадий иммуноферментного анализа на микрочастицах. Для этого в лунку для образца (рис. 1, а, элемент 4) вносят 0,5 мкл микрочастиц, модифицированных антителами (АТ), 10 мкл образца сыворотки крови человека и 75 мкл раствора АТ, конъюгированных с ферментной меткой. Промывочные буферы и ферментативный субстрат загружают в картридж перед началом анализа. Далее запускается программа для проведения иммунологического анализа в закрытом флюидном картридже.

Биообразец с микрочастицами и конъюгатом антител с ферментной меткой перекачивается в реакционную камеру с фильтрующим дном (рис. 1, а, элемент 3) и инкубируется в ней в течение 10 минут для формирования сандвич-комплекса антител и антигена на по-

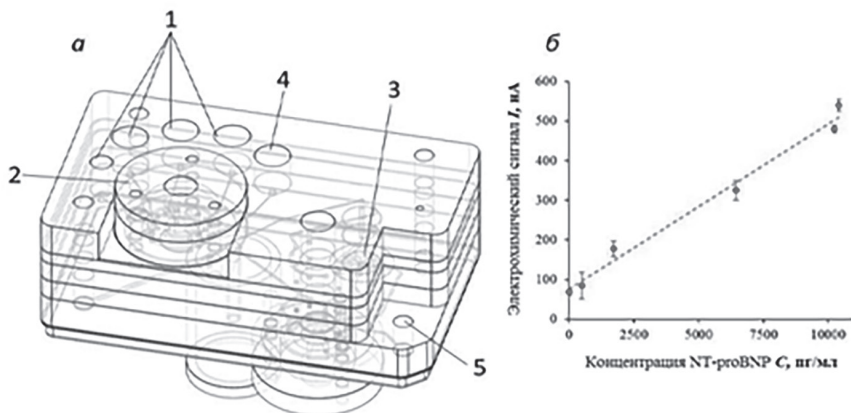


Рис. 1. а — схема микрофлюидного картриджа для проведения иммуноферментного анализа на микрочастицах с электрохимическим детектированием сигнала; б — зависимость интенсивности электрохимического сигнала от концентрации NT-proBNP в образцах сыворотки крови человека

верхности микрочастиц. Избыток конъюгата отводится в резервуар для отходов, а задержанные мембраной микрочастицы промываются буферными растворами. На следующей стадии к частицам поступает 100 мкл ферментативного субстрата, и в ходе 10-минутной инкубации при комнатной температуре накапливается электрохимически активный продукт. Затем полученный раствор перекачивается в камеру для отбора продукта, после чего проводится измерение электрохимического сигнала (рис. 1, а, элемент 5).

#### *Результаты и обсуждение*

На рис. 1, б, представлена зависимость интенсивности электрохимического сигнала от концентрации NT-proBNP в образцах сыворотки крови, полученная по данным измерений, проведенных в одноразовых микрофлюидных картриджах с помощью разработанного биоаналитического комплекса. Статистическая обработка результатов проводилась по шести независимым измерениям для каждой экспериментальной точки. Результаты анализа по детектированию NT-proBNP в сыворотке крови человека демонстрируют линейную зависимость интенсивности измеряемого сигнала в диапазоне концентраций от 0,5 до 30 нг/мл. Расчетный предел обнаружения для NT-proBNP в разрабатываемой системе составил 560 пг/мл при общем времени анализа 25 мин.

Таким образом, предложенный биоаналитический комплекс и микрофлюидный картридж для проведения ИФА на микрочастицах с электрохимическим детектированием представляется перспективным для клинической диагностики белковых маркеров в биологических образцах.

#### **Благодарности**

Работа выполнена в рамках бюджетного финансирования по темам № 122041400080-0 и № 124031500113-3.

## РАЗРАБОТКИ ИНСТИТУТА БИОЛОГИЧЕСКОГО ПРИБОРОСТРОЕНИЯ РАН

**Н. В. Авхачева**

avkhacheva@gmail.com

*Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», 142290, Пушкино, ул. Институтская, 7*

Институт биологического приборостроения с опытным производством Российской академии наук был создан в мае 1994 г. на базе НПО «Биоприбор» (бывшее СКБ биологического приборостроения, созданное в 1965 г. Вместе с пятью другими институтами Российской академии наук ИБП РАН с 2018 г. входит в состав Федерального исследовательского центра «Пушкинского научного центра биологических исследований Российской академии наук» (Пушино, Московская область, Россия). За годы своего существования организация накопила существенный научный, технический и производственный потенциал. С 1965 г. в организации разработано более 200 наименований новых научных приборов и оборудования, как уникальных, так и для рутинных исследований, поставлено институтам страны и за рубеж более 4000 приборов. Высокий технический уровень, новизну приборов, созданных институтом, подтверждают более 450 авторских свидетельств и 40 патентов в США, Германии, Франции, Великобритании, Японии и других странах мира.

В настоящее время ИБП РАН работает в сотрудничестве со многими исследовательскими лабораториями и ведет разработки новых приборов и оборудования в следующих направлениях.

*Разработка технологий и оборудования для получения биологически активных веществ с помощью микробных культур.* Разработки биотехнологического оборудования ориентированы на создание технологической платформы для культивирования разных форм микроорганизмов и клеток (бактериальные, мицелиальные, растительные

и животные клетки), с возможностью реализации непрерывных и многостадийных процессов, использующих жидкие и твердые субстраты. Понятие «технологическая платформа» в биотехнологии объединяет в себе свойства продуцента, метода, оборудования, технологии, а также ее рыночного потенциала. В институте ведется разработка лабораторных биореакторов малого объема (от 1 до 10 л), оснащенных турбинной мешалкой и необходимым измерительным оборудованием и способных реализовать периодическое, полуперерывное и непрерывное культивирование.

*Разработка высокочувствительного изотермического титрационного калориметра с возможностью гибкого изучения тепловых процессов, протекающих в короткоживущих биообъектах.* Разработка на основе отечественной элементной базы и биотехнические испытания экспериментального образца высокочувствительного изотермического титрационного калориметра, обладающего уникальной возможностью гибкого изучения тепловых процессов, протекающих в короткоживущих биологических объектах. Прибор способен обеспечить воспроизводимость результатов измерения тепловой мощности при введении в одном эксперименте до 7 добавок различных реагентов в течение 5 минут. Дополнительное уникальное свойство разрабатываемого прибора — возможность изучения тепловых эффектов в условиях существенного различия в плотности и вязкости смешиваемых растворов.

*Разработка дифференциального сканирующего калориметра нового поколения.* Разработка на основе отечественной элементной базы и проведение испытаний экспериментального образца дифференциального сканирующего калориметра, основанного на применении комбинации технических решений и программных средств, защищенных патентами и ноу-хау ИБП РАН, с использованием новых технических решений, что обеспечивает достижение рекордной чувствительности прибора (до 0,5 мкВт), а также расширение диапазона рабочих температур (до +450 °С).

*Модернизация микрокузницы для изготовления инструментов для клеточной микрохирургии.* Разработка экспериментального образца микрокузницы, устройства для изготовления различных микроинструментов,

применяемых в микрохирургии клеток, путем проведения глубокой модернизации механической, электронной и оптической систем микрокузницы, ранее разработанной СКБ биологического приборостроения АН СССР. Исследование возможностей модернизированной микрокузницы при изготовлении новых видов инструментов для клеточной микрохирургии.

*Разработка скоростного многоканального микрохемилюминетра для регистрации слабых излучений ближнего УФ, видимого и ближнего ИК-диапазона в малых пробах.* Разработка на основе отечественной элементной базы и биотехнические испытания экспериментального образца скоростного (частота регистрации данных до 50 Гц) 12-канального микрохемилюминетра для синхронной регистрации слабых излучений в диапазоне длин волн от 365 нм до 850 нм в пробах объема от 10 мкл до 200 мкл, в диапазоне температур 32–42 °С, с динамическим диапазоном измерений не менее 3 порядков величины (не менее 10 ступеней), для выполнения фундаментальных и прикладных исследований.

*Разработка телемедицинской системы массового скрининга с персонализированным мониторингом состояния матери и плода на основе доплеровского ультразвукового зондирования с использованием технологии искусственного интеллекта.* Разработка и исследование прототипа массово доступной телемедицинской системы, предназначенной для массового скрининга беременных с персонализированным анализом больших потоков данных малозатратного широкоапертурного доплеровского ультразвукового зондирования на основе технологии искусственного интеллекта с глубоким обучением.

*Разработка линейки лабораторных механических дозаторов жидкостей переменного объема с возможностью быстрой перестройки объема дозы.* Разработка опытных образцов линейки лабораторных механических одноканальных дозаторов жидкостей переменного объема (объем дозы до 5/20/200/1000 микролитров; погрешность дозирования не более 2 %) с уникальной возможностью быстрой перестройки объема дозы, совместимых с общепринятыми наконечниками, путем проведения модернизации дозаторов, ранее разработанных СКБ биологического приборостроения АН СССР и производимых НПО

«Биоприбор» (ныне ИБП РАН). Проведение испытаний модернизированных дозаторов на базе научно-исследовательских лабораторий биологического профиля.

Помимо научных разработок, ИБП РАН предлагает широкий спектр работ по изготовлению и механической обработке деталей из металла и полимеров на профессиональных станках. Выполняет работы по порошковой окраске металлических изделий, нанесению гальванических покрытий на металлические детали.

## **ПРИБОРЫ ДЛЯ МИКРОХИРУРГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ КЛЕТОК И СУБКЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР**

**А. Г. Левченко**

alexlevchenko86@gmail.com

*Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушчинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», 142290, Пушино, ул. Институтская, 7*

Одним из актуальнейших направлений современной клеточной биологии является реконструкция клетки и связанная с ней возможность клонирования живых организмов. Наибольший интерес вызывают задачи реконструкции эмбриональных клеток, позволяющие приблизиться к пониманию механизмов реализации генетической информации, обеспечивая эффективный подход к получению животных с заданными свойствами и консервации генетических ресурсов. Появление в руках экспериментаторов тонких микроманипуляционных инструментальных средств для работы с единичной клеткой, которые дают возможность активно вмешиваться в ее функционирование, не нанося клетке значительных повреждений, является



одним из самых важных условий экспериментального развития такого рода исследований. Механические манипуляции с единичной живой клеткой выдвигают большое количество разнообразных требований: поддержание жизнедеятельности выделенной клетки, подведение и длительное удержание у различных частей клетки микроинструментов, прокол ее внешней мембраны без значительной ее деформации, возможность пересадки ядер и других субклеточных структур, возможность микроинъектирования и микроаппликации различных жидкостей, способность удержания клетки и др. В комплект входит набор приборов, необходимый для проведения микрохирургических операций на клетке:

- Позиционер — база любого микроманипулятора, обеспечивает грубое позиционирование микроманипулятора в пространстве.
- Микроманипулятор (под один или два микроинструмента), который обеспечивает точное перемещение микроинструментов.
- Держатель микроинструментов, который фиксирует микроинструменты на микроманипуляторе.
- Микроинъектор, выполняющий две функции — функцию микроинъектора-микровсасывателя и функцию микровсасывателя для удержания клетки.

Микроинструменты для работы с клеткой, позволяющие проводить операции с зонами воздействия микронных и субмикронных размеров, изготавливаются отдельно с помощью прибора, называемого микрокузницей. Микрокузница обеспечивает создание различных микроинструментов (игл, крючков, пипеток, скальпелей, зондов), в качестве заготовки используют стеклянные капилляры различных размеров и диаметров. Изготавливаемые микроинструменты необходимы для микрохирургических и микроэлектродных клеточных исследований, ведущихся как в научных, так и в прикладных лабораториях, в частности в центрах репродукции человека, животноводческих центрах.

Актуальность приборов продиктована потребностью проведения большого разнообразия исследований в клеточной хирургии, производства различных микроинструментов для нее, замещением импортных образцов приборов отечественными аналогами.

## СИСТЕМА АВТОМАТИЧЕСКОГО СИНТЕЗА ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ

Р. М. Гадиров<sup>1,\*</sup>, Э. Р. Рагимов<sup>1</sup>, Д. И. Шевалдина<sup>1</sup>, А. А. Бомбизов<sup>1</sup>,  
И. С. Довыденко<sup>2</sup>, А. Г. Лощилов<sup>1</sup>  
\* grm882@yandex.ru

<sup>1</sup>Томский государственный университет систем управления  
и радиозлектроники, 634050, Томск, просп. Ленина, 40

<sup>2</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,  
630090, Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 8

В связи с ростом потребности в олигонуклеотидах для различных исследований, таких как NGS, CRISPR, разработка новых лекарств и генная терапия, требования к скорости синтеза и масштабам постоянно повышаются. Например, для секвенирования нового поколения (NGS) необходимы библиотеки, включающие от десятков тысяч до сотен тысяч разнообразных олигонуклеотидов. Однако планшетные и колоночные синтезаторы не способны быстро синтезировать такие объемы, поскольку даже самые современные устройства могут обрабатывать лишь 1536 реакторов (4 планшета по 384 лунки), а большинство работают всего с одним планшетом на 96 лунок. Более того, объемы синтеза (нано- и микромоли), которые предлагают такие системы, часто избыточны для многих задач. Поэтому были разработаны подходы массового параллельного синтеза олигонуклеотидов, основанные на технологии струйной печати, фотоактивационного и электроактивационного синтеза. Все эти подходы основаны на автоматизированном твердофазном синтезе с использованием фосфорамидитов. Электроактивационный синтез [1] требует применения специализированных полупроводниковых подложек с массивом микроэлектродов, на которых происходит синтез, но такие подложки сложны в производстве и имеют ограниченный срок службы. Фотоактивация требует использования дорогостоящих фосфорамидитов с фотолabile защитными группами [2]. Струйная печать [3] позволяет работать со стандартными реагентами и классической

схемой синтеза, но ее реализация требует высокоточной системы дозирования и перемещения, что усложняет разработку оборудования.

Нами был создан экспериментальный образец системы автоматического синтеза олигонуклеотидов OligoFAB (рис. 1), основанный на технологии струйного дозирования. Система включает геномный принтер — высокоточный координатограф, герметичную камеру, пьезоэлектрические головки, подсистему технического зрения и различные вспомогательные узлы, обеспечивающие стабильную работу системы. Модуль обеспечения функционирования выполнен отдельной стойкой, в которую входит блок управления и шприцевая станция, объединяющая до 16 шприцевых дозаторов. Шприцевая станция обеспечивает подачу реагентов из емкостей через трубки в пьезодозаторы, а также позволяет выполнять 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 окном регистрации камеры, в результате чего каждый кадр видеоряда отображает местоположение разных капель в дном и том же положении. Неподвижное изображение капли в процессе регистрации говорит о стабильности дозирования. В процессе синтеза программное обеспечение позволяет в автоматическом режиме выполнять экспертную оценку стабильности вылета капель и, при необходимости, выполнять процедуру очистки пьезодозаторов. Обзорная камера, установленная вместе с пьезодозаторами, позволяет регистрировать подложку, определять точные координаты спотов и проводить калибровку по положению дозаторов.



Рис. 1. Внешний вид системы автоматического синтеза олигонуклеотидов OligoFAB

Синтез осуществляется на поверхности тонких нанопористых 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/см<sup>2</sup>. 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.

В настоящее время выполняются доработка системы, ее испытания и подготовка к мелкосерийному выпуску.

### Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке ФНТП развития генетических технологий на 2019–2027 гг. 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.

## МИКРОФЛЮИДНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ И ПРИБОРЫ КОМПАНИИ «ФЛИКСБИО»

**Н. А. Филатов**<sup>1,2,\*</sup>, А. А. Тюшкевич<sup>1</sup>, Е. И. Наумов<sup>1</sup>, П. С. Плешаков<sup>1</sup>,  
Л. А. Алтынбаев<sup>1</sup>, Д. А. Белоусова<sup>1</sup>, А. С. Букатин<sup>1,3</sup>  
\* info@flixbio.ru

<sup>1</sup>СПбАУ РАН им. Ж. И. Алферова, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, 8/3, лит. А

<sup>2</sup>ООО «ФЛИКСБИО», 194021, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, 6/1, помещ. 29-Н, оф. 1–6

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

Микрофлюидные технологии востребованы в синтезе микро- и наночастиц со специфическими характеристиками [1, 2], в разработке и скрининге лекарств [3], в системах раннего обнаружения заболеваний [2], в системах для анализа одиночных клеток [4], в создании устройств для диагностики на месте оказания помощи (Point-Of-Care Testing) [5] и т. д. Микрофлюидные технологии активно внедряются благодаря своим преимуществам, например: уникальные

возможности контроля за условиями синтеза или процессов внутри микрофлюидного устройства (чипа), разные этапы анализа (например, ввод образца, пробоподготовка, разделение, детектирование) могут быть объединены в одном микрофлюидном устройстве, манипулирование очень малыми количествами жидкости или газа, порядка микролитров, нанолитров или даже пиколитров и аттолитров.

По данным компании SkyQuest Technology Group, объем мирового рынка микрофлюидики оценивался в 21,70 млрд долларов США в 2022 г. и, как ожидается, вырастет с 24,48 млрд долларов США в 2023 г. до 64,16 млрд долларов США к 2031 г., при этом среднегодовой темп роста составит 12,8 % в прогнозируемый период (2024–2031 гг.). Для рынка также характерно большое количество малых и средних предприятий, которые занимаются разработкой инновационных микрофлюидных продуктов для широкого спектра применений. Такие предприятия играют важнейшую роль в стимулировании инноваций и снижении стоимости микрофлюидных устройств, делая их более доступными для широкого круга пользователей.

Компания «ФЛИКСБИО» разрабатывает российские микрофлюидные технологии и устройства для различных применений. В частности, для биомедицинских исследований и приложений.

На данный момент компания «ФЛИКСБИО» активно развивает технологии: 1) создания мастер-форм для прототипирования микрофлюидных чипов или устройств, 2) изготовления микрофлюидных чипов методом мягкой литографии, 3) синтеза водных микрокапель, микро- и наночастиц со специфическими характеристиками, 4) создания 3D-биочернил на базе микрогелей, 5) систем «орган-на-чипе» для тестирования лекарств и т. д.

Примеры продуктов компании в рамках микрофлюидного периферийного оборудования: 1) различные аксессуары для научных исследований, например, адаптеры (пневмоинтерфейсы) для подключения стандартных лабораторных пробирок 200 мкл, 1,5 мл, 15 мл и 50 мл, 2) микрофлюидная платформа для синтеза монодисперсных водных эмульсий, микро- и наночастиц для биомедицинских применений, 3) устройство для синтеза наночастиц, 4) микрофлюидный

контроллер давлений, 5) микрофлюидный гидростатичный прокачиватель для систем «орган-на-чипе».

### **Благодарности**

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

### **Литература**

1. *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.

2. *Gimondi S. et al.* Microfluidic devices: a tool for nanoparticle synthesis and performance evaluation // *ACS nano*. 2023. Vol. 17, № 15. P. 14205–14228.

3. *Trinh T. N. D. et al.* Droplet-based microfluidics: applications in pharmaceuticals // *Pharmaceuticals*. 2023. Vol. 16, № 7. P. 937.

4. Gupta P. et al. Multiplexed fluorescence and scatter detection with single cell resolution using on-chip fiber optics for droplet microfluidic applications // *Microsystems & Nanoengineering*. 2024. Vol. 10, № 1. P. 35.

5. *Cruz A. et al.* Disease-on-a-chip: from point-of-care to personalized medicine // *Frontiers in Pharmacology*. 2023. Vol. 14. P. 1344379.

## АВТОМАТИЗИРОВАННЫЕ СИСТЕМЫ КОНЕЧНОГО ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ И СЧИТЫВАНИЯ МИКРОКАПЕЛЬНЫХ МАТРИЦ

Д. С. Андреев<sup>1,2,\*</sup>, С. С. Нежевенко<sup>2</sup>, Б. В. Пичев<sup>2</sup>, А. В. Васин<sup>2,3</sup>  
\* dan14444@yahoo.com

<sup>1</sup>ООО ИНЛАБС

<sup>2</sup>НИИ гриппа им. А. А. Смородинцева, 197376, Санкт-Петербург,  
ул. Профессора Попова, 15/17

<sup>3</sup>Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,  
195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, 29

Разработан доступный широкому спектру конечных пользователей метод сквозной автоматизации аналитических методов, основанных на многофакторном флуоресцентном анализе с использованием микрокапельных матриц. Метод применим, в частности, для диагностики с использованием полинуклеотидов и белков (ДНК-чипы, IGG-чипы), в скрининге катализаторов и микроорганизмов, в многофакторном анализе загрязнений, во входном контроле сырья и т. д. [1, 2]. Автоматизация применима, в частности, для микрокапельных матриц в микрофлюидных чипах, на поверхности покровных и предметных стекол, в ячейках иммунологических планшет.

Существующие системы для считывания и особенно изготовления микрокапельных матриц являются эффективным, но дорогим оборудованием, в большинстве случаев недоступным для использования в качестве персонального оборудования и часто недоступным и лабораториям в целом. Кроме того, существующие системы в большинстве случаев ориентированы на узкий спектр задач и ограничивают пользователя в перенастройке для использования нестандартными способами.

Предлагаемые к рассмотрению системы на основе шасси бюджетных 3D-принтеров [3] и ЧПУ-станков (рис. 1) позволяют производить как анализ, так и фабрикацию чипов и планшет с микрокапельными матрицами конечным пользователем. Управление



робототехническими элементами систем производится в едином формате G-кода, при этом пользователю доступен как упрощенный интерфейс, автоматизирующий программирование стандартных операций, так и возможность программирования нестандартных процедур редактированием исполняемых скриптов.

Описываемые системы используют один (рис. 1, А, В) или два (рис. 1, Б) контроллера, управляющие 3–4 линейными приводами каждый, при этом приводы используются для позиционирования дозатора и оптических элементов, а также для дозирования реагентов.

Унификация управления посредством G-кода, стандартизированных координатных столов и блок-штативов (рис. 1, А, Б) позволяет использовать широкий спектр доступных на рынке в каждый момент времени кинематических шасси 3D-принтеров и ЧПУ-станков с минимальными модификациями. При этом варибельность блок-штативов и мобильных головок обеспечивает модифицируемость систем под конкретные задачи пользователя.

Продемонстрировано использование систем для изготовления микрокапельных матриц в ячейках 96-луночных планшетов, для автоматизированного выполнения операций «мокрой химии» с такими

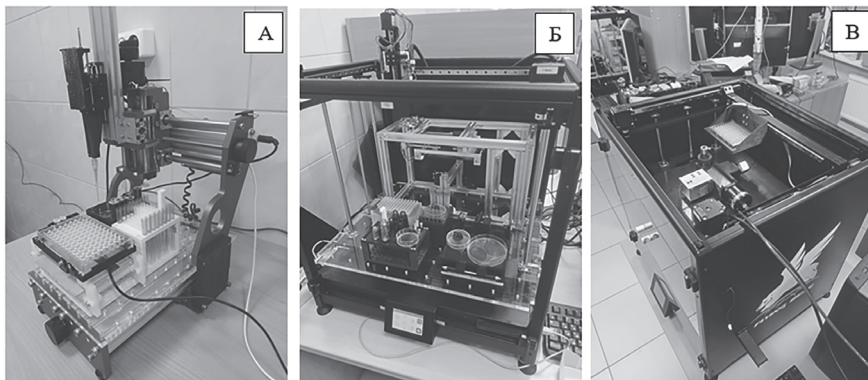


Рис. 1. А, Б — автоматизированные системы для изготовления микрокапельных матриц и автоматизации процедур «мокрой химии» с их использованием; В — автоматизированный считыватель микрокапельных матриц

планшетами и для последовательного считывания сигнала с матриц в ячейках планшет с заданной периодичностью.

### Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере, проект № 89651 «Разработка технологии изготовления программируемых лабораторных систем, изготовление и тестирование прототипов программируемых лабораторных систем», и государственного задания Минздрава России «Разработка мультиплексной платформы на основе белкового биочипа в формате микропланшета для дифференциальной диагностики острых респираторных инфекций вирусной и бактериальной этиологии».

### Литература

1. *Грядунов Д. А., Шаскольский Б. Л., Наседкина Т. В., Рубина А. Ю., Заседателев А. С.* Технология гидрогелевых биочипов ИМБ РАН: 30 лет спустя // *Acta Naturae*. 2018. № 10 (4). С. 4–18.
2. *Bowman E. K. et al.* Microdroplet-Assisted Screening of Biomolecule Production for Metabolic Engineering Applications // *Trends in Biotechnology*. 2020. Vol. 38 (7). P. 701–714.
3. *Barthels F., Barthels U., Schwickert M., Schirmeister T.* FINDUS: An Open-Source 3D Printable Liquid-Handling Workstation for Laboratory Automation in Life Sciences // *SLAS Technology*. 2020. Vol. 25 (2). P. 190–199.

## ПРАКТИКА ПЕРЕДАЧИ ОПЫТНЫХ ОБРАЗЦОВ НАУЧНЫХ ПРИБОРОВ В СЕРИЙНОЕ ПРОИЗВОДСТВО

А. В. Веретенников<sup>1,\*</sup>, А. В. Бородин<sup>1</sup>, В. А. Бородин<sup>1</sup>, А. Е. Новиков<sup>1</sup>,  
В. Е. Курочкин<sup>2</sup>, Я. И. Алексеев<sup>3</sup>  
\* veretenn@ezan.ac.ru

<sup>1</sup>Экспериментальный завод научного приборостроения со Специальным конструкторским бюро РАН, 142432, Черноголовка, просп. Академика Семенова, 9

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

<sup>3</sup>НПФ Синтол, 127434, Москва, ул. Тимирязевская, 42, корп. Б

Работа посвящена вопросам освоения в серийном производстве результатов разработок научных приборов и оборудования. Рассмотрены этапы конструкторской и технологической подготовки производства, изготовления и поддержки жизненного цикла сложного наукоемкого изделия. В качестве примера рассмотрены разработ-



Рис. 1. Серийное производство генетического анализатора «НАНОФОР-05»

ка и серийное производство первого отечественного генетического анализатора «НАНОФОР-05» силами консорциума «Российские генетические технологии», в который входят Институт аналитического приборостроения Российской академии наук, Научно-производственная компания и Акционерное общество «Экспериментальный завод научного приборостроения со Специальным конструкторским бюро Российской академии наук» (рис. 1).

## ПОДХОД К ПЛАНИРОВАНИЮ РАЗМЕРНЫХ ЦЕПЕЙ СБОРКИ

С. В. Пономарев\*, А. А. Шендрыгин, С. А. Долгушин

\* spv7016@gmail.com

*ООО «Айвок», 124498, Москва, г. Зеленоград, проезд 4922, д. 4, стр. 5, эт. 4, пом. I, ком. 49, 50*

При проектировании сборки, состоящей из большого количества деталей, особое внимание уделяют выходному звену сборки, которое должно удовлетворять требованиям к точности с учетом последующей стабильности в эксплуатации.

Для достижения требуемой точности с учетом последующей стабильности в эксплуатации руководствуются следующим:

1. Доступные материалы — механические свойства применяемых материалов будут впоследствии способствовать стабильности выходного звена сборки в эксплуатации.

2. Доступные технологии — существуют различные способы достичь заданной точности, и среди этих способов необходимо выбрать наиболее подходящий как с точки зрения точности, так и с точки зрения затрачиваемых ресурсов.

3. Технические решения, адекватные функции сборки, — конструкция деталей сборки должна обеспечивать наиболее эффективный способ передачи размеров с учетом их будущей стабильности.

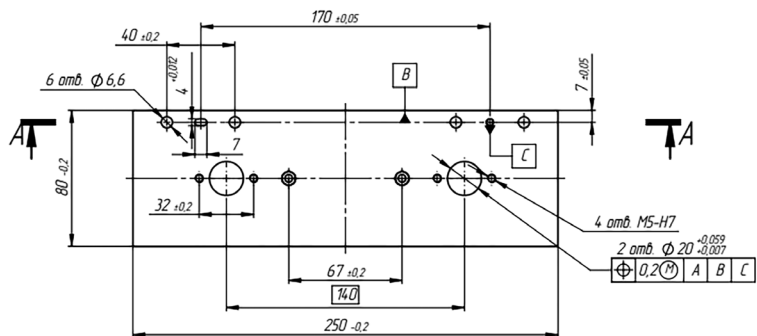
Под размерной цепью подразумевается кратчайший путь передачи размера от базовой детали сборки к ее выходному звену.

Пример. Сборка должна обеспечивать положение выходного звена массой 2 кг в горизонтальной плоскости с точностью  $\pm 0,5$  мм при линейном перемещении по вертикальной оси со скоростью до 30 мм/с.

1. Для заданных условий из доступных материалов для промежуточных деталей сборки (от базовой детали до выходного звена) подходит алюминиевый сплав.

2. Предполагается обработка деталей методом фрезеровки, для которой принимается эффективная с точки зрения ресурсов точность линейных размеров  $\pm 0,05$  мм, точность положения позиционирующих отверстий  $\pm 0,1$  мм и диаметров  $\pm 0,01$  мм (при данной точности на большинстве современного ЧПУ оборудования процент брака минимален); дальнейшая сборка деталей осуществляется оператором на сборочном участке.

3. Для сборки методом регулирования [1] расчет допуска (методом максимума-минимума, который представляет собой сумму точностей компонентов, входящих в сборку) показал итоговую точность сборки  $\pm 1$  мм, что превышает требование  $\pm 0,5$  мм. Для достижения итоговой точности при минимизации затрачиваемых ресурсов взят метод позиционирования 3-2-1 (плоскость — линия — точка) (рис. 1) [2] с использованием штифтов, где плоскостью является опорная поверхность детали, линию задают позиционирующие штифты, а точка берется по штифтам сборки, расположенным слева, — они являются главными, передающими размерную цепь далее через детали сборки. Таким образом, вплоть до выходного звена обеспечивается автоматическое попадание в допуск  $\pm 1$  мм только за счет последовательной сборки деталей. Для достижения точности  $\pm 0,5$  мм применены компенсационные зазоры в плоскостях, где требуется регулировка. После сборки деталей выполняется регулировка только в тех узлах, где заложены компенсационные зазоры, что, с одной стороны, сокращает затрачиваемые ресурсы (стоимость обработки, время на сборку) и, с другой стороны, позволяет достичь целевой точности.



A-A

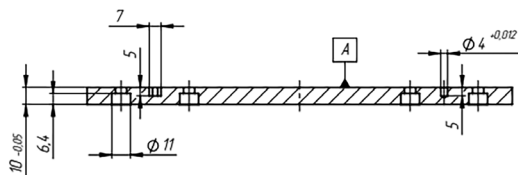


Рис. 1. Пример чертежа сборочной детали, реализующей метод позиционирования 3-2-1

### Благодарности

Материалы доклада подготовлены при работе над проектами в компании ООО «Айвок».

### Литература

1. Бегова А. В. Расчет сборочных размерных цепей методами взаимозаменяемости (методические указания). Новомосковск, 2013. 58 с.
2. What Is The 3-2-1 Principle Of Location? <https://www.dgfmoldclamps.com/what-is-the-3-2-1-principle-of-location/>.

## **ТЕХНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ**

**Д. Н. Куксин**

dmitriy.kuksin@test-me.co

*ООО «Тест МИ», 124498, Москва, г. Зеленоград, технопарк «Элма»,  
пр. 4922-й, д. 4, стр. 5*

Доклад кратко описывает процесс регистрации медицинских изделий в национальной системе регистрации РФ:

1. Основные нормативно-правовые акты, регулирующие государственную регистрацию медицинских изделий. Упрощенные и ускоренные порядки получения регистрации. Преимущества и недостатки.

2. Необходимые этапы регистрации медицинского изделия. Требования к содержанию регистрационного досье. Необходимые испытания в независимых лабораториях.

3. Оценка соответствия в форме технических испытаний для целей государственной регистрации. Регулирующие нормативно-правовые акты.

4. Выбор испытательной лаборатории. Где найти информацию, на что обратить внимание.

5. Этапы проведения технических испытаний. Документы, выпускаемые лабораторией по результатам испытаний.

6. Изменения в ГОСТах серии 18113, новая редакция которых вводится в действие с 1 января 2025 г.

7. Статистика зарегистрированных медицинских изделий за последние годы.

8. Деятельность Испытательной лаборатории «Тест МИ».

### **Благодарности**

Коллективу Испытательной лаборатории ООО «Тест МИ».

### **Литература**

1. Федеральный закон Российской Федерации от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах защиты здоровья граждан в Российской Федерации».

2. Постановление Правительства РФ от 27.12.2012 № 1416 «Об утверждении Правил государственной регистрации медицинских изделий».

3. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 30.08.2021 № 885н «Об утверждении Порядка проведения оценки соответствия медицинских изделий в форме технических испытаний, токсикологических исследований, клинических испытаний в целях государственной регистрации медицинских изделий».

4. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 19.01.2017 № 11н «Об утверждении требований к содержанию технической и эксплуатационной документации производителя (изготовителя) медицинского изделия».

## **СТАРТ СЕРИЙНОГО ПРОИЗВОДСТВА POINT-OF-CARE СИСТЕМЫ «VEENY»: ПРОБЛЕМЫ И РЕШЕНИЯ**

**С. Ю. Пауль**  
paul@trdc.com

*ООО «Троицкий инженерный центр», 108840, Москва, г. Троицк,  
ул. Академика Франка, 16*

В 2022 г. в компании «Троицкий инженерный центр» была разработана система для проведения ускоренного анализа ДНК/РНК-мишеней в образцах биоматериала из слизистой оболочки носоглотки человека с использованием колориметрической изотермической амплификации, позволяющей проводить детекцию мишеней визуально в реальном времени.

Система состоит из станции и картриджа с реагентами для амплификации. Сам картридж состоит из двух основных компонентов: микрофлюидной платформы с лиофилизированными реагентами и электронной платы, которая прикреплена к микрофлюидной





Рис. 1. Полуавтоматическая система, состоящая из картриджа и станции (слева). Серийная сборка картриджей (справа)

платформе. Для проведения анализа необходимо взять мазок при помощи зонд-тампона и поместить его в транспортную среду. Далее транспортная среда с образцом переносится в картридж и самотеком расходуется по реакционным лункам, в которых расположены лиофилизованные реагенты для изотермической амплификации. Картридж помещается в станцию, после чего запускается процесс изотермической амплификации. После 45 минут программа амплификации заканчивается и картридж утилизируется.

В 2024 г. проект стал активно развиваться, был найден партнер для продвижения и коммерциализации системы.

## РАЗРАБОТКА ЭКСПРЕСС-ТЕСТОВ И ПЕРСПЕКТИВЫ РЫНКА POINT-OF-CARE УСТРОЙСТВ

Е. А. Мучкинова<sup>1,\*</sup>, И. В. Максин<sup>1,2</sup>, А. Р. Агишева<sup>1</sup>

\*emuchkinova@drdbiotech.ru

<sup>1</sup>ООО «РАПИД БИО», 121205, Москва, Большой Бульвар, 42с1

<sup>2</sup>Институт тонких химических технологий, Московский технологический университет, 119571, Москва, пр. Вернадского, 86

В настоящий момент система здравоохранения сталкивается с необходимостью внедрения быстрых и доступных методов диагностики, осуществляемых непосредственно на месте оказания медицинской помощи (point-of-care, PoC). Пандемия COVID-19 продемонстрировала эффективность использования экспресс-тестов, тем самым стимулировав развитие технологий и повысив осведомленность о подобных решениях. Применение PoC-тестов позволяет снизить нагрузку на лаборатории и медицинские учреждения, делая диагностику доступной в удаленных, ограниченных в ресурсах регионах.

Современные PoC-устройства основываются на различных технологиях: методы иммуноанализа, молекулярные и электрохимические методы, микрофлюидика. Метод иммунохроматографического анализа (ИХА) отличается простотой использования и быстротой получения результатов, но уступает по чувствительности и специфичности лабораторным методам [1]. Молекулярные методы, такие как полимеразная цепная реакция (ПЦР), являются более точными, но их применение ограничено необходимостью использования сложного оборудования, квалифицированного персонала и высокой стоимостью реактивов [2]. Электрохимические сенсоры с использованием наноматериалов, таких как наночастицы золота и углеродные нанотрубки, позволяют достичь высокой точности при обнаружении биомаркеров, однако подобные сенсоры сложны в производстве и требуют частой калибровки [3]. Использование микрофлюидных систем для манипуляции малыми объемами позволяет автоматизировать стадии пробоподготовки, выделения и анализа образцов

с одновременным уменьшением количества реагентов. Основные области применения PoC-устройств сосредоточены на диагностике инфекционных заболеваний, мониторинге биохимических параметров крови, а также детекции кардио- и онкологических маркеров.

Существует ряд успешных коммерческих PoC-решений (табл. 1), которые улучшили качество жизни пациентов с хроническими заболеваниями и позволили сократить время до получения результата и начала лечения. Искусственный интеллект (ИИ) стал важной частью современной медицины и активно внедряется в сферу здравоохранения. Медицинское изделие ExSeed является примером современных достижений в области диагностики мужской фертильности на дому, использующим ИИ.

Таким образом, основные тенденции развития PoC-технологий включают миниатюризацию носимых устройств для непрерывного мониторинга, интегрированных с цифровыми платформами, определение одновременно нескольких аналитов, а также использование наноматериалов и новых инструментов молекулярной диагностики (например, цифровая ПЦР, секвенирование нового поколения, изотермическая амплификация) для улучшения показателей чувствительности и специфичности тест-систем. Также развитие технологий PoC тесно связано с персонализированной медициной и созданием лабораторий на чипе, которые открывают новые возможности для диагностики в удаленных районах без необходимости привлечения высококвалифицированного персонала. Многие из этих решений объединяет использование микрофлюидной технологии.

В будущем ожидается, что экспресс-тест-системы достигнут показателей лабораторных методов анализа, сохранив при этом свои преимущества для быстрого и масштабного применения. Данные устройства будут компактными, портативными и простыми в использовании, что особенно важно для диагностики в удаленных и труднодоступных регионах. Они смогут работать на основе нескольких технологий, что обеспечит высокую точность и скорость проведения анализов. Для полной интеграции диагностической системы в существующую медицинскую инфраструктуру

ру предусматривается разработка отечественного программного обеспечения, которое будет поддерживать работу анализаторов и будет совместимо с лабораторными и медицинскими информационными системами, облегчая обмен данными между медицинскими учреждениями.

Таблица 1. Обзор коммерческих решений Point-of-Care диагностики

Название теста	Используемые технологии	Время анализа	Стоимость одного исследования	Описание
Abbott FreeStyle Libre	Электрохимия	Постоянный мониторинг в течение 14 дней	Средняя	Носимое устройство для мониторинга уровня глюкозы в крови
Roche CoaguChek	Электрохимия	Менее 1 минуты	Средняя	Тест для мониторинга коагуляции, подходит для использования в домашних условиях
Visby Respiratory Health Test	ПЦР, хроматография, микрофлюидика	~30 минут	Высокая	Быстрый анализ инфекций дыхательных путей, портативный и простой в использовании
binx io CT/NG	ПЦР, электрохимия, микрофлюидика	~30 минут	Высокая	Тест для выявления инфекций, передающихся половым путем, портативный и автономный
Abbott i-STAT (cTnI)	Электрохимия, иммуноанализ, микрофлюидика	Менее 10 минут	Высокая	Устройство для экстренной диагностики и мониторинга в неотложных состояниях
ExSeed Home sperm test	Микрофлюидика, оптический анализ, ИИ	~10 минут	Средняя	Домашний тест для анализа спермы, использует мобильное приложение для анализа

### Литература

1. *Liu Y. et al.* Ultrasensitive and Highly Specific Lateral Flow Assays for Point-of-Care Diagnosis // ACS Nano. American Chemical Society. 2021. Vol. 15, № 3. P. 3593–3611.
2. *Gavina K. et al.* Molecular point-of-care devices for the diagnosis of infectious diseases in resource-limited settings — A review of the current landscape, technical challenges, and clinical impact // Journal of Clinical Virology. Elsevier. 2023. Vol. 169. P. 105613.
3. *Kim J., Jeong J., Ko S. H.* Electrochemical biosensors for point-of-care testing // Biodes Manuf. Springer, 2024. Vol. 7, № 4. P. 548–565.

## МЕТРОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ИЗМЕРЕНИЙ СОДЕРЖАНИЯ ФТАЛАТОВ В ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛАХ

А. Г. Будко\*, А. И. Крылов

\* a.g.budko@vniim.ru

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

С начала прошлого века происходит интенсивное развитие химической промышленности, и широкий спектр различных типов веществ является предметом крупнотоннажного химического синтеза. Некоторые вещества используются в качестве добавок к уже имеющимся материалам для улучшения их физико-химических свойств, например, сложные эфиры ортофталевой кислоты — фталаты, являющиеся пластификаторами при изготовлении полимерных материалов различного назначения.

Начиная с 2000-х гг. многие страны стали выражать беспокойство о распространенности загрязнения различными химическими веществами, в том числе и фталатами. Из-за массового распространения продукции, содержащей фталаты, их можно обнаружить как на тер-

ритории крупных городов, так и в удаленных от промышленности участках. Как следствие, контроль за содержанием фталатов в природных и промышленных объектах, как одна из составляющих экологического мониторинга природной среды, со все более ужесточающимися требованиями к достоверности и точности результатов, не только представляет интерес на уровне РФ, но и является актуальной международной проблемой.

При использовании методик измерений содержания органических компонентов в различных объектах окружающей среды принято использовать стандартные образцы растворов и/или чистых веществ в качестве калибранта и стандартные образцы в матрице для контроля точности результатов измерений.

Аттестация чистых органических веществ заключается в максимально полном определении содержания примесных компонентов с последующим расчетом математическим методом «массового баланса» — «100 % минус сумма примесей» [1]. Данный подход предполагает обязательное измерение четырех групп примесных компонентов: родственные соединения (РС), летучие органические соединения (ЛОС), вода (свободная и кристаллогидратная) и нелетучие соединения (например, катализаторы синтеза).

Основным методом идентификации примесных соединений групп РС и ЛОС является масс-спектрометрия в сочетании с газовой и/или высокоэффективной жидкостной хроматографией.

На основании разработанного алгоритма определения чистоты веществ были определены метрологические характеристики шести приоритетных фталатов, которые в дальнейшем использовались в качестве исходного материала при разработке стандартного образца (СО) раствора фталатов в метаноле [2]. При определении метрологических характеристик СО учитывали неопределенность от неоднородности материала и нестабильности СО, которые были рассчитаны для каждого индивидуального фталата в растворе методом масс-спектрометрии с изотопным разбавлением. Расширенная неопределенность аттестованных значений массовой доли индивидуальных фталатов не превысила 2 % [3].

СО раствора фталатов в метаноле использовался для построения градуировочной зависимости при разработке референтной методики измерений шести приоритетных фталатов в полимерной матрице на основе поливинилхлорида методом газовой хроматографии — масс-спектрометрии с изотопным разбавлением (ГХ-МС/ИР). Благодаря подбору оптимальных параметров при подготовке проб к анализу и использованию метода ГХ-МС/ИР удалось достичь неопределенности измерений массовой доли фталатов, не превышающей 8 %, что в 2–4 раза меньше по сравнению с рутинными методиками измерений [4].

Для контроля точности результатов измерений разработан СО массовой доли фталатов в поливинилхлориде, определение метрологических характеристик которого также проводили методом ГХ-МС/ИР. В результате расширенная неопределенность аттестованных значений массовой доли фталатов составила 11 %, что соответствует международным тенденциям, применяемым национальными метрологическими институтами других стран при разработке сертифицированных СО [5].

Таким образом, разработанные стандартные образцы и референтная методика измерений обеспечивают прослеживаемость результатов измерений, проводимых по рутинным методикам, к Государственному первичному эталону единиц массовой (молярной) доли и массовой (молярной) концентрации органических компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе жидкостной и газовой хромато-масс-спектрометрии с изотопным разбавлением и гравиметрии ГЭТ 208. Использование в качестве калибранта СО раствора шести приоритетных фталатов в метаноле при выполнении измерений по рутинным методикам/методам обеспечивает выполнение Федерального закона № 102-ФЗ «Об обеспечении единства измерений».

### **Благодарности**

Выражаю благодарность ученому-хранителю ГЭТ 208 А. Ю. Михеевой за помощь и поддержку на всех этапах работы.

### Литература

1. РМГ 55-2003 Стандартные образцы состава чистых органических веществ. Методы аттестации. Основные положения [Текст] // Межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации: дата введения 2004.07.01. М.: ИПК Издательство стандартов, 2004. 12 с.

2. Будко А. Г., Михеева А. Ю., Крылов А. И. Алгоритм определения чистоты чистых органических веществ фталатов косвенным методом массового баланса // Эталоны. Стандартные образцы. 2022. Т. 18, № 3. С. 41–55.

3. Крылов А. И., Михеева А. Ю., Будко А. Г., Ткаченко И. Ю. Метрологическое обеспечение измерений содержания фталатов: стандартный образец состава раствора шести приоритетных фталатов в метаноле // Эталоны. Стандартные образцы. 2021. Т. 17, № 3. С. 5–19.

4. Крылов А. И., Михеева А. Ю., Будко А. Г., Ткаченко И. Ю., Нежиховский Г. Р. Референтная методика измерений содержания фталатов в полимерных матрицах: аналитические и метрологические подходы // Измерительная техника. 2022. № 10. С. 64–72.

5. Будко А. Г. Стандартный образец состава фталатов в полимерной матрице на основе поливинилхлорида // Эталоны. Стандартные образцы. 2023. Т. 19, № 5. С. 83–94.

## МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ БЕЛКОВ

**В. В. Егоров**

sondyn@yandex.ru

*НИИ гриппа им. А. А. Смородинцева, 197376, Санкт-Петербург,  
ул. Профессора Попова, 15/17*

*Институт экспериментальной медицины, 197022, Санкт-Петербург,  
ул. Академика Павлова, 12*



Несмотря на существенный прогресс в методах компьютерного моделирования, связанный с увеличением производительности вычислительных систем и внедрением технологий искусственного интеллекта в программное обеспечение для моделирования, экспериментальная проверка результатов *in silico* предсказаний пространственной структуры белков остается актуальной задачей структурной биологии. Это связано как с нерепрезентативностью набора исходных данных, используемых в качестве обучающей выборки для программ, предсказывающих пространственную структуру, так и с вариабельностью функциональных конформаций белковой молекулы и ролью посттрансляционных модификаций в формировании пространственной структуры и функционировании белка. Методы на основе масс-спектрометрии позволяют не только определять спектр посттрансляционных модификаций белковой молекулы, но и проводить изучение динамики формирования третичной структуры белка и белок-белковых комплексов.

Комплексное использование *in silico* методов предсказания пространственной структуры белковых молекул на основе гомологического моделирования, молекулярной динамики, масс-спектрометрии дейтериевого обмена и биофизических методов изучения пространственной структуры в растворе позволяет получить данные, необходимые для решения фундаментальных проблем структурной биологии и создания новых препаратов для борьбы с социально-значимыми заболеваниями.

### **Благодарности**

Работа выполнена при финансовой поддержке ГЗ Минздрава России, 2024–2026 гг., TVKQ-2024-0006 («Разработка технологической платформы для создания терапевтических мРНК, направленных на лечение гриппа»).

## МАЛДИ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ И ФОРМАТ «ЛАБОРАТОРИЯ НА МИШЕНИ»

Е. П. Подольская  
ek.podolskaya@gmail.com

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

В течение последних 30 лет масс-спектрометрия (МС) зарекомендовала себя как основной метод анализа большеразмерных молекул и молекулярных комплексов, в частности полимеров и природных биомолекул, таких как белки и нуклеиновые кислоты. Лазерная десорбция/ионизация (ЛДИ) и связанная с ней матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация (МАЛДИ) особенно удобны для высокопроизводительного анализа биологических образцов, и (МА)ЛДИ МС является удобной платформой для чувствительного, высокопроизводительного и экономически эффективного определения не только интактных белков, но и широкого спектра других аналитов. Как было показано, МАЛДИ МС-анализ обладает выдающейся чувствительностью с точки зрения общего количества анализируемого вещества по сравнению с большинством методов. Тем не менее многие области применения, включая определение белков и метаболитов с низким содержанием целевых соединений или исследования отдельных клеток, требуют особых подходов для реализации возможности анализа, т. к. МАЛДИ МС является типичным автономным методом, не позволяющим проводить анализ образцов в режиме on-line. Кроме того, имеется еще ряд ограничений, связанных с узким диапазоном концентраций аналитов в образце ( $\sim 10^{-2}$ ) и с небольшим, по сравнению с хромато-масс-спектрометрическими методами, количеством детектируемых соединений в процессе одного анализа. Поэтому в большинстве случаев перед самим МАЛДИ МС анализом становится необходимой трудоемкая и многэтапная пробоподготовка. Это приводит к нивелированию основных достоинств метода, а именно экспрессности (затраты

времени на извлечение искомых аналитов могут достигать несколько дней) и чувствительности (за счет потерь аналита при многоэтапной пробоподготовке). Соответственно, в последнее время стали стремительно развиваться подходы, позволяющие проводить пробоподготовку непосредственно на МАЛДИ-мишени. И относительно недавно в МАЛДИ масс-спектрометрии был создан новый формат анализа, включающий интеграцию этапов пробоподготовки непосредственно на планшетах-мишенях МАЛДИ и ЛДИ. Этот формат получил название «лаборатория на мишени».

Этапы пробоподготовки могут включать любые действия, выполняемые в дополнение к тем, которые необходимы для ионизации аналитов в процессе лазерной десорбции/ионизации, например: гомогенизацию, предварительное концентрирование, очистку, экстракцию, расщепление, дериватизацию, синтез, разделение, обнаружение с помощью дополнительных методов, хранение данных или другую соответствующую деятельность. Значительная часть подходов, используемых в формате «лаборатория на мишени», реализуется за счет функционализации поверхности подложки. В большинстве случаев формат «лаборатория на мишени» позволяет не только в разы снизить затраты на реактивы и сократить время эксперимента, но и заметно повысить чувствительность анализа, что имеет огромное значение при ограниченных количествах образца, как происходит при исследованиях в таких областях, как биохимия или биомедицина.

Можно сделать заключение, что в последние годы интерес к разработкам способов функционализации поверхности мишени и различным вариантам реализации формата «лаборатория на мишени» только растет, а МАЛДИ-мишени, выполняющие несколько функций, становятся все более популярными.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ЛЕНГМЮРА ДЛЯ АНАЛИЗА ПОЛИПРЕНОЛОВ МЕТОДОМ МАЛДИ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

А. С. Гладчук\*, Е. П. Подольская

\* aleglad24@gmail.com

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

Полипренолы — линейные изопреноидные спирты, длина которых варьируется от 5 до более чем 100 изопреновых звеньев. Полипренолы и их производные участвуют в биосинтезе полисахаридов и гликозилировании белков в фотосинтетических тканях растений. Также профили полипренолов в фотосинтетических тканях растений проявляют отличия между видами, что позволяет рассматривать их как хемотаксономический маркер. В литературе описан ряд фармакологических активностей полипренолов, среди которых можно выделить противовирусную, гепатопротекторную, иммуномодулирующую и др. Полипренолы представляют собой перспективный класс биологически активных соединений, которые могут выступать в качестве основы для разработки новых лекарственных средств или компонента липосомной системы доставки лекарств.

На сегодняшний день для определения полипренолов в различных биологических матрицах используют хроматографические методы. Количественный анализ полипренолов в большинстве случаев осуществляется с использованием обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым или масс-спектрометрическим детектором. В то же время метод масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (МАЛДИ МС), отличающийся высокой чувствительностью и экспрессностью, практически не используется для решения такого типа задач. Основным затруднением при масс-спектрометрическом анализе полипренолов с использованием мягких

методов ионизации является их высокая гидрофобность, которая препятствует их эффективной ионизации.

Предлагаемый новый подход к анализу полипренолов методом МАЛДИ МС основывается на формировании мономолекулярных слоев полипренолов непосредственно на поверхности ячеек МАЛДИ мишени. Образование монослоев происходит в процессе нанесения раствора полипренолов в гексане на каплю водного раствора соли бария. В результате МАЛДИ МС-анализа полученных монослоев полипренолы регистрируются в виде сигналов соответствующих  $[M-H+Ba]^+$  ионов, несмотря на их неионогенную природу.

В качестве объекта исследования был использован концентрат хвойных полипренолов «Пренолит». В масс-спектрах детектировался ряд сигналов с разницей  $m/z$  68 (соответствует молекулярной массе изопренового звена  $C_5H_8$ ) и соответствующих моноалкоголятам бария по значению  $m/z$  и по изотопному распределению. Кроме того, в тандемных масс-спектрах обнаруженных ионов наблюдались характерные фрагменты, соответствующие последовательному отщеплению изопренового звена, что также подтверждало принадлежность сигналов моноалкоголятам бария полипренол-гомологов. Всего было выявлено 9 полипренол-гомологов с числом изопреновых звеньев в составе от 12 до 20. По результатам анализа серии разбавлений исходного образца было установлено, что с помощью разработанного подхода полипренолы могут быть определены при концентрации 5 нг/мл и выше. Предложенный подход был апробирован при профилировании полипренолов в экстрактах из сухих листьев *Ginkgo biloba* и хвои пихты *Pseudotsuga menziesii*.

### Благодарности

Авторы выражают благодарность Ресурсному центру «Развитие молекулярных и клеточных технологий» Научного парка СПбГУ за помощь в проведении масс-спектрометрического анализа.

## МЕТАБОЛОМНОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ В ИЗУЧЕНИИ СЕПСИС-АССОЦИИРОВАННОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ

Е. Д. Кессених<sup>1\*</sup>, Е. А. Мурашко<sup>1</sup>, К. М. Быкова<sup>1</sup>, И. А. Саввина<sup>1,2</sup>  
\* e.kessenikh@gmail.com

<sup>1</sup> *Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова, 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2*

<sup>2</sup> *Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, 195067, Санкт-Петербург, Пискаревский проспект, д. 47*

Метаболомика — омиксная технология, позволяющая моделировать молекулярный фенотип здоровья и болезней. Совокупность низкомолекулярных соединений биологического образца — метаболомный профиль заболевания — позволяет объективно диагностировать заболевания и обеспечивает переход к персонализированной медицине. Хроматомасс-спектрометрия является одним из основных инструментов таких исследований.

Целью работы было проведение нецелевого метаболомного исследования образцов плазмы крови пациентов с сепсис-ассоциированной энцефалопатией с использованием обращенно-фазовой и HILIC-хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией высокого разрешения.

Сепсис-ассоциированная энцефалопатия (САЭ) — острая дисфункция головного мозга, возникающая при отсутствии первичного очага инфекции в центральной нервной системе. САЭ является тяжелым осложнением при сепсисе и причиной летальности пациентов. В настоящее время отсутствуют общепринятые клинические или биологические маркеры САЭ.

В данной работе представлены результаты пилотного одноцентрового проспективного исследования на небольшой выборке (N = 20): 10 пациентов с подтвержденным диагнозом сепсис и 10 пациентов контрольной группы, сопоставимых по возрасту, полу и сопутствующим заболеваниям. Забор крови был осуществлен на 1-е сутки госпитализации. Образцы плазмы крови были аликвотированы и хранились при  $-80^{\circ}\text{C}$ .

Образцы контроля (QC) были приготовлены путем пулирования одинаковых аликвот всех образцов, отобранных для метаболомного анализа. К аликвоте плазмы крови объемом 50 мкл добавляли ацетонитрил в соотношении 1:3 для осаждения белков, затем центрифугировали при 10 000 g в течение 10 мин. 100 мкл супернатанта было отобрано для проведения метаболомного исследования методом ВЭЖХ-МС. Хроматографическое разделение проводилось с помощью жидкостного хроматографа Elute UHPLC (Bruker Daltonics) в двух режимах с использованием колонок Intensity Solo 1.8 C18-2 100 × 2.1 mm (ОФ) и SeQuant® ZIC-cHILIC 3 um, 100 × 2.1 mm (HILIC). Детектирование метаболитов осуществляли методом масс-спектрометрии высокого разрешения с использованием времяпролетного масс-спектрометра Q-TOF Maxis Impact (Bruker Daltonics) с электрораспылительной ионизацией при атмосферном давлении. Статистическая обработка массива полученных данных проводилась с использованием онлайн-платформы Metaboanalyst 6.0, MZmine 3.

Хемометрический анализ методами дискриминантного анализа PLS-DA и OPLS-DA позволил выявить метаболиты, достоверно изменяющиеся у пациентов с САЭ по сравнению с контрольной группой. В образцах группы заболевания наблюдается нарушение окисления жирных кислот, снижение уровня длинноцепочечных ацилкарнитинов и таурина. Продолжение метаболомных исследований САЭ может способствовать формированию стратегии персонализированной интенсивной терапии и медицины критических состояний.

### **Благодарности**

Работа выполнена в рамках государственного задания «Изучение механизмов развития и разработка подходов к терапии сепсис-ассоциированной энцефалопатии на основе омиксных технологий» № 122041900090-4 в ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава РФ.

## МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЕ ИЗМЕРЕНИЯ СОСТАВА ФУМАРОЛЬНЫХ ГАЗОВ НА КОНУСАХ ТОЛБАЧИНСКОГО ДОЛА (КАМЧАТКА)

Ю. А. Титов<sup>1,\*</sup>, А. Г. Кузьмин<sup>1</sup>, А. А. Нуждаев<sup>2</sup>, Р. А. Кузнецов<sup>2</sup>, Ю. Д. Кузьмин<sup>2</sup>  
\* titov.uriy@gmail.com

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

<sup>2</sup>Институт вулканологии и сейсмологии ДВО РАН, 683006,  
Петропавловск-Камчатский, бульвар Пийпа, 9

Масс-спектрометрия является одним из мощнейших аналитических инструментов для изучения состава вещества. Она активно применяется в геологии и вулканологии. Исследования, как правило, проводятся в условиях лаборатории, однако в ряде случаев, ввиду отдаленности и сложности доступа на интересующую точку, необходимо производить аналитические измерения непосредственно на геологических объектах. Особенно это касается газовых проб, которые не всегда возможно доставить до лаборатории без изменения их состава.

В 2008 и 2009 гг. на вулкане Толбачик были проведены первые испытания масс-спектрометра МС7-100 первого поколения [1, 2]. Это был прибор для анализа газов, с масляной вакуумной откачкой, диапазоном масс — 100 а.е.м. и весом около 30 кг. В рамках текущей работы применялся модернизированный прибор следующего поколения МС — масс-спектрометр МС7-200. Это квадрупольный масс-спектрометр с электронной ионизацией, имеющий следующие параметры: диапазон массовых чисел 2–200 а.е.м., разрешающая способность 0,5–1 а.е.м., пределы обнаружения по отдельным компонентам 0,01–1 мг/м<sup>3</sup> (ppm), время регистрации отдельных примесей 0,05 сек. В нем применена безмасляная система вакуумной откачки, ввод пробы осуществляется через трехметровый прогреваемый капилляр, масса прибора составляет 13 кг.

Измерения производились на Первом и Втором конусе, а также на лавовом потоке северного прорыва Большого трещинного



Толбачинского извержения (СП БТТИ) 1975–1976 гг. [3], в зонах термальной и фумарольной активности, с 4 по 10 сентября 2024 г.

Масс-спектрометр располагался вблизи очага газовой активности, запитывался от бензинового генератора, через 5 минут после включения выходил на рабочий режим, а через 15–20 минут производились измерения состава газов, выходящих на поверхность. В некоторых случаях для нивелирования влияния ветра место сбора газа укрывалось специальным металлическим колпаком, под который помещался вход капилляра масс-спектрометра.

В результате измерений были получены следующие данные: на фумароле Ядовитая Второго конуса СП БТТИ был обнаружен сернистый газ (до 20 ppm) и гелий (до 15 ppm). На прогретых участках Первого конуса СП БТТИ были обнаружены — сернистый газ (до 5 ppm) и производные хлора. В зоне аномальной термальной активности лавового потока СП БТТИ также были обнаружены: производные хлора, в меньших концентрациях, чем на Первом конусе, и сернистый газ (до 2 ppm).

В результате проведенных исследований получены важные данные о составе фумарольных газов, а также разработан план дальнейшей модернизации прибора для его применения в условиях полевых работ и экспедиций.

### **Благодарности**

Полевые работы проведены в рамках государственного задания Института вулканологии и сейсмологии ДВО РАН «Геохимия продуктов современной вулканической и поствулканической деятельности» (FWME-2024-0013). Конструкторские работы выполнены в Институте аналитического приборостроения Российской академии наук (Санкт-Петербург) в рамках темы FFZM-2022-0009 (номер гос. регистрации 1021060908946-8-1.3.1) государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 075-00439-24-00.

### **Литература**

1. *Кузьмин Ю. Д., Кузьмин А. Г.* Масс-спектрометрический анализ состава газов на термальных площадках Камчатки в полевых услови-

ях // Проблемы комплексного геофизического мониторинга Дальнего Востока России. 2011. С. 361–366.

2. Кузьмин А. Г., Кузьмин Ю. Д. Анализ состава газов на вулканах и термальных источниках Камчатки с полевым масс-спектрометром // V съезд ВМСО. IV Всероссийская конференция с международным участием «Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы» 05–09 сент. 2011 г. Москва. С. 56.

3. Федотов С. А. Большое трещинное Толбачинское извержение. Камчатка. 1975–1976. М.: Наука, 1984. С. 637.

## **РАЗРАБОТКИ ПРИБОРОВ «ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ»**

**К. О. Климочкин**

klimochkin@dna-technology.ru

*НПО «ДНК-Технология», 142281, Московская область, г. Протвино,  
г. Серпухов, ул. Железнодорожная, 20*

Компания «ДНК-Технология» — это ведущий российский производитель оборудования и реагентов для молекулярно-генетических исследований методом ПЦР в реальном времени полного технологического цикла.

Основными направлениями деятельности компании «ДНК-Технология» являются:

- создание единых технологических решений для ПЦР-лабораторий — от плана лаборатории, поставки оборудования и реагентов до продвижения широчайшего спектра исследований, обучения сотрудников лаборатории, трактовки полученных результатов и работы с врачами-клиницистами;
- разработка и производство высокотехнологичного оборудования для проведения диагностических и научных исследований методом ПЦР;

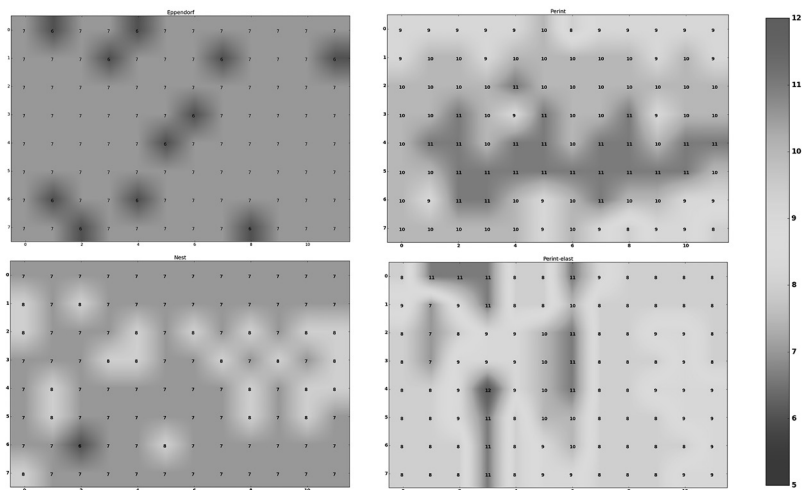


Рис. 1. Результаты сравнения теплового сопротивления планшетов 96×0,2 мл производителей Eppendorf, NEST, Perint

- производство широкого спектра реагентов для нужд клинической бактериологии, вирусологии и генодиагностики;
- производство широкого спектра реагентов для выявления ДНК инфекционных агентов сельскохозяйственных растений и диагностики генно-модифицированных организмов (ГМО);
- оказание сервисной поддержки;
- работа с врачами-клиницистами.

В части разработки приборов в НПО «ДНК-Технология» внедряются новые алгоритмы управления термоциклерами. Применение оптимизированных нелинейных скоростей позволяет повысить КПД прибора и снизить время выполнения термоциклирования.

Ведутся работы по оценке пластика для ПЦР на основе методики измерения теплового сопротивления. Данная методика позволяет интегрально оценить теплопередачу в термоцикле от матрицы к тест-системе. На рис. 1 представлены результаты сравнения теплового сопротивления планшетов 96×0,2 мл разных производителей.

## **РАЗРАБОТКА ОТЕЧЕСТВЕННОГО НАНОПОРОВОГО СЕКВЕНАТОРА «НАНОПОРУС» И РЕАГЕНТИКИ К НЕМУ**

**А. М. Ермаков**

ao\_ermakovy@rambler.ru

*ООО «Нанопорус», 142200, Московская область, г. Серпухов,  
ул. 2-я Московская, д. 6, корп. 5, помещ. 1А*

*АНО «Институт инженерной физики», 142210, Московская область,  
г. о. Серпухов, г. Серпухов, пер. Большой Ударный, д. 1А, стр. 1*

*Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290,  
Московская область, , г. Пущино, ул. Институтская, 3*

Решить принципиально проблему идентификации генетического материала возможно только с помощью высокопроизводительного секвенирования, где прочитывается нуклеотидная последовательность всех молекул РНК или ДНК в смеси из образца. Далее путем сравнения с базами данных нуклеотидных последовательностей определяется весь спектр организмов, находившихся в данной пробе, и их биологические свойства. Современные и наиболее распространенные приборы для высокопроизводительного секвенирования основываются преимущественно на оптических методах детекции нуклеотидов во время процесса биосинтеза. Результат секвенирования невозможно получить в процессе работы прибора (т. е. в реальном времени), а продолжительность анализа может занимать несколько суток. Эти приборы дорогостоящи, громоздки, пробоподготовка для процесса секвенса требует лабораторных условий, и она трудоемка, что делает невозможным ее применение в полевых условиях или необорудованных помещениях. Стоимость секвенирования с помощью этих технологий также очень высока.

Значительно от этих распространенных технологий отличается метод нанопорового секвенирования. Он базируется на принципе определения нуклеотидной последовательности на чипе, причем роль детектора выполняет биологическая нанопора на сенсоре-электроде. При проходе молекулы ДНК она генерирует токи, коррелирующие

с типом нуклеотида, который проходит в данный момент через пору. Путем декодирования этих токов с помощью искусственного интеллекта определяется нуклеотидная последовательность молекул ДНК или РНК, прошедших через поры сенсора. На основе данной технологии возможна значительная миниатюаризация приборов (т. к. нет никаких механических или оптических систем). Здесь для декодирования получаемых данных не требуется высоких вычислительных мощностей, т. к., в отличие от оптических секвенаторов, в нанопоровом длина читаемой молекулы ДНК или РНК не ограничена. Также технология позволяет крайне упростить пробоподготовку (не более 20 минут), и главное — анализ получаемых данных можно производить в условиях реального времени. В итоге, например, детекция патогена в генетическом материале занимает не более 10–15 минут, причем можно определить не только вид, но и штамм, мутации, антибиотикорезистентность и т. д. Использование этой технологии возможно в любых условиях (полевые и даже в космосе), не требуется специальной подготовки оператора. В ближайшие несколько лет эта технология полностью заменит все остальные в силу своей универсальности, простоты, эффективности, производительности и дешевизны.

В настоящее время технологией нанопорового секвенирования владеет Англия — фирма Oxford Nanopore производит коммерчески доступные приборы и расходные материалы, причем они уже достигли предела точности секвенирования, сравнимого с оптическими методами. Также в 2022 г. в Китае фирмой Qitantech был анонсирован собственный нанопоровый секвенатор, который был разработан за 4 года, а в 2024 г. фирма BGI заявила о создании нанопорового секвенатора CycloneSEQ.

ООО «Нанопорус» совместно с АНО «Институт инженерной физики» и ИТЭБ РАН выполняют инициативную работу по разработке отечественного нанопорового секвенатора и всех расходных материалов к нему. В продвижении разработки активно помогают такие организации, как Центр технологий и микрофабрикация ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России, фирмы ООО «Скайджиин» и ООО «НПФ Синтол». В ходе работ в 2023 г. на форуме «Армия 2023» был анонсирован

опытный образец нанопорового секвенатора «Нанопорус». В 2024 г. налажено производство этого прибора и выпущена в продажу первая партия. Сейчас фирмой «Нанопорус» ведутся работы по разработке наборов для подготовки библиотек, разработке собственной нанопоры и процедур регенерации секвенирующих ячеек, а также алгоритмов и собственных моделей ИИ для процедур бейзколинга. В ходе этих разработок уже достигнуты определенные результаты, показывающие реалистичность выполнения поставленных задач.

Учитывая особенности технологии нанопорового секвенирования, можно утверждать, что ее развитие в России является стратегически важной задачей как для развития передовой медицины и биологической науки, так и для обеспечения биобезопасности.

## **ИМПЕДАНСНЫЕ ЦИТОСЕНСОРЫ НА ОСНОВЕ АДАПТИВНОЙ ФИЛЬТРАЦИИ — ПРОСТЕЙШЕЙ ТЕХНОЛОГИИ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА**

Д. Д. Ступин\*, А. А. Абелит, Н. А. Бойцова

\* Stu87@yandex.ru

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

Без выдающихся достижений электроники невозможно представить современный мир, в котором приборы на ее основе прочно вошли во все сферы человеческой деятельности: от приложений в области обработки информации до решения биомедицинских задач. В частности, в последние два десятилетия большой интерес среди исследователей вызывает разработка импедансных цитосенсоров — биоэлектронных приборов, использующих живые клетки *in vitro* в качестве чувствительного элемента. Такие приборы позволяют задействовать протекающие в клетках процессы как для изучения самих

клеток, так и для тестирования с их помощью различных лекарств, для диагностики социально значимых заболеваний, для детектирования биоактивных веществ и токсических соединений и т. д. [1–3].

В настоящей работе представлена цитосенсорная технология, позволяющая исследовать одиночные клетки *in vitro* с помощью высокоразрешающей и помехоустойчивой импедансной спектроскопии на основе адаптивной фильтрации — простейшей версии искусственного интеллекта [4]. Такой измерительный подход позволяет без использования защитных экранов в режиме реального времени получать импедансные спектры покрытых клетками 30-мкм электродов с временным разрешением 500 мс и с частотным разрешением 2 Гц в диапазоне частот от 10 Гц до 40 кГц, что в свою очередь обеспечивает возможность раздельного изучения биологических, химических и физических явлений в наблюдаемых данных. Апробация предлагаемой технологии, проведенная на примерах детектирования наличия клеток вблизи электродов, а также исследования их адгезионных свойств и жизнеспособности в различных условиях позволяют сделать вывод о ее более высокой надежности и эффективности по сравнению с классическими биоимпедансными подходами, базирующимися на измерении величины Cell Index и использующими макроэлектроды в своем устройстве [1]. Мы надеемся, что результаты настоящей работы будут использованы для создания нового поколения биоэлектронных приборов, применение которых на практике внесет существенный вклад в решение актуальных задач биологии, здравоохранения и биосенсорной инженерии.

### **Благодарности**

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (А. А. Абелит, Н. А. Бойцова благодарят проект FSRM-2024-0001, Д. Д. Ступин благодарит проект FSRM-2023-005).

### **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. Vol. 7, № 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. Vol. 114, № 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. *Stupin D. D., Koniakhin S. V., Verlov N. A., Dubina M. V.* Adaptive filtering to enhance noise immunity of impedance and admittance spectroscopy: Comparison with Fourier transformation // Physical Review Applied. 2017. Vol. 7, № 5. P. 054024.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРОЧИПОВОЙ ПЦР ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ, ПРИМЕНИМЫХ ДЛЯ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ ЦЕРВИКАЛЬНЫХ ДИСПЛАЗИЙ

П. А. Локтева<sup>1,2,\*</sup>, М. С. Александрова<sup>1</sup>, А. В. Шалаев<sup>1</sup>, Р. А. Родин<sup>3</sup>,  
А. В. Малек<sup>1</sup>

\* lokteva.pa@edu.spbstu.ru

<sup>1</sup>Национальный медицинский исследовательский центр онкологии  
им. Н. Н. Петрова, 197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный,  
ул. Ленинградская, д. 68

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,  
195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, 29

<sup>3</sup>ООО «Люмэкс-маркетинг», 192029, Санкт-Петербург,  
пр. Обуховской обороны, д. 70, корп. 2, лит. Е

Рак шейки матки является одним из самых распространенных типов онкологических заболеваний среди женского населения [1]. Несмотря на успехи современной медицины, примерно в 25 % случаев



у женщин с диагнозом рак шейки матки в течение трех лет происходит рецидив заболевания или наступает летальный исход [2]. Развитию РШМ, как правило, предшествует длительное прогрессирующее цервикальной интраэпителиальной дисплазии, в большом числе случаев протекающей бессимптомно. В связи с этим крайне актуальной задачей является поиск и валидация молекулярных маркеров, которые могут быть использованы для ранней диагностики дисплазии шейки матки и профилактики РШМ.

Полимеразная цепная реакция в реальном времени (ПЦР-РВ) является удобным и широко используемым методом оценки экспрессии нуклеиновых кислот. Этот метод характеризуется высокой чувствительностью и специфичностью и находит применение в различных областях науки, включая диагностическую онкологию. В последние годы технология проведения ПЦР-РВ активно развивается, повышаются аналитические характеристики метода, а также увеличивается скорость и простота проведения анализа.

Компанией ООО «Люмэкс-маркетинг» был разработан микрочиповой амплификатор нуклеиновых кислот с детекцией флуоресцентного сигнала в режиме реального времени «АриаДНА». Данный прибор позволяет проводить полимеразную цепную реакцию в микрочипах, выполненных из материала с высокой теплопроводностью и содержащих 30–48 микрореакторов объемом 1,2 мкл. Использование технологии микрочипов для проведения ПЦР позволяет значительно сократить время проведения анализа за счет увеличения скорости нагрева и охлаждения. Кроме того, благодаря сокращению объемов реакционной смеси и, как следствие, количества дорогостоящих реагентов, необходимых для проведения реакции, процедура ПЦР становится значительно более экономичной и доступной. Неотъемлемым преимуществом прибора также является его компактность и простота программного обеспечения, что открывает широкие возможности для его применения в лабораторной практике.

С целью поиска диагностических биомаркеров был проведен анализ литературы, на основании которого были выбраны 24 потенциально маркерные молекулы мРНК для дифференциации дисплазий

шейки матки. В исследование были включены материалы цервикальных мазков, полученных от 40 женщин, проходивших лечение в НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова. Для всех исследуемых образцов было проведено цитологическое исследование клеточного материала, по результатам которого образцы были разделены на две группы. К группе здоровых доноров были отнесены образцы без интраэпителиальных поражений ( $n = 20$ ), во вторую группу вошли образцы с гистологически подтвержденным диагнозом внутриэпителиальное поражение плоского эпителия тяжелой степени ( $n = 20$ ). Из каждого биологического образца была выделена тотальная РНК, после чего в образцах была произведена оценка уровней экспрессии выбранных молекул с помощью микрочиповой ПЦР с предварительным этапом обратной транскрипции. Нормализация результатов ПЦР проводилась методом реципрокных пар [3]. Статистическая обработка экспериментальных данных осуществлялась с использованием программного обеспечения SigmaPlot 13.0.

РОС-анализ нормализованных значений ОТ-ПЦР позволил выявить 5 молекул мРНК с наиболее высоким диагностическим потенциалом. Для совместного анализа этих молекул внутри реципрокных пар характерны высокие значения чувствительности и специфичности. Оценка экспрессии панели данных молекул является перспективным методом ранней диагностики цервикальной интраэпителиальной дисплазии. Кроме того, большой интерес представляет собой разработка микрочипов с лиофилизированными ПЦР-реагентами, включающими специфические праймеры для маркерных молекул мРНК, которые в дальнейшем могут быть внедрены в широкую лабораторную практику.

### Литература

1. Злокачественные новообразования в России в 2023 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А. Д. Каприна [и др.]. М.: МНИОИ им. П. А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2024. 276 с.
2. *Siegel R. L., Miller K. D., Jemal A.* Cancer statistics, 2018 // *CA Cancer J Clin.* 2018. Vol. 68 (1). P. 7–30.

3. *Knyazeva M.* Reciprocal dysregulation of mir-146b and mir-451 contributes in malignant phenotype of follicular thyroid tumor / *M. Knyazeva, E. Korobkina, A. Karizky, M. Sorokin [et al.] // Int J Mol Sci.* 2020. Vol. 21, № 17. P. 1–17.

### **ПОИСК СОМАТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ ГЕНА *PIK3CA* МЕТОДОМ ddPCR**

**А. А. Голодушкин\***, Л. Г. Жукова, И. С. Абрамов, И. В. Баратова,  
Д. Т. Минеева, Н. А. Бодунова, Л. А. Цапкова  
\* al.golodushckin@yandex.ru

*Московский клинический научный центр им. А. С. Логинова, 111123, Москва,  
ул. Новогиреевская, 1*

Рак молочной железы — одно из самых распространенных онкологических заболеваний среди женщин. Соматические мутации играют ключевую роль в патогенезе рака и влияют на терапевтические подходы. Для раннего выявления прогрессирования заболевания, определения риска рецидива и оценки ответа на терапию используют метод жидкостной биопсии — минимально инвазивный метод, позволяющий анализировать циркулирующие опухолевые клетки и свободно циркулирующую опухолевую ДНК (cfDNA). Одним из методов поиска cfDNA является ddPCR (цифровая капельная ПЦР), который позволяет количественно измерять специфические генетические варианты в низких концентрациях и обладает высокой чувствительностью и специфичностью.

Процесс выполнения ddPCR включает выделение cfDNA из образцов крови, проведение цифровой ПЦР, анализ результатов и интерпретацию данных. Преимуществом данного метода в клинической практике является ранняя диагностика и мониторинг рецидива, индивидуализированный подход к терапии на основе генетического

профиля опухоли, потенциальное снижение необходимости в инвазивных процедурах.

В рамках данной научной работы собраны образцы крови и опухолевой ткани 30 пациенток с диагнозом раннего РМЖ, получавших неoadъювантную химиотерапию. Образцы забирались в течение 18 месяцев (~6 точек сбора). Дизайн исследования состоял из двух этапов: на первом этапе проводили поиск соматических мутаций в образцах опухолевой ткани методом NGS. На втором этапе — осуществляли поиск мутаций в образцах жидкостной биопсии методом ddPCR. От пациенток было получено суммарно 15 мл венозной крови в 6 вакуумных пробирках со стабилизатором ЭДТА К2. Далее проводили двойное центрифугирование и хранение материала при температуре  $-80^{\circ}\text{C}$ . Выделение cfDNA проводили с помощью QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit (Qiagen) согласно протоколу производителя. Измерение концентрации цодНК осуществляли на флуориметре Qubit 4 с использованием реагентов QuDye dsDNA HS Assay Kit для количественного определения двухцепочечной ДНК (0,2–100 нг) (Lumiprobe). Секвенирование проводили на платформе MG1400, панель BGI SENTIS™ Cancer+Discovery (версия ткань), 689 генов.

С целью поиска мутаций в гене *PIK3CA* нами разработаны праймеры и модифицированные олигонуклеотиды по типу TaqMan с меченым на 5' конце репортером, на 3' конце гасителем для следующих мишеней:

chr3: 179234297 (NM\_006218.4):c.3140A>G (p.His1047Arg) rs121913279  
chr3: 179218303 (NM\_006218.4):c.1633G>A (p.Glu545Lys) rs104886003|  
chr3: 179218294 (NM\_006218.4):c.1624G>A (p.Glu542Lys) rs121913273

Валидацию системы праймер/зонд проводили с помощью Real-Time PCR на CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (BioRad) с использованием контрольных образцов, несущих мутацию в исследуемых мишенях и без мутации. Далее осуществляли постановку ddPCR на платформе Massura D600 с запатентованной технологией Vibration Micro(OsciDrop®) Core Technology и амплификацией на борту прибора. Результаты постановки реакции ddPCR представлены на рис. 1.

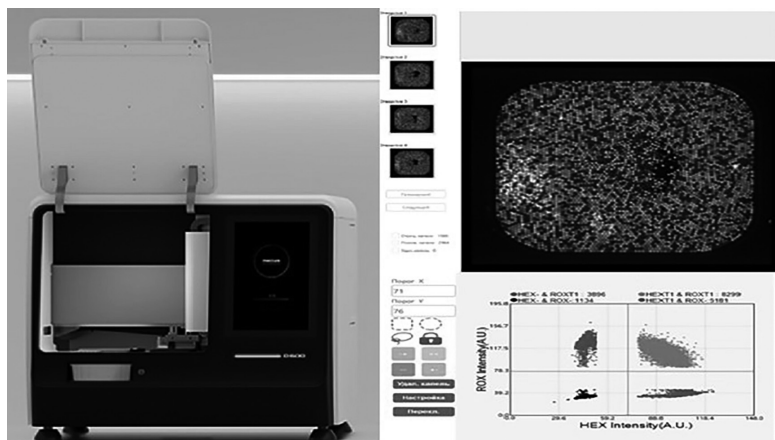


Рис. 1. Результат анализа соматической мутации варианта гена *PIK3CA* (p.Glu542Lys)

В дальнейшем планируется отработка условий амплификации и поиск редких маркеров (исходя из анализа данных NGS), валидация результатов путем постановки контрольных экспериментов с использованием других технологий цифровой амплификации и дальнейший трансфер систем ПЦР в реальном времени на системы ddPCR с использованием технологий, подразумевающих амплификацию не на борту станции.

Применение ddPCR для поиска соматических мутаций в жидкостной биопсии может изменить подход к диагностике и лечению рака молочной железы. Необходимы дополнительные клинические исследования для подтверждения эффективности метода и возможности его рутинного использования.

### Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Московского центра инновационных технологий в здравоохранении» Департамента здравоохранения г. Москвы (грант № 0309-2/22).

## ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ ИЗОТЕРМИЧЕСКОЙ АМПЛИФИКАЦИИ КОЛОНИЙ ДНК В ПРИБОРАХ МАССОВОГО ПАРАЛЛЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

М. А. Малахова<sup>1,2</sup>, В. С. Гусев<sup>3</sup>, Я. Д. Седов<sup>3</sup>, А. Д. Смирнов<sup>3</sup>,  
М. Ш. Тугушев<sup>3</sup>, В. С. Резник<sup>4</sup>, А. Н. Кобелев<sup>4</sup>, А. А. Пушкин<sup>2,4</sup>,  
А. И. Петров<sup>4</sup>, В. Е. Курочкин<sup>4</sup>, Я. И. Алексеев<sup>2,4,\*</sup>  
\* jalex@syntol.ru

<sup>1</sup>Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, 119991,  
Москва, Ленинские горы, 1, к. 3

<sup>2</sup>НПФ Синтол, 127434, Москва, ул. Тимирязевская, 42, корп. Б

<sup>3</sup>АО «Светлана-Электронприбор», 194156, Санкт-Петербург, пр. Энгельса, 27,  
лит. С, пом. 2-Н

<sup>4</sup>Институт аналитического приборостроения РАН, 198095,  
Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А

Изотермическая амплификация колоний ДНК, проходящая на поверхности микрофлюидных ячеек [1], является важнейшим этапом реализации методики массового параллельного секвенирования, определяющим качество и объем данных расшифровки последовательности амплифицированной ДНК. Для подбора оптимальных параметров изотермической амплификации ДНК колоний на поверхности микрофлюидных ячеек на приборе для массового параллельного секвенирования «Нанофор СПС» (ООО «НПФ Синтол», Россия) была определена поверхностная плотность якорных олигонуклеотидов, а также изучена динамика их амплификации.

В результате измерения интегрального сигнала флуоресценции для серии разведений растворов Су5-меченных олигонуклеотидов P5-comr/P7-comr (в диапазоне концентраций от 0,05 до 1 мкМ), закаченных в микрофлюидные ячейки производства АО «Светлана-Электронприбор» [2], на приборах Turphoon 9200 (Molecular Dynamics, США) и «Нанофор СПС» (ООО «НПФ Синтол», Россия) были построены калибровочные кривые. Используя калибровочные кривые, было установлено, что интенсивность флуоресценции

ячеек производства компании Illumina, США, соответствует объемной концентрации свободных олигонуклеотидов, равной 0,2 мкМ. Исходя из того, что толщина канала ячеек производства АО «Светлана-Электронприбор» составляет 0,11 мм, была рассчитана загрузка синтетических олигонуклеотидов P5/P7 на каждой из поверхностей микрофлюидных ячеек компании Illumina, равная 11 фмоль, или 6,6 млрд молекул P5/P7 на кв. мм. Интегральная интенсивность олигонуклеотидного «газона» на канале детекции красителя Cy5 (канал А прибора «Нанофор СПС») при времени экспозиции 15 мсек составляет в среднем 500 ОЕФ (что соответствует 6600 молекулам на кв. мкм), а выращенной в ходе 26 циклов изотермической амплификации колонии площадью 1 кв. мкм при том же времени экспозиции — 50 ОЕФ. Исходя из этого, общее количество молекул ампликона в колонии может быть оценено как 660 копий. Таким образом, эффективность амплификации в колонии, рассчитанная по формуле  $(E+1)^{26} = 660$ , составляет  $E = 28,4 \%$ . Таким образом, удвоение количества амплифицируемых в колонии молекул происходит в среднем за 3,5 цикла изотермической (при 50 °С) амплификации.

Для экспериментальной проверки полученных данных была изучена динамика роста колоний на поверхности ячеек производства Illumina и ООО «НПФ Синтол» на приборе «Нанофор СПС». Для этого после каждого цикла изотермической амплификации (50 °С) в ячейку закачивался раствор красителя PicoGreen 488, сигнал флуоресценции которого резко увеличивается при связывании с амплифицированной двуцепочечной ДНК [3], и после промывки буфером проводилось сканирование поверхности ячейки при температуре 22 °С. Полученные результаты представлены на рис. 1. Показано, что в случае как ячеек Illumina, так и ячеек ООО «НПФ Синтол» удвоение сигнала флуоресценции колонии на линейном участке роста от 1000 до 2000 ОЕФ происходит за 3,5–4 цикла амплификации, что соответствует приведенным выше расчетам.

Разработанная методика оценки динамики изотермической амплификации в реальном времени позволяет провести оптимизацию количества циклов амплификации в протоколе секвенирования путем синтеза на приборах «Нанофор СПС».

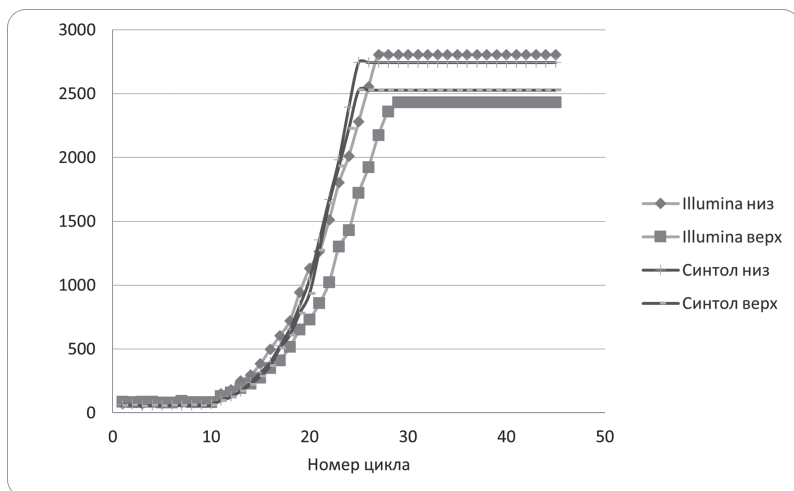


Рис. 1. Изотермические кривые амплификации колоний в реальном времени на поверхностях (верх и низ) импортных и отечественных ячеек для МПС на приборе «Нанофор СПС» (канал детекции G, время экспозиции 75 мсек)

С помощью разработанной методики планируется изучить влияние температуры амплификации, плотности покрытия олигонуклеотидным «газоном», а также ряда других параметров реакции и компонентов реакционной смеси на динамику изотермической амплификации колоний с целью увеличения объема и повышения качества данных секвенирования путем синтеза.

### Литература

1. 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.

2. Малахова М. А. и др. Разработка технологии производства микрофлюидных ячеек для массового параллельного секвенирования ДНК // Тезисы докладов Второй ежегодной всероссийской молодежной конференции по методам и приборам для анализа биологических объектов «АналитБиоПрибор-2023». 2023. С. 86–88.



3. Xiaomei Y. et al. Characteristics of Different Nucleic Acid Staining Dyes for DNA Fragment Sizing by Flow Cytometry // Anal. Chem. 1999. Vol. 71. P. 5470–5480.

## РЕГИСТРАЦИЯ ОДИНОЧНЫХ МОЛЕКУЛ ДНК С ПОМОЩЬЮ ТВЕРДОТЕЛЬНОГО НАНОПОРОВОГО SiN БИОСЕНСОРА

**Н. В. Ваулин**<sup>1,\*</sup>, П. К. Афоничева<sup>2</sup>, Д. В. Лебедев<sup>1,2</sup>, Д. А. Кириленко<sup>3</sup>,  
А. Н. Аблеев<sup>4</sup>, Ю. Д. Иванов<sup>4</sup>, А. С. Букатин<sup>1,2</sup>, И. С. Мухин<sup>1,5</sup>  
\* nikitavaylin@mail.ru

<sup>1</sup>СПбАУ РАН им. Ж. И. Алфорова, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, 8/3, лит. А

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

<sup>3</sup>ФТИ им. А. Ф. Иоффе, 194021, Санкт-Петербург, Политехническая ул., 26

<sup>4</sup>Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В. Н. Ореховича, 119121, Москва, ул. Погодинская, 10, стр. 8

<sup>5</sup>Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, 195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, 29

Структуры на основе полупроводниковых мембран с интегрированными наноразмерными отверстиями (нанопорами) являются одним из наиболее перспективных направлений развития твердотельных биологических сенсоров, применяемых для детектирования и анализа биологических соединений. Принцип действия нанопорового сенсора основан на регистрации изменений ионного тока, вызываемых прохождением (транслокацией) через пору исследуемых биомолекул. Амплитуда изменения ионного тока зависит от комплекса факторов, включающих размер, заряд и жесткость исследуемых молекул, а также поверхностный заряд стенок нанопоры. Обладая высокими сенсорными качествами, нанопоровые сенсоры представля-

ют собой передовой инструмент для анализа одиночных биомолекул, исследований конформационных свойств ДНК и активности белков [1, 2]. Данная работа посвящена отработке методики детектирования отдельных молекул ДНК различной длины с помощью одиночных SiN нанопор, а также анализу характеристик регистрируемых сигналов для дифференциации молекул ДНК по их длине.

В качестве нанопорового сенсора в работе использовались SiN мембраны толщиной 40 нм с интегрированными одиночными нанопорами диаметром  $\sim 5$  нм. Для проведения исследований была разработана измерительная электрохимическая ячейка, представляющая собой два объема электролита (cis- и trans-), соединенных между собой внутренним объемом нанопоры [3]. Измерения проводились в буферном растворе 0,1М KCl + 0,01М PBS (1:1) (pH = 7,4), с частотой 50 кГц,  $U = 300$  мВ. Исследуемыми объектами выступают двухцепочечные молекулы ДНК длиной 5000 пар оснований (п. о.) и 500 п. о. (ЗАО «СИНТОЛ») в концентрациях 1,25 нг/мкл и 3,3 нг/мкл соответственно.

При проведении измерения ионного тока через нанопору, в cis-объем добавлялись молекулы ДНК определенной длины. Под действием приложенного электрического поля, отрицательно заряженные молекулы ДНК электрофоретически двигались в trans-объем и детектировались в момент прохождения через нанопору. Отрицательный поверхностный заряд SiN формировал электроосмотический поток, направленный против движения ДНК, увеличивая время транслокации и улучшая сенсорные характеристики системы.

В ходе работы были проведены измерения с молекулами ДНК длиной 5000 п. о. и 500 п. о. В обоих случаях, после добавления ДНК, на зависимостях ионного тока от времени начинали наблюдаться короткие (1–20 мс) и большие по амплитуде ( $>10$  пА) сигналы (события транслокаций), указывающие на прохождение молекул ДНК через нанопору. Медианная продолжительность событий транслокации для ДНК 5000 п. о. составила 1,7 мс и 1,09 мс для ДНК 500 п. о. (разница 35 %). Объяснением нелинейной зависимости времени транслокации молекул от их длины может являться наличие потенциального барьера у входа в нанопору. Потенциальный барьер,

складывающийся из сил электростатического взаимодействия, электроосмотического потока и конформационных ограничений ДНК, может вносить вклад в продолжительность транслокации молекул вне зависимости от их размера.

В ходе работы была продемонстрирована возможность детектирования одиночных молекул ДНК с помощью нанопорового SiN сенсора и показана возможность дифференциации молекул ДНК по их длине с помощью анализа зарегистрированных событий транслокаций. Проведенные исследования важны для дальнейшего развития технологий нанопорового детектирования и анализа биологических объектов.

### Благодарности

Исследование поддержано Российским научным фондом (проект № 20-74-10117): формирование нанопор, экспериментальные измерения, анализ данных.

Н. В. Ваулин и И. С. Мухин благодарят за финансовую поддержку грант Министерства науки и высшего образования РФ (FSRM-2023-0007): синтез образцов с твердотельными SiN мембранами.

### Литература

1. *Bell N. A. W. et al.* Asymmetric dynamics of DNA entering and exiting a strongly confining nanopore // *Nature communications*. 2017. Vol. 8.1. P. 380.
2. *Fu J. et al.* Solid-state nanopore analysis on the conformation change of DNA polymerase I induced by a DNA substrate // *Analyst*. 2022. Vol. 147.13. P. 3087–3095.
3. *Lebedev D. V. et al.* Ultra-Low Intensity Light-Driven Ionic Conductivity through a Plasmonic Nanopore // *ACS Applied Nano Materials*. 2024. Vol. 7.14. P. 16172–16181.

## ЛАНТАНОИДЫ КАК ОСНОВА МЕТАЛЛ-АФФИННЫХ СОРБЕНТОВ В ФОРМАТЕ «ЛАБОРАТОРИЯ НА МИШЕНИ»

Я. К. Калния<sup>1,2,\*</sup>, Е. П. Подольская<sup>1</sup>, М. В. Жуков<sup>1</sup>

\* kln.yana.k@gmail.com

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

<sup>2</sup>Научно-клинический центр токсикологии им. академика С. Н. Голикова  
Федерального медико-биологического агентства, 192019, Санкт-Петербург,  
ул. Бехтерева, 1

Формат «лаборатория на мишени» представляет собой набор различных процессов, направленных на сокращение временных затрат при проведении пробоподготовки биологических проб для дальнейшего анализа методом масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (МАЛДИ МС). Основным этапом данного метода является функционализация МАЛДИ-мишени тонкими пленками стеаратов металлов, которые выступают в качестве иммобилизованных металл-аффинных сорбентов, способных образовывать специфические связи между функциональными группами целевых соединений и ионами металлов на своей поверхности.

В последнее время все больший интерес представляют сорбенты на основе элементов из ряда лантаноидов. Лантан, как наиболее доступный представитель данного класса элементов, был выбран нами для демонстрации чувствительности и специфичности подхода «лаборатория на мишени» для экстракции аддуктов глобина человека с хлорсодержащими ксенобиотиками.

В качестве анализируемого вещества был выбран пептид LLGNVLVC112VLANNFGK β-субъединицы глобина человека, модифицированный продуктами окисления диклофенака, а также модельными моно- и дихлорсодержащими соединениями алкилирующего действия.

Одним из преимуществ представленной методики является крайне малый объем (~1 мкл) затрачиваемых реагентов, что, с одной

стороны, позволяет проводить анализ в условиях дефицита аналита, а с другой стороны, дает возможность использовать в качестве сорбентов труднодоступные и дорогостоящие материалы.

Сорбционные структуры на основе стеаратов лантаноидов являются перспективными объектами для исследования. Переменная валентность данного класса элементов играет ключевую роль в их химическом поведении и взаимодействии с биологическими мишенями, такими как белки, ДНК, ферменты и другие молекулы живых организмов. Для лантаноидов в основном характерна валентность, равная 3, но некоторые из них могут иметь валентность 2 и 4. Такая вариативность валентности может сильно менять их химические свойства, включая реакционную способность и аффинность к различным лигандам. В настоящий момент лантаноиды в качестве сорбентов практически не используются в силу их дороговизны и труднодоступности, однако формат «лаборатории на мишени» позволяет эффективно оперировать даже малым количеством интересующих нас объектов, что дает нам возможность изучить такие перспективные сорбционные материалы.

В ходе работы нами были получены тонкие пленки на основе монослоев стеаратов всех представителей класса лантаноидов (за исключением прометия, в связи с его радиоактивностью). Методом МАЛДИ масс-спектрометрии была показана возможность данных элементов проявлять различную окислительную способность в рамках одного сорбента, что может позволить расширить область анализируемых компонентов; методом сканирующей электронной микроскопии была продемонстрирована структура полученного материала, состоящая из концентрических упорядоченных окружностей; волнообразный рельеф поверхности и перепад высот был исследован методом атомно-силовой микроскопии.

Таким образом, была продемонстрирована возможность функционализации МАЛДИ-мишени монослоями стеарата лантана для обогащения аддуктов глубина человека хлорсодержащими ксенобиотиками для оценки количественных аспектов данного подхода, а также изучены параметры перспективных сорбционных материалов на основе стеаратов лантаноидов.

### **Благодарности**

Выражаем благодарность ресурсному центру «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ за предоставленную возможность проведения экспериментов с использованием МАЛДИ МС.

## **АНАЛИТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ЭКСПРЕСС-ОЦЕНКИ ВОЗМОЖНОСТИ ОБРАЗОВАНИЯ МЕТАБОЛИТОВ КСЕНОБИОТИКОВ В РАМКАХ КОНЦЕПЦИИ «ЛАБОРАТОРИЯ НА МИШЕНИ»**

**А. А. Афанасьева\***, К. А. Краснов

\* afanasyeva.a.a.2000@yandex.ru

*Научно-клинический центр токсикологии им. академика С. Н. Голикова  
Федерального медико-биологического агентства, 192019, Санкт-Петербург,  
ул. Бехтерева, 1*

Токсичность, вызываемая лекарственными препаратами, является серьезной проблемой для развития фармакологии и медицины. Ксенобиотики и продукты их биотрансформации способны проявлять алкилирующие свойства, образуя аддукты с макромолекулами в организме, вызывая тем самым цитотоксическое и канцерогенное действие [1]. При разработке новых лекарственных средств одной из основных задач является исследование их метаболических путей с целью прогнозирования возможных токсических эффектов. Существует ряд подходов к моделированию биотрансформации ксенобиотиков, среди которых широкое распространение получил ферментативный метод УФ-индуцированного фотокаталитического окисления (УФ-ФКО), который обладает рядом преимуществ: высокая скорость, низкие временные и ресурсные затраты [2]. Поэтому актуальной задачей является подбор оптимальных условий проведения

УФ-ФКО. Целью исследования являлись разработка и оптимизация метода для быстрой оценки возможности образования реактивных метаболитов, в том числе и короткоживущих.

На первом этапе был проведен сравнительный анализ образцов диоксида титана ( $\text{TiO}_2$ ) с различным фазовым составом (с соотношением рутил : анатаз 100:0 %, 0:100 %, 20:80 % и 80:20 %) в качестве фотокатализатора процесса окисления ксенобиотиков, а также определение оптимального времени проведения УФ-ФКО с использованием  $\text{TiO}_2$  в качестве фотокатализатора (УФ/ $\text{TiO}_2$ -ФКО). Элементный и фазовый состав исследуемых образцов были подтверждены соответственно методами рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии и рентгенофазового анализа. Посредством сканирующей электронной микроскопии было установлено, что размеры частиц всех порошков  $\text{TiO}_2$  не превышали 1 мкм. Методом спектроскопии диффузного рассеяния света была определена ширина запрещенной зоны, вычисляемая из спектра как край поглощения коротковолновой полосы поглощения вещества.

Ранее было показано [3], что ФКО можно проводить непосредственно на поверхности матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (МАЛДИ) мишени, что значительно сокращает время работы и затраты на пробоподготовку. Также известно, что можно проводить окисление на мишени, используя в качестве фотокатализатора высушенную суспензию  $\text{TiO}_2$ . Наличие реактивных метаболитов окисляемых веществ определяли по присутствию в масс-спектрах сигналов с соответствующими значениями отношения массы к заряду ( $m/z$ ) и характерным изотопным распределением и их аддуктов с улавливающим агентом, в качестве которого был выбран глутатион (GSH). GSH — трипептид, который используется в качестве низкомолекулярной ловушки для детектирования реакционноспособных продуктов метаболизма ксенобиотиков [4].

Соответственно, был предложен следующий алгоритм проведения эксперимента:

1. Нанесение на ячейку, функционализированную  $\text{TiO}_2$ , раствора ксенобиотика индивидуально и в присутствии GSH.

2. Выдерживание мишени под лампой УФ-излучения ( $\lambda = 405$  нм).
3. Перенос раствора на соседнюю ячейку и добавление матрицы (2,5-дигидроксибензойная кислота).
4. МАЛДИ масс-спектрометрический анализ.

В качестве модельного объекта исследования для установления оптимальных условий проведения эксперимента выбрали диуретический препарат с известными свойствами — индапамид (IPM), представляющий собой галогенсодержащее соединение с молекулярной формулой  $C_{16}H_{16}ClN_3O_3S$  и  $m/z$  366,06 ( $[M+H]^+$ ).

Эксперимент проводился в соответствии с предложенной схемой. Для определения оптимального времени окисления образцы выдерживали под УФ-лампой в течение различных промежутков времени (1, 5, 10, 20, 30 и 40 минут). Полученные результаты показали, что наибольшее количество аддуктов GSH с метаболитами (как описанными в литературе, так и ранее не изученными) IPM было обнаружено при проведении УФ/ $TiO_2$ -ФКО на поверхности МАЛДИ-мишени в следующих условиях: УФ-облучение в течение 30 минут и использование в качестве катализатора нанопорошка  $TiO_2$  с соотношением полиморфных модификаций рутил : анатаз = 80:20 %. Стоит отметить, что оптимальная длина волны поглощаемого излучения выбранного катализатора также наиболее приближена к длине волны излучения используемой УФ-лампы.

Для апробации методики были выбраны вещества, информация о метаболизме которых отсутствует: *n*-холинолитик *N,N*-диэтил-5,5-дифенил-2-пентиламина гидрохлорид (PDF) с молекулярной формулой  $C_{21}H_{25}N$  и  $m/z$  292,21 ( $[M+H]^+$ ) и потенциальное лекарственное средство 3-(4-хлорфенил)-6-этил-7-гидрокси-5H-[1,3]тиазоло[3,2-*a*]-пиримидин-5-он (КЛС) с молекулярной формулой  $C_{14}H_{11}ClN_2O_2S$  и  $m/z$  307,03 ( $[M+H]^+$ ).

Для исследования использовалась описанная ранее методика с учетом выбранных в процессе оптимизации параметров. В результате анализа в масс-спектрах окисленных индивидуально и в присутствии GSH PDF и КЛС был обнаружен ряд сигналов, соответствующих потенциальным метаболитам исследуемых веществ и их аддуктам с GSH.



Таким образом, УФ/TiO<sub>2</sub>-ФКО на поверхности МАЛДИ-мишени с последующим масс-спектрометрическим анализом позволяет проводить быструю оценку образования реактивных метаболитов ксенобиотиков, в том числе короткоживущих, благодаря объединению нескольких стадий эксперимента. Усовершенствование этой методики может способствовать созданию эффективного предварительного этапа оценки токсичности лекарственных средств.

### Благодарности

Работа выполнена в рамках государственного контракта № 2124 38810012200000000000/64.020.21.9 от 02.11.2021 «Разработка новых средств антидотной терапии токсического отека легких» (шифр «Туман»).

Авторы выражают благодарность ресурсным центрам Научного парка СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий» и «Центр геоэкологических исследований и моделирования (Геомодель)» за техническую помощь.

### Литература

1. Савельева Е. И., Корягина Н. Л., Орлова О. И. Определение аддуктов отравляющих веществ с биомолекулами как биомаркеров экспозиции/эффекта // Медицина экстремальных ситуаций. 2018. Т. 20, № 3. С. 451–453.
2. Hynjoo L., Wonyong C. Photocatalytic oxidation of arsenite in TiO<sub>2</sub> suspension: kinetics and mechanisms // Environmental Science & Technology. 2002. Vol. 17. P. 3872–3878.
3. Gorbunov A., Bardin A., Ilyushonok S., Kovach J., Petrenko A., Sukhodolov N., Krasnov K., Krasnov N., Zorin I., Osbornev A., Radilov A., Podolskaya E. Multiwell photocatalytic microreactor device integrating drug biotransformation modeling and sample preparation on a MALDI target // Microchemical Journal. 2022. Vol. 178, article № 107362.
4. Gavlik M., Skibiński R., Trawiński J. et al. Photocatalysis combined with chromatographic methods as a new promising tool in drug metabolism studies (a review) // Acta Chromatographica. 2018. Vol. 30, № 1. P. 1–8.

---

## ПРИМЕНЕНИЕ УСТАНОВКИ МИКРОДИСПЕРСНОГО ЭЛЕКТРОРАСПЫЛЕНИЯ ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ МЕТАБОЛИЗМА ДИКЛОФЕНАКА

С. К. Ильюшенок\*, М. З. Мурадымов, Е. К. Подольская

\* ilushonoksem@gmail.com

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

Фармацевтическая промышленность продолжает стремительно развиваться, и исследование биотрансформации лекарственных средств становится критически важным этапом в их разработке. Это особенно важно в условиях постоянного роста спроса на новые лекарства и необходимости индивидуализированного подхода к лечению пациентов. Изучение метаболизма лекарственных средств позволяет не только определять точные дозировки препаратов, но и минимизировать риск возникновения побочных эффектов [1]. Метаболизм лекарственных соединений происходит в печени, где образуются метаболиты, часть из которых обладают реакционной способностью и способны связываться с белками, что, как следствие, может привести к потере их функций [2]. Многие годы диклофенак является удачной моделью для разработки подходов при исследовании биотрансформации ксенобиотиков. На его примере демонстрируют, как окислительный метаболизм может привести к образованию аддуктов с пептидными и белковыми молекулами [3].

Для моделирования метаболизма диклофенака используются различные методы: микросомальное окисление, электрохимическое окисление (ЭХО), фотокаталитическое окисление и перекисное окисление [4–6]. Несмотря на преимущества новых подходов, таких как электрохимическое окисление и фотокаталитическое окисление с использованием диоксида титана, они сталкиваются с проблемами. К ним относятся высокая стоимость реактивов, необходимость в сложной пробоподготовке и длительное время анализа. Эти недостатки подчеркивают необходимость разработки более эффективных

методов. При этом перекисное окисление, которое представляется как наиболее простой и эффективный метод моделирования, из всех перечисленных наименее изучен.

В рамках данной работы продемонстрировано, что использование установки микродисперсного электрораспыления (МЭР) в сочетании с перекисным окислением позволяет эффективно получать продукты метаболизма диклофенака первой и второй стадии. Перекисное окисление проходило в присутствии перекиси водорода в сочетании с медным катализатором, который способствовал образованию гидроксильных радикалов, активно реагирующих с молекулами диклофенака. Использование установки МЭР значительно ускорило процесс моделирования по сравнению с традиционными методами, позволяя параллельно процессу окисления осаждать и фиксировать образующиеся продукты на поверхности ЛДИ-мишени для последующего ПАЛДИ масс-спектрометрического анализа, если моделирование проводить в присутствии наночастиц  $\text{TiO}_2$ . В этом случае напыленные частицы служат эмиттером ионов при ПАЛДИ МС анализе.

Полученные результаты открывают новые горизонты для более быстрого и точного анализа продуктов биотрансформации лекарственных средств. Разработка и внедрение данного метода может значительно ускорить процесс оценки токсичности фармацевтических препаратов. Таким образом, применение установки микродисперсного электрораспыления для перекисного окисления представляет собой значительный шаг вперед в области исследования биотрансформации лекарств.

### Литература

1. *Zhang Z., Tang W.* Drug metabolism in drug discovery and development // *Acta Pharm. Sin.* B. 2018. Vol. 8, № 5. P. 721–732.
2. *Johnson W. W.* Many drugs and phytochemicals can be activated to biological reactive intermediates // *J. Curr Drug Metab.* 2008. Vol. 9, № 4. P. 344–351.
3. *Gorbunov A. Yu., Krasnov K. A., Bardin A. A., Keltsieva O. A., Babakov V. N., Podolskaya E. P.*  $\text{TiO}_2$ -modified MALDI target for in vitro

modeling of the oxidative biotransformation of diclofenac // J. Mendeleev Communications. 2020. Vol. 30, № 2. P. 220–222.

4. *Faber H., Vogel M., Karst U.* Electrochemistry/mass spectrometry as a tool in metabolism studies — a review // *Analytica Chimica Acta*. 2014. Vol. 834. P. 9–21.

5. *Gladchuk A. S., Gorbunov A. Y., Keltsieva O. A., Ilyushonok S. K., Babakov V. N., Shilovskikh V. V., Kolonitskii P. D., Stepashkin N. A., Soboleva A., Muradymov M. Z., Krasnov N. V., Sukhodolov N. G., Selyutin A. A., Frolov A. K., Podolskaya E. P.* Coating of a MALDI target with metal oxide nanoparticles by droplet-free electrospraying A versatile tool for in situ enrichment of human globin adducts of halogen-containing drug metabolites // *Microchemical Journal*. 2023. Vol. 191. P. 108708.

6. *Qiu B., Zhou X., Li W., Zhu H., Yu L., Yuan C., Wang S.* A magnetically induced self-assembly of Ru@Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/rGO cathode for diclofenac degradation in electro-Fenton process // *Environmental Research*. 2024. Vol. 242. P. 117781.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕЛЕПОТЕНЦИОСТАТА ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ФОРМИРОВАНИЯ УСЛОВНОГО РЕФЛЕКСА

**Н. С. Пестерева<sup>1,\*</sup>**, Д. С. Трактиров<sup>1</sup>, Р. Д. Черкасова<sup>2</sup>, В. В. Сизов<sup>1</sup>  
\* pesterevans@yandex.ru

<sup>1</sup>*Институт экспериментальной медицины, 197022, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12*

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

Основным инструментом, используемым в физиологических исследованиях, являются поведенческие тесты. Распространено тестирование когнитивных способностей, в частности, обучаемости. Реакция на боль является наиболее консервативным биологическим

рефлексом [1], поэтому тест УРАИ широко используется при исследовании памяти и способности к обучению. Мы предлагаем безболезненную альтернативу стандартной челночной камере, применяемой в тесте УРАИ, — минисурдокамеру (патент на полезную модель № 218600). Минисурдокамера — цилиндрическая звуко-светонепроницаемая камера, отсутствие углов дает возможность экспериментальному животному передвигаться по установке дольше по сравнению с прямоугольной формой, т. к. симметрия в форме не позволяет оставаться в углу. Благодаря круглой форме крысы внутри не будут чувствовать разницу между разными положениями в камере. Установка позволяет проверять слуховую систему животного (тест «акустический стимул») на частотах 20–20 000 Гц, фиксировать оптимальную температуру для животного, а также выставлять заранее заданную освещенность. В частности, возможно создавать градиент освещенности внутри камеры в диапазоне 3–300 люкс. Главное преимущество установки — в автоматическом определении положения животного внутри кольцевой камеры с помощью ПО, что позволяет оценить общую локомоцию, а также отследить ответную реакцию на звуковые/световые/воздушные стимулы без личного вмешательства исследователя.

Для расширения возможностей использования минисурдокамеры на голову экспериментальному животному прикрепляется модуль, содержащий потенциостат, стимулятор, акселерометр, блок приема-передачи и блок питания. Акселерометр позволяет определять значения угла наклона головы экспериментального животного. При вживлении стимулирующего электрода данный модуль может быть использован для изучения самостимуляции, также для предъявления положительного подкрепления. Данный модуль оснащен электрохимической ячейкой с двумя электродами: микроэлектрод, состоящий из угольного волокна, и наноэлектрод из хлорида серебра (I). Это позволяет измерять концентрацию биогенных моноаминов *in vivo*, точность может достигать до наномолей.

Первый этап эксперимента: крыса ( $n = 9$ ) помещалась в минисурдокамеру, подавали продолжительный отрицательный звуковой стимул (3 с), чтобы он прекратился — животному было необходимо

переместиться на 10 см в любую сторону относительно своего положения. Если в течение 6 секунд животное не сдвигалось со своего места, то на него начинали действовать потоки воздуха, которых оно точно будет избегать, тем самым передвигаясь по кольцевой камере и отключая отрицательный звуковой сигнал. За каждую правильную попытку — движение на 10 см после начала звукового импульса, но до начала воздушных потоков — крыса получала стимулирующий ток (рассчитанный индивидуально) непосредственно в вентральную область покрывки (через вживленный стимулирующий электрод), что является положительным подкреплением. Вторым этапом исследовалась самостимуляция. Для получения стимула крыса должна была поднять голову на 30 градусов, однако не чаще 1 раза в секунду.

Было показано, что к 7-му дню процент успешных попыток достиг  $92,5 \% \pm 8,1$ . Наибольший положительный скачок произошел с 4 на 5 день, количество успешных попыток возросло на 25 %.

В опытах по самостимуляции был детектирован интересный эффект: наиболее редкими интервалами между самостимуляциями оказались 1,3 с и 1,4 с (разрешающая способность 100 мс).

### **Благодарности**

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 24-75-00036).

### **Литература**

1. *McDannald M. A. Pavlovian Fear Conditioning Is More than You Think It Is // J Neurosci. 2023. Nov 29. Vol. 43 (48). P. 8079–8087.*

## **РАЗРАБОТКА СУБРЕАГЕРЦОВЫХ ГИРОТРОНОВ ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЛОЖЕНИЙ**

**С. П. Тарадаев\***, Е. П. Тарадаев, Г. Г. Соминский

\* Sergio.tardv@gmail.com

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

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) с динамической поляризацией ядер (DNP-NMR) [1] является одной из наиболее востребованных и информативных методик для исследования структур и динамики биомолекул. Этот метод значительно повышает отношение сигнал/шум по сравнению с традиционными методами ЯМР [2], что позволяет существенно сократить время измерений и повысить точность анализа сложных биологических систем. DNP-NMR особенно эффективен при изучении больших белковых комплексов, мембранных белков и других молекул, которые обычно трудно исследовать с помощью классических подходов ЯМР из-за их низкой концентрации или медленной динамики.

В основе метода лежит перенос поляризации от электронов к ядрам под воздействием сверхвысокочастотного (СВЧ) излучения, что увеличивает чувствительность ЯМР в несколько раз. Для создания необходимого СВЧ-излучения в установках DNP-NMR используются высокостабильные источники излучения субмиллиметрового диапазона мощностью несколько десятков ватт на частотах электронно-спинового резонанса (263, 394, 460 ГГц и т. д.), соответствующих частотам ионно-спинового резонанса  $H_1$  в ЯМР-спектрометрах (400; 600 МГц и т. д.) [3].

В настоящий момент гиротроны являются наиболее эффективными источниками СВЧ-излучения субтерагерцового диапазона частот. Активной средой в таких приборах является кольцевой в сечении электронный поток. Для формирования электронных потоков традиционно используются электронные пушки с термокатодами. Однако использование термокатодов затрудняет эксплуатацию таких

коротковолновых приборов малого размера, т. к. термокатоды требуют накала и не позволяют им работать безынерционно. Кроме того, нагрев вызывает изменение геометрических размеров самого прибора и, как следствие, вызывает и уход характеристик излучения.

В гиротронах умеренной мощности представляется перспективной замена термокатодов на холодные и безынерционные полевые эмиттеры. В лаборатории сильноточной и СВЧ электроники СПбПУ ведутся работы по разработке полевых эмиттеров и электронно-оптических систем (ЭОС) [4–5] для электронно-пучковых приборов. Разработанные полевые эмиттеры способны обеспечить токи эмиссии свыше 50 мА и стабильно работают в условиях технического вакуума. Совместно с сотрудниками из ИПФ РАН (Нижний Новгород) ведутся работы над созданием гиротронов с такими ЭОС [6–7].

В докладе будут освещены последние результаты по созданию диагностического гиротрона, оснащенного ЭОС с многоострийным полевым эмиттером, в СПбПУ.

### Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-29-00224).

### Литература

1. *Shibuya T., Kawase K.* Terahertz applications in tomographic imaging and material spectroscopy: A review // Handbook of Terahertz Technology for Imaging, Sensing and Communications; Woodhead Publishing Series in Electronic and Optical Materials: Number 34; Saeedkia, D., Ed.; Woodhead Publishing Limited: Cambridge, UK, 2013. P. 493–546.
2. *Becerra L. R., Gerfen G. J.* Temkin Nuclear Polarization with a Cyclotron Resonance Maser at 5 // T. Phys. Rev. Lett. 1993. Vol. 71. P. 3561–3564.
3. *Запевалов В. Е.* Эволюция гиротронов // Известия высших учебных заведений. Радиофизика. 2011. Т. 54, № 8–9. С. 559–572.
4. *Gordeev S. et al.* Electron Flows Formed by Electron-Optical Systems Using Composite Field Emitters Made of Thermally Expanded Graphite



and Diamond-Graphite Mixtures // IEEE Transactions on Electron Devices. 2023. Vol. 70, № 10. P. 5348–5352.

5. *Taradaev E., Sominskii G.* Characteristics of an Annular Electron Flow Formed by an Electron Gun with a Field Emitter // IEEE Transactions on Electron Devices. 2022. Vol. 69, № 5. P. 2675–2679.

6. *Sominskii G. et al.* Formation of an Annular Electron Beam for Subterahertz Gyrotrons Using an Electron-Optical System With a Multitip Field Emitter // IEEE Transactions on Electron Devices. 2024.

7. *Glyavin M., Manuilov V., Taradaev E., Sominskii G., Fokin A., Sedov A.* Design of a pulsed 0.5 THz gyrotron and preliminary test of its electron gun with field emitter // Infrared Physics & Technology. 2020. Vol. 111. P. 103480.

## **ИССЛЕДОВАНИЕ АППРОКСИМИРУЮЩЕГО ПОЛИНОМА ДЛЯ ЭЛЕКТРОКАРДИОСИГНАЛОВ СВЕРХВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ**

**Е. А. Денисова\***, А. А. Кордюкова  
\* tiranderel@yandex.ru

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

Электрокардиография (ЭКГ) является наиболее распространенным методом для выявления признаков ишемической болезни сердца, однако существующие методы ЭКГ могут обнаружить маркеры заболевания только в поздних стадиях его развития [1]. По этой причине ведется активная разработка нового метода электрокардиографии сверхвысокого разрешения (ЭКГ СВР). Он направлен на анализ тонкой структуры электрокардиосигналов сверхвысокого разрешения (ЭКС СВР) с целью выявления и регистрации патологических изменений в сердечно-сосудистой системе в областях обработки

ЭКС, которые считаются артефактами [2]. Расширение амплитудного и частотного диапазонов было достигнуто с помощью 16-разрядного аналого-цифрового преобразователя с частотой дискретизации 6250 Гц, а также выполнением условия эффективного использования его динамического диапазона. Для этого был разработан метод двухканальной регистрации ЭКС, позволивший разделить сигнал на низкочастотные (НЧ) и высокочастотные (ВЧ) составляющие. Данные исследования проводятся в лаборатории «Радио- и оптоэлектронных приборов ранней диагностики патологий живых систем» № 235 Института аналитического приборостроения РАН в городе Санкт-Петербурге.

В Институте экспериментальной медицины Национального медицинского исследовательского центра имени В. А. Алмазова проводится апробация метода ЭКГ СВР при исследованиях, заключающихся в создании сердечной непроходимости у экспериментальных животных (крыс). Полученные в ходе экспериментов записи включают три этапа: стабилизацию, ишемию и реперфузию. Основным показателем начала этапа «ишемия» является резкое снижение средней мощности спектра ЭКС СВР [3]. Однако анализ спектра представляет собой сложную задачу из-за внешних помех и неоднозначности интерпретации результатов. В данной работе описан алгоритм, который вычисляет коэффициенты полинома для аппроксимации огибающей спектра ЭКС СВР. Использование аппроксимации как научного метода позволяет изучать числовые и качественные характеристики объектов, сводя задачу к изучению более удобных объектов, таких как те, у которых характеристики легко вычисляются или свойства уже известны. В контексте анализа ЭКГ СВР этот метод помогает удалить шум из данных, упростить интерпретацию и выявить скрытые зависимости [4].

Сигнал, полученный из ВЧ-канала, регистрируется в частотном диапазоне от 100 до 2000 Гц, поэтому в последующем анализе используется только данный частотный диапазон [5]. Для устранения из анализа гармоник, амплитуда которых искажает форму спектра, производится их замена на соответствующие значения из скользящего среднего. Данный алгоритм повторяется, пока в анализируемом

спектре не останется гармоник, не укладывающихся в общую логику. По полученным значениям скользящего среднего строится огибающая спектра с помощью функции `find_peaks_cwt`. Суть данной функции заключается в сглаживании вектора путем свертки его с помощью вейвлета для каждой ширины в диапазоне от 1 до 9. В результате функция выделяет относительные максимумы, которые появляются на достаточном масштабе длины и с достаточно высоким отношением сигнал/шум [6]. На основе полученных данных строится модель линейной регрессии с помощью `smf.ols` (Ordinary Least Squares) из

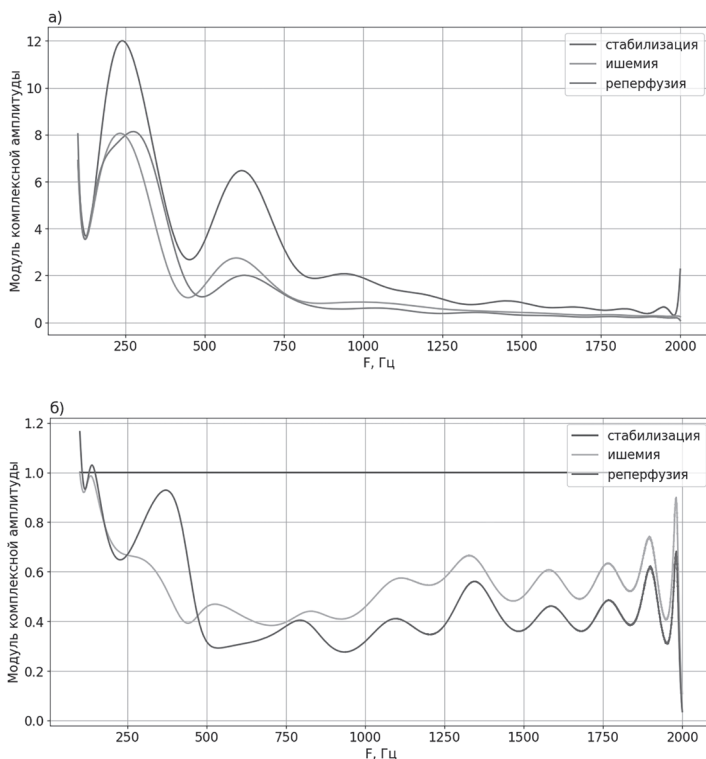


Рис. 1. *a* — сравнение формы огибающих спектра ЭКС СВР на разных этапах эксперимента; *b* — изменение формы огибающей спектра относительно нормальной

библиотеки statsmodels [7]. Прогнозируемые значения рассчитываются с помощью обученной модели на данных из исходного, необработанного сигнала.

На рис. 1, *а*, представлено сравнение формы огибающих спектра ЭКС СВР на разных этапах эксперимента, а на рис. 1, *б*, показано изменение формы огибающих спектра относительно нормальной, т. е. относительно формы спектра ЭКС СВР крысы после начала этапа «стабилизация».

Исходя из полученных зависимостей, можно сделать вывод, что на этапе «ишемия» наблюдается падение мощности спектра на всем анализируемом частотном диапазоне, что подтверждает гипотезу, описанную в [3]. Однако наиболее значимые изменения проявляются от 400 до 800 Гц. На этапе реперфузии наблюдается рост мощности спектра относительно этапа «ишемия». Помимо этого, в диапазоне от 250 до 500 Гц наблюдается значительный рост значений амплитуд спектра.

Таким образом, в рамках данной работы были представлены анализ и результаты, полученные при разработке и апробации алгоритма для вычисления коэффициентов полинома, используемого для аппроксимации спектра огибающей ЭКС, полученных методом ЭКГ СВР в контексте экспериментальных исследований, связанных с искусственно вызванной ишемией миокарда у подопытных крыс. Алгоритм расчета коэффициентов полинома для аппроксимации огибающей спектра позволил эффективно анализировать динамику изменений спектра ЭКС СВР и выявить значимые характеристики сигнала в условиях ишемии и реперфузии. Результаты исследования свидетельствуют о перспективности ЭКГ СВР для ранней диагностики сердечных заболеваний, включая выявление патологий на ранних стадиях развития.

### **Благодарности**

Работа поддержана Минобрнауки РФ, номер гос. регистрации 122032300151-6, тема № FZZM-2024-0011.

### Литература

1. *Gulyaev Y., Zaichenko K.* Ultra-high resolution electrocardiography. Tasks. Problems. The prospects // Biomedical radioelectronics. 2013. № 9. P. 5–15.
2. *Zaichenko K., Gurevich B., Kordyukova A.* Method of Reliable Electrocardiographic Control of Ischemia Appearance in Investigations with Experimental Animals // IEEE Xplore library. 2021. Vol. 13, № 14. P. 0078–008.
3. *Zaichenko K., Kordyukova A., Logachev E., Luchkova M.* Application of Radar Techniques of Signal Processing for Ultra-High Resolution Electrocardiography // Biomedical Engineering. 2019. Vol. 1, № 55. P. 31–35.
4. *Jurko Š., Rosinaj G.* High Resolution of the ECG Signal by Polynomial Approximation // Radioengineering. 2006. Vol. 15, № 1. P. 32–37.
5. *Zaichenko K., Afanasenko A., Kordyukova A., Denisova E., Sevakov D., Logachev E.* Application of a Pre-processing Algorithm for Ultra-high resolution Electrocardiosignals // Physics and Mathematics. 2023. Vol. 16, № 3.2. P. 307–311.
6. Pandas — Python. pandas.Series.rolling — pandas 2.2.2 documentation — PyData. URL: <https://pandas.pydata.org/pandas-docs/stable/reference/api/pandas.Series.rolling.html> (дата обращения: 03.09.2024).
7. *Johansson R.* Statistical Modeling. Berkeley, CA: Apress Numerical Python, 2024. 364 p.

## ИМПОРТОЗАМЕЩЕНИЕ В НАУЧНОМ ПРИБОРОСТРОЕНИИ ДЛЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ. КАКОВЫ ПРИОРИТЕТЫ?

**Е. Н. Имянитов**  
evgeny@imyanitov.spb.ru

*Национальный медицинский исследовательский центр онкологии  
им. Н. Н. Петрова, 197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный,  
ул. Ленинградская, 68*

Осуществление научных исследований в России находится в настоящее время на этапе перехода в новую парадигму. Для ответа на вопрос: «Каковы приоритеты?» необходимо сначала ответить на несколько вспомогательных вопросов.

Вопрос первый: зачем?

Российская Федерация обладает колоссальным, во многом недооцененным технологическим потенциалом. Процессы глобальной интеграции привели к тому, что доступность импортного лабораторного оборудования, которое, несомненно, отличается стабильностью качества и высокой степенью адаптации к конечному пользователю, полностью лишила мотивации отечественных разработчиков аналогичных инструментов. Актуальность импортозамещения стала очевидной на фоне санкций. Поддержка приборов западного производства после введения санкций делает работу на них недостаточно предсказуемой. Сроки, возможность поставки реагентов, сервис, обновление программного обеспечения (ПО) — все это вопросы, ответы на которые могут претерпевать существенные изменения во времени и зависящие от ситуации. И в клинической медицине, и в научных исследованиях делать ставку на работу в подобном стиле недопустимо.

Важным драйвером разработки новых приборов является неуклонный рост рынка молекулярно-генетических исследований, требующий более производительных и объект-ориентированных решений. Существенно, что необходимо ставить вопрос не только об импортозамещении, но и об освоении рынков ближнего и дальнего зарубежья.

Таким образом, вопрос необходимости восстановления отечественного производства лабораторного оборудования очевиден.

Следующий вопрос: как этого достичь?

Наиболее очевидным решением представляется обратный инжиниринг, или копирование известных решений. Однако разумным представляется попытка копирования через анализ достоинств и недостатков имеющихся решений с целью реализации наиболее удобных и поэтому более популярных на рынке вариантов. Оптимальным является ведение разработок при участии или, лучше, с главенством

профильных клинических и научно-исследовательских институтов, где сосредоточены специалисты, понимание, опыт, клинический материал. Это с самого начала разработок гарантирует создание решения, максимально приближенного к чаяниям и требованиям рынка.

Следующий вопрос: какие риски?

Важным элементом риска представляется отсутствие отечественной компонентной базы — микросхем, двигателей, оптических компонентов и др. Сейчас вопрос стоит так — поиск «серых» путей поставок из-за рубежа vs разработка собственных решений. Очевидно, второй вариант представляется более разумным, но, одновременно, более дорогим и долгим в реализации (оправдан при серийном производстве).

Конъюнктура рынка — надо быть готовыми к появлению альтернативных, более эффективных решений. Поэтому анализ рынка должен вестись на постоянной основе, а в реализуемые при создании оборудования схемы и технологии должны быть заложены опережающие решения.

Следующий вопрос — какие на сегодня преимущества у отечественных разработчиков?

Во-первых, пока еще свободный рынок РФ и дружественных стран, где нашими преимуществами могут являться быстрый сервис и доступные (при сопоставимом качестве) цены. Экспорт — обязательная цель разработок. Рынок РФ достаточно мал и может не окупить сделанных в разработку вложений.

Во-вторых, в России, в силу исторически сложившейся ситуации, доминируют небольшие компании-производители, которые, при условии кооперации усилий с другими разработчиками, могут добиться реализации более полного, чем у западных и восточных конкурентов, портфеля решений.

Вопрос — что нужно лабораториям, осуществляющим клинические молекулярно-генетические исследования?

1. Полногеномные секвенаторы ДНК производительностью 250GB за запуск.

2. Современные приборы для выполнения ПЦР в режиме реального времени, не уступающие по своим характеристикам продукции компаний BioRad, Roche и т. д.

3. Системы цифровой капельной ПЦР.
4. Приборы для пиросеквенирования.
5. Мелкое настольное оборудование, которое ранее поставлялось компанией Biosan.
6. Автоматические синтезаторы ДНК с производительностью 20–200 тысяч олигонуклеотидов за запуск.
7. Спектрофотометры.
8. Центрифуги высокоскоростные, в том числе плашечные, с охлаждением и без.
9. Дозаторы — ручные и автоматические станции дозирования разной производительности.
10. Расходные материалы — пробирки разного объема и плашки, наконечники на разный объем дозирования с фильтрами и без, флаконы и пр.

Вопрос — какие меры поддержки могли бы способствовать развитию рынка отечественных научных приборов?

Хорошо зарекомендовала себя программа обновления приборного парка научных организаций за счет квотирования закупок отечественных приборов. Необходимо продолжить эту целевую поддержку производителей научного оборудования. Также нужно активно расширять грантовую поддержку через фонды — РНФ, Фонд содействия инновациям. Для эффективного продвижения российских производителей на рынки дружественных стран необходима более активная экспортная поддержка Минпромторга.



## **ТЕНДЕНЦИИ РАЗВИТИЯ ТЕХНОЛОГИЙ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ, ВЫЯВЛЕННЫЕ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА НАИБОЛЕЕ РЕЛЕВАНТНЫХ ПАТЕНТНЫХ ДОКУМЕНТОВ**

Д. А. Белов\*, А. А. Пушкин, Я. И. Алексеев  
\* belov.da@list.ru

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

В наши дни продолжается бурное развитие генетических технологий, связанных с исследованием функций и структуры генов и организации генома организмов в целом. Одной из наиболее эффективных технологий генетического анализа является высокопроизводительное секвенирование (NGS) — группа методов, позволяющих с высокой производительностью определять нуклеотидную последовательность для получения формального описания первичной структуры молекул ДНК и РНК. Стремительный прогресс в производительности технологий NGS позволил колоссально снизить стоимость и повысить информативность исследований, сделав их рутинными в ряде приложений.

Несмотря на достигнутые значительные успехи, развитие технологий NGS продолжается, т. к. сохраняется огромный потенциал для их применения в различных областях. Актуальным является выявление наиболее перспективных направлений их развития. Традиционным инструментом анализа развития технологий является анализ патентных документов [1]. В настоящей работе предложено в качестве документов, наиболее релевантных для анализа, рассматривать патенты ведущих компаний отрасли, зарегистрированных в наибольшем количестве патентных ведомств различных стран за последние 5 лет. Анализировались патенты следующих компаний: Illumina, Oxford Nanopore Technologies (ONT), Thermo Fisher Scientific, Pacific Biosciences (PacBio), BGI Genomics, Bio-Rad Laboratories, Qiagen, Roche и Agilent Technologies.

Для оценки динамики развития технологий NGS сформирована выборка патентных документов в поисковой системе ВОИС (WIPO) с использованием поискового образа: DP:([01.01.2017 TO 01.10.2024]) AND AB:( («DNA» OR «nucleic acid» OR «RNA») AND («detect\*» OR «sequencing») ANDNOT AB:( «microarray» OR «CRISPR» OR «Mass spectromet\*» OR «water quality» OR «sanger» OR «capillary electrophoresis») AND IC:(C12Q1/68 OR G01N21).

Полученные результаты, приведенные на рис. 1, показали ежегодный прирост количества патентных документов в 2017–2021 гг., что свидетельствует об устойчивом развитии технологий NGS. Уменьшение количества документов в 2022 г., вероятно, связано с пандемией COVID-19, в 2024 г. — со временем актуализации баз данных и временем рассмотрения патентных заявок и не говорит об изменении растущего тренда.

Анализ наиболее релевантных документов позволил выявить следующие тенденции в дальнейшем развитии технологий NGS:

1. Приборы будут становиться все более портативными, в частности, за счет интеграции систем детектирования в одноразовые чипы, как это уже реализовано на приборах iSeq (Illumina) и Sequel (PacBio). Это позволит значительно снизить стоимость и габариты

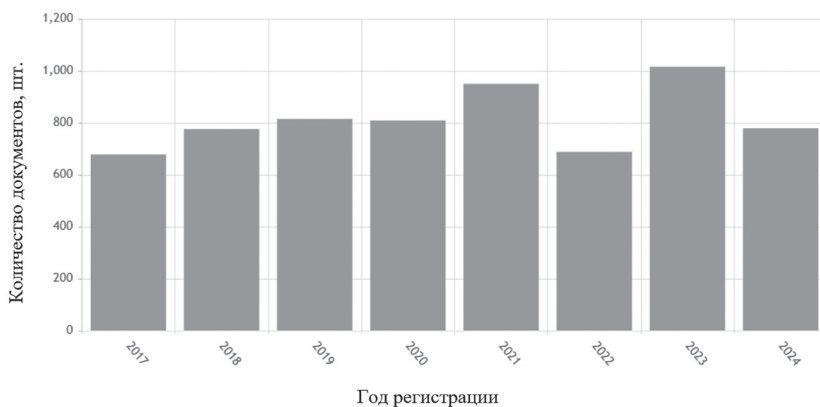


Рис. 1. Динамика патентования в области высокопроизводительного секвенирования

приборов и колоссально расширить перечень областей их рутинного применения.

2. Ожидается создание новых технологий NGS, которые обладают: высокой скоростью, дешевизной, точностью и возможностью работы с одиночными копиями нативных нуклеиновых кислот. Эти технологии могут быть реализованы с помощью использования одностенных нанотрубок, нанопор, плазмонных структур, высокочувствительных датчиков магнитного поля, значений pH и др.

3. Вероятным является появление технологий одномолекулярного секвенирования на уровне единичных клеток. Уже сейчас компания PacBio предложила набор MAS-seq для одноклеточного ISO-seq, а ONT недавно объявила о сотрудничестве с 10X Genomics для объединения одномолекулярного секвенирования с одноклеточным и пространственным транскриптомными анализами.

4. Для некоторых платформ NGS потребуется меньшее количество исходной пробы и реагентов, их объем сократится до зепто ( $10^{-21}$ ) литров и даже нескольких молекул.

5. Сборка полных геномов значительно ограничена, в частности, из-за геномных повторов, делеций, инсерций и альтернативного сплайсинга. Предполагается развитие вспомогательных методов, таких как высокопроизводительный захват конформации хромосом (Hi-C), секвенирование цепей (Strand-seq), оптическое картирование, а также появление новых методов.

6. Известные коммерческие методы одномолекулярного секвенирования не позволяют достоверно анализировать короткие фрагменты ДНК и РНК. Прогнозируется дальнейшее совершенствование методов и достижение высокой точности при чтении таких фрагментов.

7. Существующие методы секвенирования позволяют обнаруживать только ограниченный спектр модификаций нуклеотидов (5mC, 6mA, 5hmC, 5mCpG) [2]. При этом для ДНК известно по меньшей мере 17 различных модификаций нуклеотидов, для РНК — более 170 [3]. Ожидается, что дальнейший прогресс в химии секвенирования и алгоритмах обработки повысит чувствительность и надежность обнаружения различных модификаций, в частности, при прямом секвенировании РНК.

8. Высокопроизводительная обработка данных уже реализована компаниями Illumina, PacBio и BGI непосредственно на приборах. Прогнозируется развитие этой тенденции, а также совершенствование алгоритмов обработки сигналов, сборки геномов и интерпретации полученных данных, в том числе методами машинного обучения.

9. Вероятной является разработка коммерческих технологий прямого одномолекулярного секвенирования белков [4].

### 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. *Kumar S. et al.* Epigenetics of modified DNA bases: 5-methylcytosine and beyond // *Front. Genet.* 2018. № 9. P. 640.

3. *Machnicka M. A. et al.* MODOMICS: a database of RNA modification pathways — 2013 update // *Nucleic Acids Res.* 2013. № 41. P. D262–D267.

4. *Yan S. et al.* Single molecule ratcheting motion of peptides in a *Mycobacterium smegmatis* porin A (MspA) nanopore // *Nano Lett.* 2021. № 21. P. 6703–6710.

## **ИЗУЧЕНИЕ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ДЕТЕКТОРОВ ЛАЗЕР-ИНДУЦИРОВАННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ КАПИЛЛЯРНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ АНАЛИЗАТОРОВ**

**П. А. Козлова<sup>1,2</sup>, И. В. Чубинский-Надеждин<sup>3</sup>, Ю. В. Куликов<sup>3</sup>,  
В. Е. Курочкин<sup>3</sup>, Д. О. Новиков<sup>1</sup>, Я. И. Алексеев<sup>2,3\*</sup>**  
\* jalex@syntol.ru

*<sup>1</sup>Московский государственный технический университет им. Н. Э. Баумана, 105005, Москва, ул. 2-я Бауманская, 5*

*<sup>2</sup>НПФ Синтол, 127434, Москва, ул. Тимирязевская, 42, корп. Б*

*<sup>3</sup>Институт аналитического приборостроения РАН, 198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А*

В настоящее время приборы капиллярного гель-электрофореза с детекцией лазер-индуцированной флуоресценции (ЛИФ) активно используются для расшифровки последовательности ДНК по методу Сенгера, а также для анализа фрагментов ДНК, полученных различными методами, прежде всего методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) [1, 2]. В последнее время на рынке появляются новые модели генетических анализаторов, однако производители не указывают важную техническую характеристику прибора — аналитическую чувствительность детекции.

В работе проведена экспериментальная оценка значений аналитической чувствительности измерения сигналов флуоресценции для трех современных моделей классических генетических анализаторов. Оценка проведена для шести спектральных диапазонов, соответствующих флуоресценции наиболее распространенных в практике генетических исследований красителей. Показано, что разные приборы обладают разными аналитическими характеристиками в различных спектральных диапазонах, что определяется особенностями построения оптических систем генетических анализаторов. Полученные данные могут быть полезными для исследователей при планировании экспериментов, в которых необходимо выявлять одновременно

несколько мишеней с разной концентрацией в анализируемом образце, меченных различными флуоресцентными красителями.

В первой части работы проводился эксперимент по измерению значений фона, шума и сигнала флуоресценции генетического анализатора «Нанофор 05» при автоматическом введении в капилляры, заполненные 1x TE буфером pH 8,0, растворов красителей с известными концентрациями. Измеряли значения сигналов фона буфера без красителя, а затем регистрировали значения сигнала и шума для каждого красителя при определенной концентрации. Измерения проводились для трех разных капиллярных линеек и двух разных генетических анализаторов «Нанофор 05». Средние значения аналитической чувствительности (сигнал/шум) прибора для шести красителей, приведенные к концентрации красителей 1 нМ, представлены в табл. 1.

Таблица 1. Результаты измерения значений сигнал/шум для генетических анализаторов «Нанофор 05» с использованием растворов красителей с концентрацией 1 нМ

Канал	6FAM	5R6G	6TAMRA	6ROX	6Sy630	Sy660
Сигнал/ шум	109	129	54	19	14	27

Во второй части работы проводился эксперимент по измерению значений фона, шума и сигнала флуоресценции по шести каналам детекции спектрального калибратора «6а-СК-6», содержащего красители 6FAM, 5R6G, 6TAMRA, 6ROX, 6Sy630 и Sy660, для генетических анализаторов «GA3500» (ThermoFisher Scientific, США), «Honor 1616» (Superyears, Китай) и «Нанофор 05» (Институт аналитического приборостроения РАН, Россия). Вначале проводилась спектральная калибровка приборов на калибраторе «6а-СК-6». Затем проводился фрагментный анализ с использованием калибратора в качестве образца. Во время фрагментного анализа регистрировались фон, шум и сигналы флуоресценции по шести спектральным каналам. В результате эксперимента были рассчитаны значения сигнал/шум для трех генетических анализаторов, а также рассчитаны концентрации красителей калибратора, соответствующие амплитудам сигналов

калибратора, полученных в первой части работы (табл. 1). Рассчитанные средние значения сигнал/шум, приведенные к концентрации красителей 1 нМ, представлены в табл. 2.

Таблица 2. Результаты измерения соотношения сигнал/шум для генетических анализаторов с использованием спектрального калибратора «ба-СК-6»

<i>Канал</i>	<i>GA 3500</i>	<i>Honor 1616</i>	<i>Нанофор 05</i>
<i>6FAM</i>	145	58	109
<i>5R6G</i>	130	59	129
<i>6TAMRA</i>	61	33	54
<i>6ROX</i>	22	8	19
<i>6Sy630</i>	16	7	14
<i>Sy660</i>	20	13	27

Как видно из табл. 2, разные каналы детекции генетических анализаторов имеют разную аналитическую чувствительность — при одинаковых молярных концентрациях красителей значения сигнал/шум отличаются в несколько раз. Также показано, что приборы разных производителей обладают разной аналитической чувствительностью в одинаковых спектральных каналах. Так, аналитическая чувствительность по шести спектральным каналам детекции генетических анализаторов «GA3500» и «Нанофор 05» сопоставима и в 2 раза выше, чем у генетического анализатора «Honor 1616».

Разработанная методика определения аналитической чувствительности детекции в разных спектральных диапазонах может быть полезна при поиске и использовании новых флуоресцентных красителей с лучшими спектральными характеристиками, обеспечивающими большую аналитическую чувствительность детекции. С использованием разработанной методики будет продолжено исследование аналитической чувствительности новых моделей генетических анализаторов.

### Литература

1. Бочарова Д. В., Алексеев Я. И., Волков А. А., Лавров Г. С., Плугин А. Г., Волков И. А., Чемигов А. А., Бардин Б. В., Курочкин В. Е. Определение максимальной длины ДНК, расшифровываемой с точностью 99 %, в полимере на основе линейного N,N-полидиметилакриламида методом капиллярного гель-электрофореза с лазер-индуцируемой флуоресценцией // Журнал аналитической химии. 2021. Т. 76, № 12. С. 1100–1106.

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.

## ЛАЗЕРНАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ОЧИСТКИ КВАРЦЕВЫХ КАПИЛЛЯРОВ ОТ ЗАЩИТНОЙ ОБОЛОЧКИ

**Ф. Л. Владимиров<sup>1,\*</sup>**, А. С. Альдекеева<sup>1</sup>, Н. А. Корнева<sup>1</sup>, М. В. Волков<sup>2</sup>,  
М. С. Шляхтин<sup>2</sup>, Д. В. Журба<sup>2</sup>  
\* fedor.vlv3008@gmail.com

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

<sup>2</sup>Научно-производственное предприятие волоконно-оптического и лазерного  
оборудования «НПП ВОЛО», 199034, Санкт-Петербург, 17-я линия В. О., 4–6

Одним из основных элементов генетического анализатора «Нанофор 05» и других приборов на основе капиллярного электрофореза является линейка капилляров (ЛК), которая в значительной степени определяет основные характеристики прибора [1]. Используемые для создания линеек капилляры покрыты полиимидной защитной оболочкой для обеспечения механической прочности [2]. При изготовлении ЛК необходимо локально удалять защитное покрытие



с капилляров для обеспечения высокой оптической прозрачности в зоне детектирования.

В докладе представлены экспериментальные результаты по лазерной очистке капилляров от защитной оболочки и выбору оптимальных режимов очистки в сопоставлении с термическим методом удаления защитной оболочки при помощи газовой горелки. Экспериментальная проверка лазерных методов очистки производилась в инициативном порядке сотрудниками ООО «НПП ВОЛО» при участии сотрудников ИАП РАН на капиллярах Polymicro Molex [2], TSP050192 (внешний диаметр —  $(186 \pm 6)$  мкм, внутренний диаметр —  $(50 \pm 3)$  мкм, толщина защитной полиимидной оболочки —  $(14 \pm 1)$  мкм).

Достоинством использования газовой горелки для очистки капилляров является невысокая стоимость расходных материалов и технологии в целом.

К недостаткам этого метода следует отнести [3]:

- плохую воспроизводимость условий очистки — температуры нагрева, времени температурного воздействия;

- после воздействия пламенем горелки происходит карбонизация полиимидной оболочки и требуется дополнительная механическая очистка специальным ножом, что может приводить к повреждению и поломке капилляров;

- субъективный контроль условий очистки капилляра может приводить как к неполному удалению защитной оболочки, так и к деформации, оплавлению капилляра при чрезмерном нагреве;

- низкая скорость очистки;

- очистка капилляров требует специальных навыков и высокой концентрации внимания.

Практический опыт использования пламени горелки для очистки капилляров показывает, что выявляемые визуально дефекты на этапе очистки составляют примерно 10 % от общего числа очищаемых капилляров.

С целью улучшения качества очистки и минимизации количества дефектов, возникающих в процессе очистки капилляров, была проведена серия экспериментов по очистке капилляров с исполь-

зованием ультрафиолетового (УФ) лазера ( $\lambda = 355$  нм) и  $\text{CO}_2$  лазера ( $\lambda = 10,6$  мкм). Было установлено, что лазерная очистка позволяет получить высокую эффективность очистки и хорошую воспроизводимость условий очистки, благодаря высокой стабильности генерационных характеристик лазерного излучения и высокой стабильности сканирующей системы, которые задаются программой управления лазером.

К достоинствам использования УФ-лазера для очистки капилляров можно отнести отсутствие нагрева капилляра в процессе очистки и его деформации за счет использования коротких импульсов и отсутствие поглощения лазерного излучения с длиной волны  $\lambda = 355$  нм в кварце.

К достоинствам использования  $\text{CO}_2$  лазера для очистки капилляров можно отнести поверхностное оплавление кварца и, как следствие, упрочнение капилляра за счет удаления микротрещин.

Недостатком использования  $\text{CO}_2$  лазера ( $\lambda = 10,6$  мкм) является возможность термического разрушения капилляра под действием лазерного излучения из-за сильного поглощения на этой длине волны и, как следствие, более высокие требования к лазерной установке и автоматическому поддержанию параметров обработки, а также квалификации оператора.

Оптимизированные режимы лазерной очистки позволяли реализовать полное удаление защитной оболочки без необходимости дополнительной механической очистки.

Предварительные экспериментальные результаты показали, что ожидаемый уровень появления дефектов при лазерной очистке капилляров — менее 1,0 %, что существенно ниже, чем при использовании для очистки капилляров газовой горелки. Низкий ожидаемый уровень дефектов капилляров является следствием высокой стабильности условий очистки и отсутствия субъективного фактора. По краям зоны очистки не возникает наплывов защитной оболочки. Отсутствует риск механического повреждения капилляра.

Скорость очистки при использовании лазерного излучения значительно выше, чем при очистке газовой горелкой.

Лазерная очистка является более технологичной. Переход на тонкие капилляры не повлияет на эффективность очистки (качество

и скорость очистки). Отсутствие нагрева позволит удалять защитную оболочку в собранной ЛК. В процессе очистки капилляров производится объективный контроль качества очистки. Лазерную очистку можно использовать для автоматизации процесса очистки капилляров. Лазерная технология не требует никаких расходных материалов.

Технология является более безопасной по сравнению с очисткой газовой горелкой. Лазерная система снабжена локальной вытяжкой и системой отведения продуктов разложения. Оператор находится вне зоны очистки и полностью защищен от лазерного излучения, вторичного (отраженного, рассеянного) излучения и токсичных продуктов разложения полиимида.

Из очищенных УФ-лазером капилляров была собрана пробная ЛК и проведено тестирование на приборе «Нанофор 05». Фоновое излучение в ЛК, изготовленной из капилляров, очищенных при помощи УФ-лазера, составляет примерно 20 000 условных единиц, что сопоставимо с уровнем фона ЛК, изготовленных по традиционной технологии из капилляров, очищенных газовой горелкой.

Полученные результаты показывают, что очистка капилляров при помощи лазерного излучения является перспективным и высокотехнологичным методом, который позволяет получить высокое качество очистки при высокой скорости технологического процесса. Использование УФ лазерного излучения позволяет удалять защитную полиимидную оболочку без нагрева капилляров, без возникновения деформаций и дефектов, с высокой воспроизводимостью условий очистки, без необходимости дополнительной механической очистки капилляров.

### Литература

1. 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.

2. Polymicro Capillary Tubing Documentation, <https://www.molex.com/en-us/products/capillary-tubing/capillary-tubing-documentation>.

3. Polyimide Removal from Silica Fibers or Tubes, [https://www.molex.com/content/dam/molex/molex-dot-com/en\\_us/pdf/product-reference-guides/polymicro/user-guidelines/polyimide\\_removal\\_from\\_silica\\_fibers\\_or\\_tubes.pdf](https://www.molex.com/content/dam/molex/molex-dot-com/en_us/pdf/product-reference-guides/polymicro/user-guidelines/polyimide_removal_from_silica_fibers_or_tubes.pdf).

## **СПОСОБ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ТОТАЛЬНОЙ РНК МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО НЕДЕНАТУРИРУЮЩЕГО ГЕЛЬ-ЭЛЕКТРОФОРЕЗА НА ПРИБОРЕ «НАНОФОР 05»**

**К. Д. Ващенко<sup>1,2,\*</sup>, Э. В. Адельшина<sup>1,2</sup>, А. А. Пушкин<sup>2,3</sup>, Я. И. Алексеев<sup>2,3</sup>,  
Д. А. Квон<sup>3</sup>, А. И. Петров<sup>1,2</sup>**  
*\* krisstinavash@yandex.ru*

*<sup>1</sup>Университет ИТМО, Санкт-Петербург, 197101, Кронверкский пр., д. 49*

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

*<sup>3</sup>НПФ Синтол, 127434, Москва, ул. Тимирязевская, 42, корп. Б*

Оценка качества и интактности препаратов РНК является важным этапом в молекулярно-биологических исследованиях, поскольку критически влияет на результаты последующего анализа. Оценка целостности РНК и выявление примесей являются ключевыми показателями контроля качества препарата, которые позволяют оценить интактность структуры и функций РНК после выделения и хранения.

На сегодняшний день для анализа качества РНК применяют метод капиллярного гель-электрофореза и используются такие приборы, как: Agilent 2100 Bioanalyzer, TapeStation 4150 и TapeStation 4200 (США), Qsep100, Qsep400 (Китай), Agilent Fragment Analyzer, Shimadzu MultiNA и др.

Целью данной работы была разработка методики анализа качества препаратов РНК методом капиллярного неденатурирующего гель-электрофореза на приборе «Нанофор 05».

В ходе работы выделялась тотальная РНК из клеточной линии фибробластов человека готовым набором реагентов для выделения РНК «РНК-ЭКСТРАН» (Синтол, Россия), концентрация была измерена на спектрофотометре Nano-500 (Allsheng, Китай), начальная концентрация выделенного образца составила 116 нг/мкл.

Для минимизации времени исследования тотальной РНК были разработаны укороченная линейка капилляров длиной 24 см до оптического окна и менее вязкий полимер на основе линейного поли-

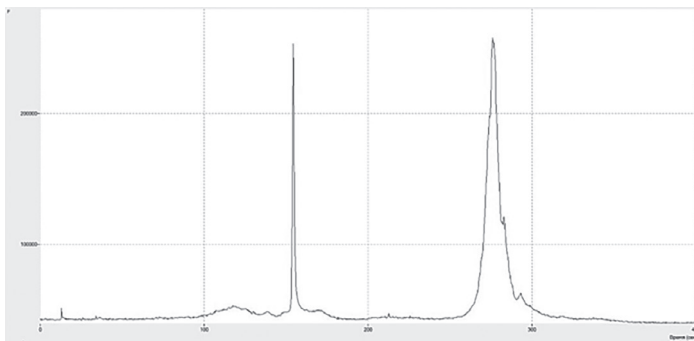


Рис. 1. Пример результатов денатурирующего гель-электрофореза тотальной РНК высокого качества на приборе «Нанофор 05» (необработанные данные)

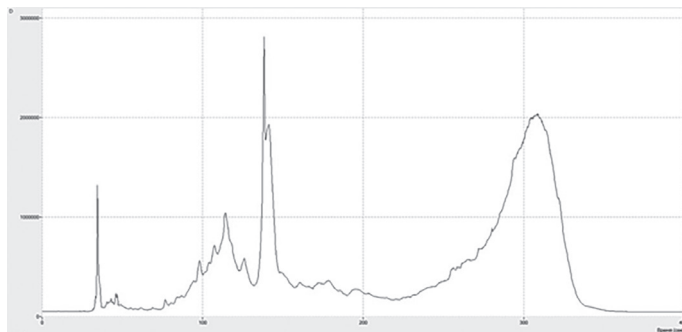


Рис. 2. Пример результатов денатурирующего гель-электрофореза деградированной тотальной РНК на приборе «Нанофор 05» (необработанные данные)

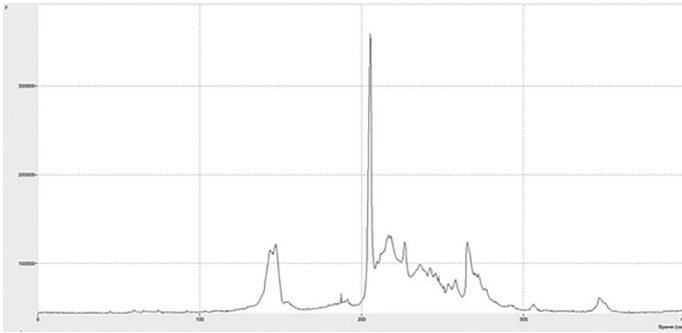


Рис. 3. Пример результатов неденатурирующего гель-электрофореза тотальной РНК, загрязненной обломками ДНК на приборе «Нанофор 05» (необработанные данные)

диметилакриламида ПДМА-1,5-НД. В результате их использования и оптимизации протокола гель-электрофореза общее время анализа 8 образцов удалось уменьшить с 60 минут (для стандартной линейки длиной 36 см до оптического окна и полимера ПДМА-4-НД) до 16 минут (рис. 1–3).

Разработанный способ контроля качества тотальной РНК будет интегрирован в протоколы неденатурирующего гель-электрофоретического анализа приборов капиллярного электрофореза серии «Нанофор», что расширит их пользовательские возможности [1].

### Литература

1. 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.

## **РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА АНАЛИЗА РАЗМЕРОВ ФРАГМЕНТОВ ГЕНОМНОЙ БИБЛИОТЕКИ И ТОТАЛЬНОЙ РНК В КАПИЛЛЯРНОМ НЕДЕНАТУРИРУЮЩЕМ ГЕЛЬ-ЭЛЕКТРОФОРЕЗЕ**

**Э. В. Адельшина<sup>1,2,\*</sup>, К. Д. Ващенко<sup>1,2</sup>, А. И. Петров<sup>1,2</sup>, Я. И. Алексеев<sup>1,3</sup>**  
\* elina.adelshina@yandex.ru

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

<sup>2</sup>*Университет ИТМО, Санкт-Петербург, 197101, Кронверкский пр., д. 49*

<sup>3</sup>*НПФ Синтол, 127434, Москва, ул. Тимирязевская, 42, корп. Б*

Неденатурирующий гель-электрофорез (НД-форез) представляет собой мощный инструмент анализа нативных биомолекул: ДНК и РНК. Особенностью НД-фореза является сохранение пространственной структуры биомолекул. Это особенно важно для исследований, где целостность структуры тотальной РНК (рРНК, иРНК, тРНК и др.) определяет функциональную активность молекул. НД-форез также используется для проверки целостности фрагментов геномных библиотек при проведении массового параллельного секвенирования (МПС).

Для проведения НД-фореза использовался секвенатор первого поколения «НАНОФОР 05» [1].

Целью данной работы являлось расширение области применения секвенаторов «НАНОФОР 05»:

- для анализа целостности фрагментов геномных библиотек;
- для анализа целостности структуры тотальной РНК.

В работе были предложены алгоритмы анализа размеров фрагментов геномных библиотек и тотальной РНК на основе данных, полученных с помощью капиллярного неденатурирующего гель электрофореза.

По результатам проведения НД-фореза были получены две электрофореграммы:

1. Электрофореграмма геномной библиотеки / тотальной РНК.

2. Электрофореграмма стандарта длин (фрагменты известной длины и концентрации).

В ходе работы были созданы три алгоритма в программном пакете MATLAB:

1. Анализ стандарта длин:

а. внесение теоретических значений концентраций и длин фрагментов стандарта длин;

б. идентификация всех пиков стандарта длин с расчетом времени выхода и площади каждого пика [2].

2. Анализ геномной библиотеки / тотальной РНК:

а. очистка экспериментальных данных от шума;

б. обнаружение реперных пиков и локальных пиков геномной библиотеки / маркерного пика и двух пиков малой и большой субъединиц тотальной РНК с расчетом времени выхода, интенсивности и площади каждого пика;

с. проверка наличия артефактов и ложных пиков по площади и времени выхода;

д. приведение электрофореграммы геномной библиотеки / тотальной РНК к электрофореграмме стандарта длин.

3. Формирование отчета:

а. аппроксимация полиномом четвертой степени для определения длин фрагментов и концентраций по стандарту длин;

б. пересчет электрофореграммы геномной библиотеки / тотальной РНК в значения «длина — концентрация» с использованием коэффициентов полинома;

с. вывод на экран итоговой электрофореграммы и таблицы с параметрами длин и концентраций фрагментов ДНК геномной библиотеки / тотальной РНК.

Пример результатов анализа геномной библиотеки (А) и тотальной РНК (Б) с помощью разработанных алгоритмов представлен на рис. 1.

Разработанные алгоритмы позволяют осуществлять контроль качества геномных библиотек для МПС и оценку целостности тотальной РНК. Алгоритмы будут апробированы и оптимизированы на выборах данных электрофоретического разделения геномной



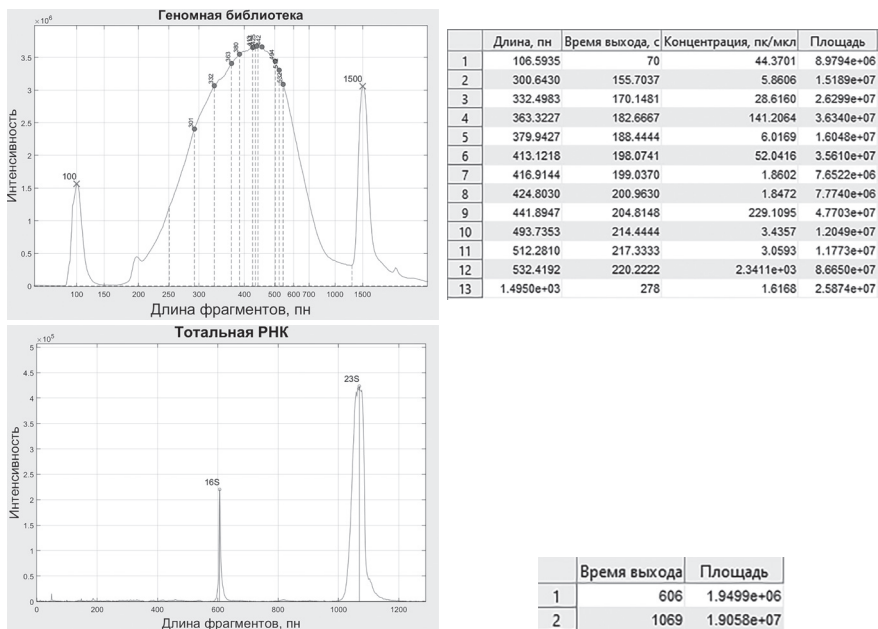


Рис. 1. Результаты анализа НД-фореза: А — геномной библиотеки; Б — тотальной РНК

библиотеки и тотальной РНК с использованием прибора «НАНО-ФОР 05». В случае получения надежных и точных результатов алгоритм будет интегрирован в базовое программное обеспечение секвенатора «НАНОФОР 05».

### Литература

1. 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.
2. Заруцкий И. В., Манойлов В. В., Самсонова Н. С., Петров А. И., Курочкин В. Е., Леонтьев И. А., Алексеев Я. И. Метод поиска пиков размерного стандарта при фрагментном анализе ДНК // Журнал технической физики. 2018. Т. 88, Вып. 9. С. 1407–1412.

**МЕТОД ЛИНЕЙНОЙ РЕГРЕССИИ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ  
ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ СИГНАЛОВ, ИСКАЖЕННЫХ  
ПЕРЕКРЫТИЕМ СПЕКТРАЛЬНЫХ ПОЛОС, В СЕКВЕНАТОРЕ  
«НАНОФОР СПС»**

**А. Я. Логинов, В. В. Манойлов\*, А. Г. Бородинов, А. И. Петров,  
И. В. Заруцкий, В. Е. Курочкин**

\* manoilov\_vv@mail.ru

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

Флуоресцентный сигнал в секвенаторе «Нанофор СПС» — двумерное изображение, которое регистрируется в четырех каналах, соответствующих нуклеотидам «А», «С», «G» и «Т» и имеющих индивидуальные спектральные полосы. Информация о типе объекта флуоресценции (нуклеотида), соответствующего рассматриваемым координатам изображения, содержится в спектральном составе флуоресцентного сигнала. Явление наложения индивидуальных спектральных полос сигналов флуоресценции (явление перекрестных помех, в англоязычной литературе: cross-talk) препятствует достоверному определению типа нуклеотида, соответствующего рассматриваемым координатам изображения.

Физически явление перекрестных помех выражается в плохом разрешении по интенсивности полезного сигнала и помех в рассматриваемых координатах изображения.

Явление перекрестных помех математически может быть представлено квадратной матрицей (матрицей перекрестных помех) с единичной главной диагональю и остальными коэффициентами, определяющими взаимный линейный вклад сигналов в каждом канале.

Для борьбы с явлением перекрестных помех необходим алгоритм цветокоррекции, результат применения которого выражается в улучшении разрешения по интенсивности полезного сигнала и помех. Основная идея алгоритма цветокоррекции — определение матрицы

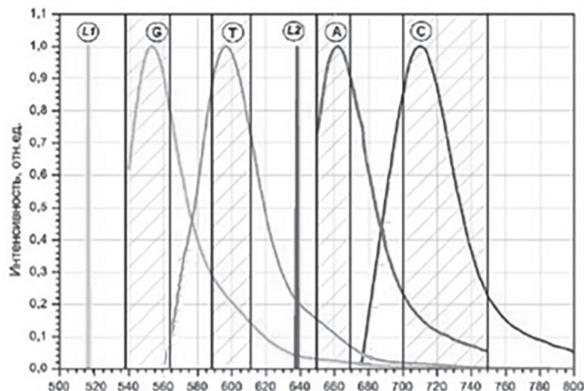


Рис. 1. Спектры эмиссии флуоресцентных меток и лазеров перекрестных помех с помощью метода линейной регрессии и поиск обратной к ней (компенсирующей) матрицы, которая применяется к входным данным.

Проверка эффективности разработанного алгоритма цветокоррекции проводилась путем его применения к искаженным перекрестными помехами данным генома с известным процентным содержанием нуклеотидов «А», «С», «G» и «Т». Для скорректированных интенсивностей процентное содержание нуклеотидов «С» и «G» соответствует стандарту.

### Благодарности

Работа выполнена в ИАП РАН в рамках Государственного задания 075-00439-24-00 Министерства науки и высшего образования.

**АЛГОРИТМЫ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ В ЗАДАЧЕ  
СЕГМЕНТАЦИИ ИЗОБРАЖЕНИЙ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ  
МОЛЕКУЛЯРНЫХ КЛАСТЕРОВ В СЕКВЕНАТОРЕ  
«НАНОФОР СПС»**

А. С. Сараев\*, А. Г. Бородинов, В. В. Манойлов, А. И. Петров  
\* alex.niispb@yandex.ru

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

В статье [1] описаны основные задачи анализа сигналов флуоресценции на стадии первичного анализа и сравниваются традиционные методы их решения с методами на основе технологий машинного обучения. Обработка оптических изображений реакционных ячеек секвенаторов сталкивается со сложностями, связанными с огромным объемом данных и высокой вариабельностью проводимых запусков секвенирования. Различия в подготовке образцов, методах визуализации, оборудовании и параметрах сбора данных микроскопии приводят к изменчивости изображений, что затрудняет их анализ классическими методами. Применение методов машинного обучения (ML), а в перспективе и глубокого обучения (DL), открывает новые возможности для повышения скорости, точности, воспроизводимости и эффективности анализа изображений.

В первичной обработке изображений, полученных секвенатором, применяются три основных подхода: обнаружение объектов, сегментация и извлечение признаков.

Для обнаружения объектов (object detection) целью служит идентификация объектов на изображении и определение их местоположения, используя ограничивающие рамки. Основную сложность при этом составляют два аспекта проблемы. Во-первых, отсутствие образцов кластеров. В отличие от типичных изображений, где объекты имеют четкую форму (например, машина, человек), кластеры ДНК не имеют заданной формы и могут быть очень отличными по форме. Во-вторых, ограниченное количество пикселей на объект. Каждый

кластер ДНК занимает всего несколько пикселей, что затрудняет их идентификацию и определение границ. При этом обнаружение объектов — это отправная точка для анализа изображений секвенатора. Без точного определения объектов-кластеров последующая сегментация и извлечение признаков становятся невозможными. В частности, стадия обнаружения объектов часто включает бинаризацию как отделение объекта от фона.

Следующая стадия — сегментация (Object Segmentation) преследует цель разделить изображение на значимые области для идентификации и дифференциации объектов. В частности, происходит сегментация экземпляров (Instance Segmentation), т. е. сопоставление наборов пикселей с каждым отдельным объектом. Это позволяет различить отдельные кластеры ДНК, даже если они очень близки друг к другу. Сегментация позволяет получить более точную информацию об объектах, чем просто обнаружение. Она необходима для последующего анализа, такого как измерение размера, формы и интенсивности кластеров ДНК.

Наконец, на этапе извлечения признаков (Feature Extraction) сегментированные объекты наделяются набором признаков, которые могут быть использованы для дальнейшего анализа. В частности, происходит отсеивание низкоинформативных кластеров по признакам *chastity* и *purity*. Кластеры с низкими показателями *chastity* или *purity* могут быть исключены из анализа, поскольку они могут быть нерепрезентативными.

В итоге эти три подхода тесно взаимосвязаны:

- \* Обнаружение объектов является первым шагом, который позволяет сегментировать объекты.

- \* Сегментация, в свою очередь, обеспечивает точные данные для извлечения признаков.

- \* Извлеченные признаки могут использоваться для дальнейшего анализа, который может включать в себя классификацию, кластеризацию и другие методы.

В результате апробации методов машинного обучения был разработан двухстадийный процесс нахождения кластеров ДНК. На первой стадии происходит разделение пикселей на группы по принципу

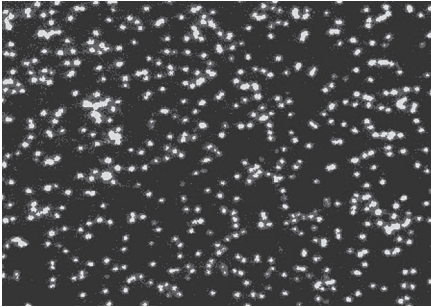


Рис. 1. Результат первой стадии нахождения кластеров методом K-means

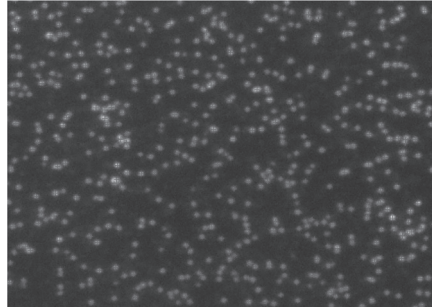


Рис. 2. Результат второй стадии нахождения кластеров методом BIRCH

различия в интенсивностях. При этом использован метод K-means: простой и популярный алгоритм, который относится к методам жесткой кластеризации (см. рис. 1).

На второй стадии в результате выделения на изображении зон высокой интенсивности сигналов происходит группировка (сегментация) таких пикселей на изображении по критерию близости. Одним из методов на этой стадии является метод кластеризации BIRCH (см. рис. 2). Вторым методом для второй стадии нахождения групп нуклеотидных кластеров является метод HDBSCAN. HDBSCAN (Hierarchical Density-Based Spatial Clustering of Applications with Noise) — это алгоритм сегментации, который использует концепцию плотности данных для определения кластеров. Он отличается от K-means и BIRCH тем, что не требует заранее задавать число кластеров и более устойчив к шуму и невыпуклым кластерам.

### Литература

1. Манойлов В. В. и др. Алгоритмы первичного анализа локальных объектов флуоресценции в секвенаторе ДНК «Нанофор СПС» // Информатика и автоматизация. 2024. Т. 23, № 4. С. 989–1021.

## **МОДЕЛЬ ФОРМИРОВАНИЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО СИГНАЛА ИНТЕРКАЛИРУЮЩЕГО КРАСИТЕЛЯ SYBR GREEN I В ХОДЕ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ**

**Д. Р. Ибрагимов\***, А. А. Федоров

\* danil\_ib@mail.ru

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

В рамках доклада рассматривается задача разработки математической модели для описания кинетики формирования флуоресцентного сигнала интеркалирующего красителя в ходе полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ).

Традиционно для оценки концентрации ДНК в образце применяется пороговый метод, заключающийся в определении порогового цикла и использовании контрольного образца с известной начальной концентрацией. Несмотря на то что данный метод, как правило, показывает хорошую точность, он является эмпирическим и может приводить к погрешностям вследствие различия эффективностей реакций для разных проб [1].

Альтернативным подходом к анализу результатов ПЦР-РВ является математическое моделирование кривых накопления флуоресцентного сигнала. Однако предпринимаемые ранее попытки не дали результата, сравнимого по точности с пороговым методом. На наш взгляд, одной из главных причин отсутствия подобного математического инструмента является игнорирование в предыдущих моделях связывания ДНК с флуоресцентными метками [2–4], сигнал которых может оказывать существенное влияние на вид кривой ПЦР-РВ [5].

Целью данной работы является создание математического инструмента, позволяющего описать процесс амплификации ДНК, в котором в качестве флуоресцентных меток используется интеркалирующий краситель.

В качестве основы модели послужила система дифференциальных уравнений, основанная на законе действующих масс и описыва-

ющая амплификацию ДНК. Данная система учитывает взаимодействие одноцепочечной ДНК с праймерами (отжиг), а также образование двуцепочечной ДНК (элонгация), описываемое уравнением Михаэлиса — Ментен. Для описания взаимодействия молекул красителя с двуцепочечной ДНК рассматривается состояние равновесия реакции и применяется выражение для константы диссоциации, что позволяет определить количество связанного красителя и, таким образом, оценить интенсивности флуоресцентного сигнала красителя.

Адекватность полученной модели была оценена с помощью экспериментальных данных, предоставленных ООО «НПФ Синтол» (рис. 1). В качестве флуоресцентной метки в эксперименте применялся широко используемый в молекулярной биологии краситель SYBR Green I. Модель показала высокое соответствие между модельными и экспериментальными данными для красителя SYBR Green I, при этом отклонение теоретических данных от экспериментальных составило не более 0,5 %.

Таким образом, в данной работе предложен рабочий инструмент анализа кривой ПЦР-РВ, полученной с помощью красителя SYBR Green I, который позволит не только улучшить точность количественного анализа ДНК, но и в дальнейшем учесть влияние различных факторов на амплификацию ДНК, например, наличие ингибиторов

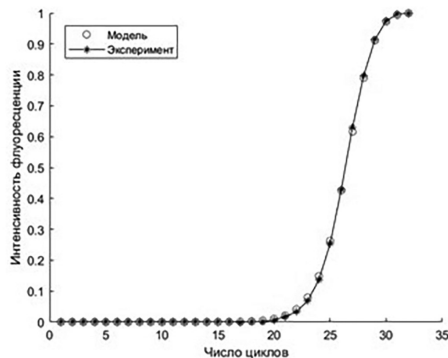


Рис. 1. Сравнение экспериментальной и модельной кривых ПЦР-РВ. Кривые нормированы на максимальное значение



в реакции, посредством расширения системы дифференциальных уравнений.

### Литература

1. *Ruijter J. M. et al.* Efficiency Correction Is Required for Accurate Quantitative PCR Analysis and Reporting // *Clinical Chemistry*. 2021. Vol. 67, issue 6. P. 829–842.

2. *Mehra S. et al.* A kinetic model of quantitative real-time polymerase chain reaction // *Biotechnology and Bioengineering*. 2005. Vol. 91, issue 7. P. 848–860.

3. *Rutledge R. G. et al.* A kinetic-based sigmoidal model for the polymerase chain reaction and its application to high-capacity absolute quantitative real-time PCR // *BMC biotechnology*. 2008. Vol. 8. Art. 48.

4. *Boggy G. J. et al.* A mechanistic model of PCR for accurate quantification of quantitative PCR data // *PLoS One*. 2010. Vol. 5, № 8, e12355.

5. Федоров А. А., Сочивко Д. Г., Варламов Д. А. Модель генерации флуоресцентного сигнала интеркаляционного красителя в ходе полимеразной цепной реакции // *Журнал технической физики*. 2020. Т. 90. С. 1581–1585.

## ИССЛЕДОВАНИЕ СЛУЧАЙНЫХ ПОГРЕШНОСТЕЙ СИГНАЛОВ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ КРИВЫХ ПЛАВЛЕНИЯ

**Р. Р. Морозов<sup>1</sup>**, В. А. Круглов<sup>2</sup>, Н. П. Жуков<sup>1</sup>, А. С. Альдекеева<sup>2</sup>,  
Г. С. Лавров<sup>2</sup>, Д. А. Белов<sup>2,\*</sup>  
\* belov.da@list.ru

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет аэрокосмического приборостроения, 190000, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 67, лит. А

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

Анализ ДНК методом плавления высокого разрешения (HRM) позволяет быстро и экономично определять характеристики нуклеиновых кислот для профилирования последовательностей ДНК [1]. В литературе описано эффективное применение методов машинного обучения (ML) для решения задач обработки и интерпретации кривых плавления, получаемых в результате HRM [2]. В большинстве случаев является проблематичным получить достаточные выборки в силу их больших размеров и отсутствия информации об истинном значении их основного характерного параметра — температуры плавления  $T_m$ . Одним из подходов для создания выборок для обучения моделей ML является генерирование имитационных кривых.

Имитационные кривые могут быть созданы на основе известных моделей плавления ДНК [3], которые, впрочем, не учитывают погрешности, возникающие при регистрации прибором флуоресцентных сигналов. При этом понимание природы погрешностей и особенностей их формирования важно для обработки кривых плавления и достоверного определения значений  $T_m$ .

В рамках настоящей работы были исследованы сигналы флуоресценции, полученные на амплификаторе АНК-48 (ИАП РАН, Россия) при использовании двух последовательностей ДНК, характеризующихся температурами плавления  $T_m$  около 60 °С (DNA60) и 80 °С (DNA80), совместно с красителями: SYBR Green (SG), EvaGreen (EG) и PicoGreen (PG). Погрешности определены путем аппроксимации значений сигнала флуоресценции по выборке экспериментальных данных и последующей компенсации детерминированной составляющей при следующих значениях температур: 60 °С, 66 °С, 78 °С и 80 °С (рис. 1).

В табл. 1 приведены средние значения следующих показателей погрешности и их доверительные интервалы ( $\alpha = 0,05$ ,  $n = 5$ ) для образцов DNA80 с красителями SG, EG и PG:

- дисперсия  $\sigma^2$ ;
- коэффициент асимметрии  $As$  [4];
- коэффициент эксцесса  $Ek$  [4];
- отношение сигнал/шум ( $SNR$ ), понимаемое как отношение амплитуды сигнала после компенсации базовой линии, соответствующей

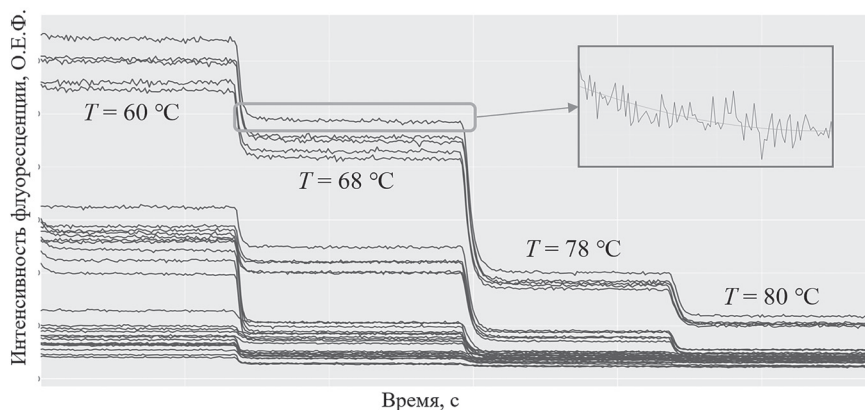


Рис. 1. Значения интенсивностей флуоресценции проб с различными красителями и при различных температурах термостатирования  $T$  с примером аппроксимации (укрупненный фрагмент справа)

Таблица 1. Средние значения показателей для образцов DNA80 с различными красителями

Краситель	$T, ^\circ\text{C}$	$\sigma^2$	$SNR$	$Ek$	$As$	p-value
SG	60	186,4±63,1	16,3±5,8	3,01±0,34	-0,20±0,44	0,43±0,49
	66	130,8±15,7	16,5±2,6	4,06±1,50	0,09±0,54	0,20±0,32
	78	55,4±10,9	14,9±2,7	3,08±0,59	0,04±0,19	0,47±0,30
	84	36,5±10,1	12,3±3,6	2,76±0,46	-0,01±0,35	0,33±0,34
EG	60	64,0±16,3	20,8±2,7	2,70±0,73	0,03±0,15	0,45±0,34
	66	48,4±6,3	20,6±2,6	2,64±0,42	-0,10±0,16	0,36±0,20
	78	15,7±5,5	12,7±4,2	2,88±0,38	0,14±0,42	0,29±0,25
	84	11,4±3,9	10,5±4,6	3,26±1,60	-0,02±0,30	0,28±0,26
PG	60	22,6±10,5	18,2±3,9	2,88±0,39	0,04±0,19	0,50±0,40
	66	21,1±7,6	15,2±3,3	3,14±0,72	-0,02±0,64	0,10±0,13
	78	10,9±3,4	10,0±3,2	3,03±0,20	0,18±0,42	0,22±0,16
	84	9,2±3,9	7,7±5,1	2,87±0,59	0,11±0,13	0,31±0,27

сигналу флуоресценции от пробирки с буфером, к стандартному отклонению погрешности;

– *p*-value при определении критерия Шапиро — Уилка [5]. Нулевая гипотеза этого теста, заключающаяся в том, что погрешности распределены нормально, отвергается при значении *p*-value менее 0,05.

На основе совокупности полученных параметров распределение случайных погрешностей ближе к нормальному закону, т. к. значения *p*-value превышают установленный порог в 0,05 в 90 % случаев. Дисперсия погрешностей линейно возрастает при увеличении амплитуды сигнала, т. е. погрешность мультипликативная. Определены зависимости *SNR* от значений температуры *T* в диапазоне температур 60–80 °С:  $SNR = -0,16 T + 26,52$  ( $R^2 = 0,82$ );  $SNR = -0,475 T + 50,35$  ( $R^2 = 0,95$ ) и  $SNR = -0,4367 T + 44,215$  ( $R^2 = 0,99$ ) для красителей SG, EG и PG соответственно. Выявленные зависимости могут быть интерполированы на соседние диапазоны температур при создании имитационных сигналов. Генерация случайной погрешности и создание имитационных сигналов с учетом выявленных особенностей планируется путем наложения шумов на модельные кривые плавления.

### Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 24-25-00492).

### Литература

1. Kim N., Kwon J. S., Kang W. H., Yeom S. I. High-Resolution Melting (HRM) Genotyping // *Methods Mol Biol.* 2023. № 2638. P. 337–349.
2. Boussina A., Langouche L., Obirieze A. C. et al. Machine learning based DNA melt curve profiling enables automated novel genotype detection // *BMC Bioinformatics.* 2024. № 25. P. 185.
3. Liu Y., Kermanpour F., Liu H. L., Hu Y., Shang Y. Z., Sandler S. I., Jiang J. W. Molecular thermodynamic model for DNA melting in ionic and crowded solutions // *J. Phys. Chem. B.* 2010. Vol. 114, № 30. P. 9905–9911.

4. *Cramer H.* Mathematical Methods of Statistics. Princeton: Princeton University Press, 1946.

5. *Shapiro S. S., Wilk M. B.* An analysis of variance test for normality (complete samples) // *Biometrika*. 1965. № 52. P. 591–611.

## **ВЫБОР ОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ РЕГИСТРАЦИИ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ СИГНАЛОВ И ФОРМИРОВАНИЯ КРИВЫХ ПЛАВЛЕНИЯ НА АМПЛИФИКАТОРЕ АНК-48**

**В. А. Круглов<sup>1</sup>, Н. П. Жуков<sup>2</sup>, Р. Р. Морозов<sup>2</sup>, А. С. Альдекеева<sup>1</sup>,  
Д. А. Минаков<sup>1</sup>, Ю. В. Белов<sup>1,2,\*</sup>**  
\* [belov.da@list.ru](mailto:belov.da@list.ru)

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

<sup>2</sup>*Санкт-Петербургский государственный университет аэрокосмического  
приборостроения, 190000, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 67, лит. А*

В случае реализации анализа ДНК методом плавления высокого разрешения (HRM) применяется два основных подхода к получению кривых плавления: непрерывный, при котором изменение температуры образцов и детектирование флуоресцентных откликов анализируемых проб реализуются непрерывно, и пошаговый, при котором идет получение отсчетов флуоресценции, необходимое для накопления статистики и определения среднего значения интенсивности флуоресценции, соответствующего значению температуры исследуемых образцов. Большинство амплификаторов [1] реализует непрерывный режим, что, вероятно, обосновано меньшей длительностью анализа по сравнению с пошаговым режимом. При этом остается неизвестным, какой режим позволяет получить более достоверные результаты анализа.

Погрешности определения основного характерного параметра при реализации HRM, температуры плавления  $T_m$ , во многом зави-

сят от условий проведения эксперимента. Важным условием является достижение высокого разрешения, характеризующегося достоверным обнаружением малейших (не более 0,2 град.) различий температур  $T_m$  [2].

В настоящем исследовании выполнено сравнение непрерывного и пошагового режимов HRM. В качестве опытного прибора выступал разработанный в Институте аналитического приборостроения РАН амплификатор АНК-48. Кривые плавления получены при нагревании анализируемых образцов в диапазоне 45–90 °С с предварительным термостатированием при 95 °С в течение 60 с. Для непрерывного режима была выбрана скорость изменения температуры 0,05 град./с, для пошагового режима температура менялась с шагом 0,5 град. с длительностью термостатирования на каждом шаге 30 с.

Анализировались 2 вида образцов ДНК с температурами плавления около 60 °С (DNA60) и 80 °С (DNA80) с красителем SYBR Green (SG), при этом в каждом анализе все 48 пробирок заполнялись идентичными пробами с одинаковыми температурами плавления.

Важной характеристикой при реализации HRM является разброс температур анализируемых проб, поэтому критерием выбора оптимального режима может служить СКО температур плавления  $T_m$  таких образцов. Гистограммы распределения температур  $T_m$  образцов, приведенные на рис. 1, опосредованно характеризуют неравномерность температурного поля держателя пробирок при реализации пошагового и непрерывного режимов.

СКО температур составили 0,07 и 0,09 (DNA80), 0,13 и 0,15 (DNA60) для пошагового и непрерывного режимов соответственно. На основании этого можно рекомендовать пошаговый режим проведения HRM на амплификаторе АНК-48 как обеспечивающий более достоверные результаты анализа. При отсутствии высоких требований к погрешности определения температуры плавления (более 0,4 град.) рекомендуется непрерывный режим, т. к. его длительность значительно меньше длительности пошагового режима — 20 минут против 50 минут при использовании описанных выше параметров режимов.

При реализации пошагового режима значительное влияние на длительность анализа оказывает количество отсчетов флуоресценции

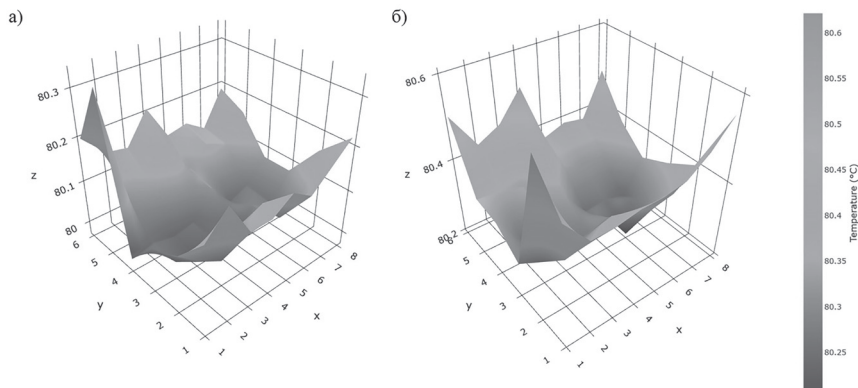


Рис. 1. Гистограммы распределения температур плавления идентичных образцов при пошаговом (а) и непрерывном (б) режимах

на каждом температурном шаге. Оптимальное количество отсчетов флуоресценции может быть определено по результатам оценки изменения значимости различия дисперсий выборок по критерию Фишера  $F$  (тест А) и двухвыборочному  $t$ -тесту с оценкой различия математических ожиданий выборок по критерию Стьюдента  $T$  (тест Б). В табл. 1 приведены соответствующие средние значения  $p$ -value и доверительный интервал ( $\alpha = 0,05$ ,  $n = 12$ ) для выборок с количеством отсчетов флуоресценции  $N$  от 3 до 8 относительно выборок с количеством отсчетов  $N - 1$ . Выборки получены путем регистрации значений интенсивности флуоресценции при термостатировании образцов с различными красителями (SG, EvaGreen и PicoGreen).

Таблица 1. Средние значения  $p$ -value в зависимости от количества отсчетов флуоресценции

Наименование теста	Количество отсчетов $N$					
	3	4	5	6	7	8
Тест А	0,62±0,15	0,55±0,12	0,51±0,11	0,58±0,14	0,47±0,04	0,51±0,09
Тест Б	0,69±0,10	0,76±0,11	0,73±0,09	0,78±0,09	0,87±0,06	0,81±0,10

Полученные результаты показали, что допустимо регистрировать 3 отсчета флуоресценции на каждом температурном шаге для получения достоверных средних значений. Увеличение количества отсчетов незначительно влияет на изменение значений выборочного среднего и выборочной дисперсии и является нецелесообразным.

Таким образом, при использовании анализатора АНК-48 рекомендуется использовать пошаговый режим получения кривых плавления с получением 3 отсчетов на каждом температурном шаге после выхода на устойчивое обеспечение заданной температуры проб.

### **Благодарности**

Работа выполнена в рамках государственного задания № 075-00439-24-00 Министерства науки и высшего образования РФ.

### **Литература**

1. *Herrmann M. G., Durtschi J. D., Wittwer C. T., Voelkerding K. V.* Expanded Instrument Comparison of Amplicon DNA Melting Analysis for Mutation Scanning and Genotyping // *Clinical Chemistry*. 2007. Vol. 53, № 8. P. 1–3.

2. *Kim N., Kwon J. S., Kang W. H., Yeom S. I.* High-Resolution Melting (HRM) Genotyping // *Methods Mol Biol*. 2023. № 2638. P. 337–349.

## **СОВРЕМЕННЫЕ ПРИБОРЫ И МЕТОДЫ СБОРА ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА С ПОВЕРХНОСТИ**

**Д. Г. Петров\***, Е. Д. Макарова, В. Е. Курочкин

\* dimoon88@mail.ru

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

Сбор генетического материала часто является аспектом пробоподготовки нуклеиновых кислот, которому уделяют немного



внимания, однако от качества собранной ДНК/РНК часто зависит достоверность последующего анализа [1]. Особенное место занимают методы и приборы, позволяющие осуществлять отбор генетического материала с поверхности, что наиболее актуально в таких областях, как: эпидемиологический надзор, криминалистика, археология, геология, пренатальная медицина.

Многообразие современных технологий и приборов для взятия проб, в том числе контактной ДНК, с различных поверхностей и предметов можно классифицировать различными способами, наиболее простым представляется разделение на контактные и бесконтактные по отношению к поверхности методы и технологии.

В работе проанализирована эффективность сенсорных методов извлечения ДНК и устройств, используемых для сбора ДНК с различных поверхностей на месте преступления для судебно-медицинской лаборатории, а также рассмотрены проблемы, ограничения методов и современные тенденции развития.

Активное развитие методы сбора ДНК с поверхности получили в начале XXI ст., это обусловлено появлением высокостабильных сорбционных материалов, не требующих специальных условий хранения и при это обладающих биологической инертностью, а также активным внедрением в аналитическую химию, биологию и медицину миниатюрных устройств, позволяющих на своей основе производить рутинные операции пробоподготовки НК [2].

За время с момента начала исследований в этой области опубликовано множество работ, направленных на совершенствование методов и приборов, применяемых для извлечения генетического материала ДНК с поверхностей предметов, обнаруживаемых на местах преступлений. В работе представлен анализа известных ручных методов, как: скобление, вырезание, протирание тампонами, лифтинг клейкими лентами, так и новые методы и подходы с применением устройств.

В настоящее время происходит активное накопление данных и нацеленность на выявление влияющих факторов, а также на проверку правильности новых принципов и подходов. Об этом свидетельствуют выводы о необходимости дальнейших исследований, завершающие большинство публикаций [3].

Также проведен анализ возможности создания миниатюрной системы для забора пробоподготовки нуклеиновых кислот в автоматическом режиме, что может быть очень востребовано при создании высокоэффективных приборов для анализа НК.

### Литература

1. Петров Д. Г., Зайцева М. В., Антифеев И. Е., Есикова Н. А., Макарова Е. Д. Оптимизация процесса лизиса для проточного выделения нуклеиновых кислот // Письма в Журнал технической физики. 2023. Т. 49, № 23. С. 32–34. DOI :10.61011/PJTF.2023.23.56847.176A.

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.

3. Tozzo P., Mazzobel E., Marcante B. et al. Touch DNA Sampling Methods: Efficacy Evaluation and Systematic Review // Int. J. Mol. Sci. 2022. Vol. 23, Iss. 24. Id. 15541. DOI: 10.3390/ijms232415541.

## УСТРОЙСТВО УПРАВЛЕНИЯ ЭЛЕМЕНТОМ ПЕЛЬТЬЕ ДЛЯ ЗАДАЧ ФОРМИРОВАНИЯ ТЕМПЕРАТУРНЫХ РЕЖИМОВ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ПЦР В МИКРОФЛЮИДНОМ ЧИПЕ

И. М. Мацуга<sup>1,2,\*</sup>, А. Ю. Зайцева<sup>2</sup>, И. Е. Антифеев<sup>2</sup>, М. В. Зайцева<sup>2</sup>  
\* matsutai@mail.ru

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, 195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, 29

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

Полимеразная цепная реакция состоит из 25–50 циклов, в каждом из которых происходит удвоение числа копий амплифицируемого

участка ДНК [1], данное явление называется термоциклирование; оно возможно только благодаря плавному изменению температурных градиентов. Мультиплексная ПЦР — это один из методов анализа, позволяющий использование нескольких праймеров в одной реакционной камере для увеличения большего числа мишеней [2]. При проведении реакции на микрофлюидном чипе сокращается время от пробы до ответа и количество используемых реагентов. Однако на данный момент на рынке не существует готовых решений для управления процессом термоциклирования.

Цель: разработка и создание устройства управления стабилизацией токов и режимов термоциклирования на элементе Пельтье для проведения мультиплексной ПЦР на микрофлюидном чипе.

В качестве нагревателя для процесса термоциклирования был выбран элемент Пельтье. При подаче питания на данный элемент одна его сторона нагревается, в то время как другая охлаждается. Благодаря этому свойству при точном контроле подаваемого тока и его полярности возможно плавно менять температурные градиенты, обеспечивая правильное протекание ПЦР. Управляющая плата была разработана в программе для автоматизации проектирования печатных плат Altium Designer.

Результаты: разработана принципиальная схема и электрическая схема для управления процессом термоциклирования. Для обеспечения изменения полярности тока была использована схема «Н-моста». Подача напряжения на нагревательный элемент осуществлялась двумя микроконтроллерами, ответственными за логическое управление, выбор режима термоциклирования и связь с внешними устройствами, а также за поддержку соответствующего уровня напряжения на элементе Пельтье. Визуализация разработанной 3D-модели платы управления стабилизацией токов и режимов термоциклирования на элементе Пельтье для проведения мультиплексной ПЦР на микрофлюидном чипе представлена на рис. 1.

Разработанный модуль является автономным устройством, управляемым по защищенной от помех промышленной дифференциальной цифровой RS-485 шине, поэтому техническое решение может быть успешно масштабировано и применено в других приборах, тре-

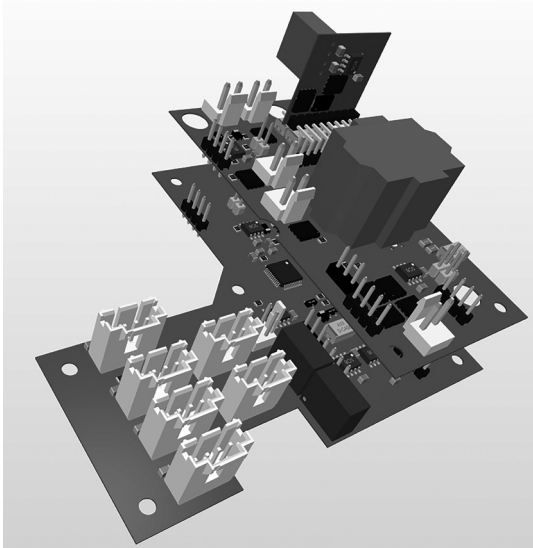


Рис. 1. 3D-модель разработанного устройства управления элементом Пельтье для задач формирования температурных режимов при проведении мультиплексной ПЦР в микрофлюидном чипе

бующих точного и стабильного термоконтроля. Выбранный интерфейс значительно облегчает внедрение этой платы в другие проекты в качестве готового решения для управления термоциклированием, с автоматическим выдерживанием температурных режимов. Благодаря внедрению таких технических решений, как более точная обратная связь по току, с использованием операционного усилителя, центральная плата не нуждается в дополнительной разработке решений для стабилизации токов и режимов термоциклирования.

### **Благодарности**

Исследование выполнено в рамках Государственного задания № 075-00439-24-00 по теме «Совершенствование методов медико-биологического контроля живых тканей и генетического анализа, их методического, программного и приборного обеспечения для научных исследований и практического применения».

### Литература

1. *Clark D. P.* Polymerase Chain Reaction // *Molecular Biology*. 2019. P. 168–198.
2. *Miller S. A., Dykes D. D., Polesky H. F.* A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells // *Nucleic Acids Res.* 1988. Feb 11. Vol. 16 (3). P. 1215. doi: 10.1093/nar/16.3.1215. PMID: 3344216; PMCID: PMC334765.

## МОДЕЛИРОВАНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ МОЛЕКУЛ ДНК ПРИ ПРОВЕДЕНИИ цкПЦР ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ТОЧНОСТИ ИЗМЕРЕНИЙ

А. П. Степанова<sup>1,2,\*</sup>, А. Л. Рунов<sup>1</sup>

\* a.p.stepanova@vniim.ru

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

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

Цифровая капельная полимеразная цепная реакция (цкПЦР) — метод измерения числа копий последовательности ДНК, являющийся в настоящее время общепризнанным в мировом сообществе [1]. В основе метода лежит разбиение ДНК-содержащей водно-масляной эмульсии на капли, с последующим проведением полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) в каждой из них. После прохождения реакции капли, содержавшие хотя бы одну копию последовательности ДНК, испускают флуоресцентный сигнал (и считаются «положительными»), тогда как «пустые» капли не флуоресцируют. Далее подсчитывается количество «положительных» и «пустых» капель, на основе результатов рассчитывается число молекул ДНК. Исходя из того, что распределение исследуемых последовательностей ДНК

по каплям происходит случайным образом, оно может быть приближенно описано с использованием распределения Пуассона [2].

С математической точки зрения распределение Пуассона применимо для бесконечно большого числа элементов или приближенного к нему, что вносит погрешность при его использовании для обработки результатов реального эксперимента. В частности, значимые искажения результатов наблюдаются, если общее число капель мало либо отношение числа «позитивных» капель к общему не соответствует оптимальному показателю [3–4].

Во избежание ошибок, дополнительно вносимых в результаты измерений за счет использования приближенной математической модели, был разработан новый метод расчета числа копий последовательности ДНК. Он заключается в многократно повторяющемся моделировании процессов, реализуемых в ходе генерации капель.

В методе используются число «позитивных» капель и общее число капель, полученные из реального эксперимента. При помощи моделирования происходит подбор числа молекул ДНК, которые при случайном распределении по общему числу капель образуют соответствующее число «позитивных» капель. Данная процедура повторяется многократно для определения среднего числа молекул ДНК, при котором количество смоделированных «позитивных» капель будет приближено к экспериментально полученному числу «позитивных» капель. При этом распределение результатов, полученных на каждом шаге цикла, относительно среднего показывает возможный реальный разброс значений числа копий последовательности ДНК. Нами было показано, что диапазон расхождения результатов, полученных при использовании моделирования, в сравнении с приближенно вычисленными составляет 1–6 %.

Таким образом, разработанный метод позволит рассчитывать число копий последовательности ДНК методом цкПЦР без использования распределения Пуассона. Это приведет к уменьшению вклада ошибки, вызванной ограничениями, накладываемыми на использование численных методов. Кроме того, разработанный метод применим для обработки результатов измерений, не подходящих для обработки с помощью распределения Пуассона.

### Литература

1. *Cao L., Cui X., Hu J., Li Z., Choi J. R., Yang Q., Lin M., Ying Hui L., Xu F.* Advances in digital polymerase chain reaction (dPCR) and its emerging biomedical applications // *Biosens Bioelectron.* 2017 Apr 15. Vol. 90. P. 459–474. doi: 10.1016/j.bios.2016.09.082. Epub 2016 Sep 25. PMID: 27818047; *Huggett J. F., Whale A.* Digital PCR as a novel technology and its potential implications for molecular diagnostics // *Clin Chem.* 2013 Dec. Vol. 59 (12). P. 1691–1693. doi: 10.1373/clinchem.2013.214742. Epub 2013 Oct 7. PMID: 24100808.
2. *Uhlig S. et al.* Validation of qualitative PCR methods on the basis of mathematical-statistical modelling of the probability of detection // *Accreditation and Quality Assurance.* 2015. Vol. 20 (2). P. 75–83. doi:10.1007/s00769-015-1112-9.
3. *Amar S. Basu* Digital Assays Part I: Partitioning Statistics and Digital PCR // *SLAS Technology.* 2017. P. 1–18. DOI: 10.1177/2472630317705680.
4. *Quan P.-L., Sauzade M., Brouzes E.* dPCR: A Technology Review // *Sensors.* 2018. Vol. 18 (4). P. 1271. doi:10.3390/s18041271.

## ПРИМЕНЕНИЕ АВТОМАТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ИЗОБРАЖЕНИЙ ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ ПРОЦЕССА ИЗМЕРЕНИЙ КОНЦЕНТРАЦИИ КОПИЙ ДНК МЕТОДОМ ЦИФРОВОЙ КАПЕЛЬНОЙ ПЦР

С. Б. Горняя\*, А. Л. Рунов

\* s.b.gorniyaya@vniim.ru

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

Число копий ДНК служит критическим параметром в медицинской диагностике, в системе контроля качества пищевых продуктов при обнаружении ГМО и в других областях. Методы на основе поли-

меразной цепной реакции (ПЦР) позволяют измерять число копий заданной последовательности ДНК. Именно метод цифровой капельной ПЦР признается мировым метрологическим сообществом как первичный референтный метод [1]. В его основе лежит проведение специфической ПЦР в большом количестве микрореакторов (капель микроэмульсии диаметром около 120 мкм) с последующим подсчетом т. н. «положительных» и «негативных» капель. Точность измерений достигается за счет статистики Пуассона [2], результат измерения зависит от объема капель. Таким образом, неопределенность объема вносит вклад в суммарную неопределенность измерения.

В лабораторной практике объем капель считается константой, заданной производителем. При расчете неопределенности следует учитывать, что объем капель реальной микроэмульсии может варьироваться в зависимости от используемых смесей. Для повышения точности измерений числа копий последовательности ДНК используют откалиброванный микроскоп, по микрофотографиям с которого вручную определяются радиусы капель. С учетом необходимого числа измерений данная процедура требует длительного времени.

В настоящей работе предложен метод оптимизации процесса нахождения среднего радиуса капель при помощи компьютерной программы, реализованной на языке Python. Она позволяет в полуавтоматическом режиме анализировать фотографии, идентифицировать капли, аппроксимируя их форму окружностями для вычисления радиусов и проводить первичную статистическую обработку результатов. Поиск окружностей на микрофотографиях осуществляется методом Хафа [3], при этом оператору предоставляется возможность выбора оптимальных параметров для обработки заданной группы фотографий.

Для валидации программного обеспечения были подготовлены 8 образцов реальной эмульсии, микрофотографии которых были обработаны двумя путями: оператором с помощью ПО из комплектации микроскопа и с помощью предложенного ПО (табл. 1).

Для всех образцов программа предоставляет радиусы, сопоставимые с данными операторов. Несмотря на приемлемые данные среднего радиуса, среднеквадратичное отклонение (СКО) данных



Таблица 1. Сравнение результатов измерений радиусов капель оператором и с помощью программы

		1	2	3	4	5	6	7	8
Оператор	Радиус, мкм	58,25	56,53	56,04	57,91	55,97	56,11	56,82	56,69
	СКО, %	1,0	1,2	1,4	1,4	1,6	2,2	1,6	1,7
Программа	Радиус, мкм	56,11	57,96	54,75	57,8	56,25	57,11	57,19	58,39
	СКО, %	3,18	3,06	2,27	3,34	3,2	3,91	3,34	2,71

программы значительно выше (2,5–4 %). Подобрать параметры правильным образом, можно добиться понижения СКО до 2 % в случае недеформированных капель. Показано, что использование такого подхода показывает сопоставимые с ручным измерением результаты, исключая влияние оператора и существенно сокращая время анализа микрофотографий.

Данное ПО прошло процедуру добровольной сертификации программного обеспечения, используемого в метрологии. Разработанное ПО используется в составе Государственного первичного эталона единицы числа копий ДНК ГЭТ 220-2024 на базе ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева».

### Литература

1. *Whale A. S., Jones G. M., Pavšič J., Dreo T., Redshaw N., Akyürek S., Akgöz M., Divieto C., Sassi M. P., He H. J., Cole K. D., Bae Y. K., Park S. R., Deprez L., Corbisier P., Garrigou S., Taly V., Larios R., Cowen S., Devonshire A. S.* Assessment of digital PCR as a primary reference measurement procedure to support advances in precision medicine // *Clinical Chemistry*. 2018. Vol. 64 (9). P. 1296–1307.

2. *Taswell C.* Limiting Dilution Assays for the Determination of Immunocompetent Cell frequencies. III. Validity Tests for the Single-Hit Poisson Model // *Journal of Immunological Methods*. 1984. Vol. 72. P. 29–40.

3. *Yuen H. K., Princen J., Illingworth J., Kittler J.* Comparative study of Hough Transform methods for circle finding // *Image and Vision Computing*. 1990. Vol. 8, № 1. P. 71–77.

## ЭФФЕКТИВНОЕ ВОЗБУЖДЕНИЕ И РЕГИСТРАЦИЯ ЕДИНИЧНЫХ ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫХ МОЛЕКУЛ В МАССИВЕ ZMW

А. М. Сафонова<sup>1,2,\*</sup>, А. С. Калмыков<sup>1</sup>, А. С. Гритченко<sup>1</sup>, П. Н. Мелентьев<sup>1</sup>,  
А. С. Букатин<sup>3</sup>, А. А. Евстапов<sup>3</sup>, Я. И. Алексеев<sup>4</sup>, В. И. Балыкин<sup>1</sup>  
\* amsafonova\_1@edu.hse.ru

<sup>1</sup>Институт спектроскопии РАН, 108840, Москва, Троицк, ул. Физическая, 5

<sup>2</sup>Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики»,  
101000, Москва, ул. Мясницкая, 20

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

<sup>4</sup>НПФ Синтол, 127434, Москва, ул. Тимирязевская, 42, корп. Б

Оптическое обнаружение и визуализация одиночных атомов и молекул являются одними из значимых задач нанофотоники, представляя огромное научное и практическое значение от исследования эффектов квантовой электродинамики [1] до разработки одномолекулярных устройств [2].

Регистрация флуоресценции единичной молекулы является довольно деликатным измерением, требуя тщательного выбора интенсивности лазерного излучения, времен экспозиции, подбора схемы возбуждения и т. д. Основным подходом в улучшении регистрации слабых оптических сигналов является снижение паразитной засветки [3]. Этого можно достигнуть, используя наноструктуры, изготовленные в непрозрачной металлической пленке — так называемые волноводы нулевой моды (zero mode waveguide, ZMW) [4]. ZMW наноструктуры представляют собой наноотверстия диаметром порядка 100 нм, изготовленные в оптически непрозрачной металлической пленке, толщиной около 100 нм (рис. 1, а, б).

Несмотря на большое количество работ, в которых используются ZMW, вопрос эффективного возбуждения и регистрации флуоресценции единичных молекул в ZMW до сих пор остается открытым. Для эффективного исследования процессов на одномолекулярном

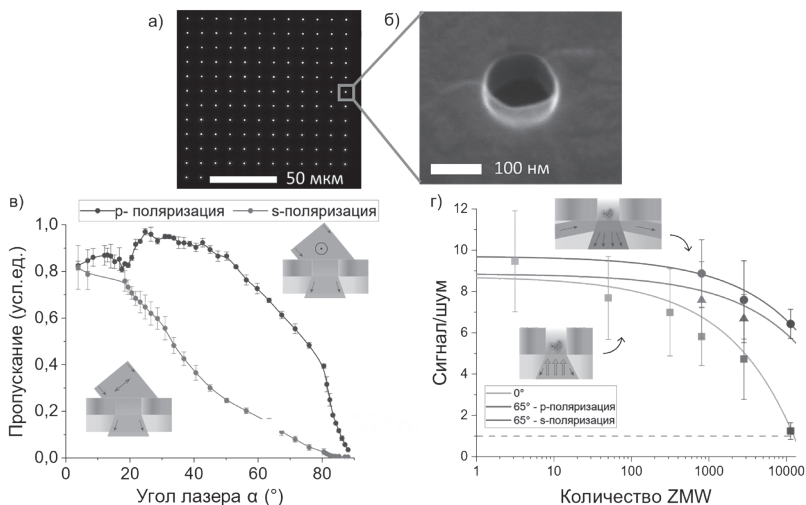


Рис. 1. Использование ZMW для детектирования флуоресцентных молекул: *а* — фотография массива ZMW при прохождении белого света; *б* — СЭМ-изображение единичного ZMW; *в* — прохождение лазерного излучения  $\lambda = 532$  нм различной поляризации через ZMW диаметром 100 нм в зависимости от угла падения; *г* — зависимость соотношения сигнал/шум от количества освещенных ZMW в двух схемах возбуждения: эпифлуоресцентной и при угле падения лазерного излучения  $65^\circ$

уровне внутри наноколодцев необходимо знать распределение поля внутри нановолноводов. Важной характеристикой данных наноструктур является прохождение света через нанотверстие, что влияет на эффективность возбуждения молекул, находящихся внутри ZMW [5]. В настоящей работе представлены результаты поисковых исследований эффективного возбуждения и регистрации флуоресценции единичных молекул ROX в ZMW диаметром 100 нм, изготовленных в пленке алюминия толщиной 100 нм на основе измерения пропускания света через ZMW (рис. 1, в) и измерения флуоресценции молекул в двух схемах возбуждения и регистрации: (1) эпифлуоресцентная схема, (2) возбуждение под углом (рис. 1, г).

Как показали результаты измерений, выбор условий для оптической микроскопии единичных молекул в ZMW является критически важным при проведении измерений с большим числом ZMW одновременно (т. н. параллельные измерения). Достижение большего количества ZMW, в которых проводятся измерения, происходит за счет увеличения диаметра лазерного луча, что приводит к катастрофическому росту паразитной люминесценции. Так, в классической эпифлуоресцентной схеме одновременное освещение более 10 000 ZMW приводит к невозможности выделения полезного сигнала на фоне шума. В схеме возбуждения под углом переход от параллельных измерений в 1000 ZMW к 10 000 не сильно влияет на соотношение сигнал/шум, позволяя сохранить значение больше 6 (рис. 1, *з*). Проведенные измерения позволили достигнуть высокой эффективности измерения флуоресценции единичных молекул, позволяя измерять кинетики их взаимодействия с поверхностью.

### Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-42-00049).

### Литература

1. *Nayak K. P., Melentiev P. N., Morinaga M., Le Kien F., Balykin V. I., Hakuta K.* Optical nanofiber as an efficient tool for manipulating and probing atomic fluorescence // *Opt Express*. 2007. Vol. 15, № 9. P. 5431–5438.
2. *Eid J. et al.* Real-time DNA sequencing from single polymerase molecules // *Science*. 2009. Vol. 323, № 5910. P. 133–138.
3. *Melentiev P. N., Kalmykov A. S., Gritchenko A. S., Shemeteva M. P., Safonova A. M., Markov M. S., Balykin V. I., Bukatin A. S., Vaulin N. V., Belov D. A., Evstrapov A. A., Baklykov D. A., Andriyash A. V., Barbasheva A. A., Kuguk A. K., Ryzhkov V. V., Rodionov I. A., Kudryavtsev D. S., Mozhaeva V. A., Son L. V., Tsetlin V. I., Khlebtsov B. N., Kobzev M. S., Kuznetsova Yu. O., Sharipov B. T., Yashkin A. S., Alekseev Ya. I.* Optical methods for the detection of single biomolecules: visualization, detection and sequencing of DNA molecules // *Uspekhi Fizicheskikh Nauk*, Jul. 2024. doi: 10.3367/UFNr.2024.07.039720.

4. *Levene M. J., Korlach J., Turner S. W., Foquet M., Craighead H. G., Webb W. W.* Zero-mode waveguides for single-molecule analysis at high concentrations // *Science*. 2003. Vol. 299. P. 682–686.

5. *Bethe H. A.* Theory of diffraction by small holes // *Physical review*. 1944. Vol. 66. P. 163.

## ПРИМЕНЕНИЕ ТВЕРДОТЕЛЬНЫХ НАНОПОР ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ТРАНСПОРТА БИОЛОГИЧЕСКИХ МОЛЕКУЛ

Д. В. Лебедев<sup>1,2,\*</sup>, Н. В. Ваулин<sup>1</sup>, П. К. Афоничева<sup>2</sup>, Д. А. Кириленко<sup>3</sup>,  
А. Н. Аблеев<sup>4</sup>, Ю. Д. Иванов<sup>4</sup>, А. С. Букатин<sup>1,2</sup>, И. С. Мухин<sup>1,5</sup>  
\* denis.v.lebedev@gmail.com

<sup>1</sup>СПБАУ РАН им. Ж. И. Алфорова, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, 8/3, лит. А

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

<sup>3</sup>ФТИ им. А. Ф. Иоффе, 194021, Санкт-Петербург, Политехническая ул., 26

<sup>4</sup>Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В. Н. Ореховича, 119121, Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр. 8

<sup>5</sup>Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, 195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, 29

Развитие методов синтеза твердотельных наноструктур, методов электрического и оптического детектирования одиночных биомолекул, а также технологий молекулярной биологии привело к появлению нового класса высокочувствительных биосенсоров, принцип действия которых основан на взаимодействии биомолекул с наноразмерными структурами. Данные биосенсоры крайне востребованы в генетических исследованиях и устройствах для point-of-care диагностики. Перспективным направлением развития биосенсоров

являются технологии нанопорового детектирования, позволяющие проводить качественный и количественный анализ одиночных биомолекул, включая секвенирование ДНК.

На сегодняшний день большой интерес вызывает изучение транспорта молекул и ионов в нанопорах и наноканалах. Эти исследования актуальны и имеют фундаментальное значение в различных областях науки и техники, таких как разделение смесей и получение чистых веществ [1–3], электрохимическое преобразование энергии [4, 5], разработка биохимических сенсоров [6], физиология и молекулярная биология клеток [7] и т. д. В настоящее время весьма актуально создание синтетических аналогов ионных каналов и насосов клеточных мембран с целью изучения принципов их работы и использования в различных приложениях [8, 9]. Также активно изучается влияние электромагнитного поля и заряда на селективные свойства мембран, разделяющих растворы электролитов с различными концентрациями, ввиду наличия многочисленных практических приложений, среди которых разработка микро- и нанофлюидных устройств [10, 11], получение энергии путем смешения соленой и пресной воды [12], создание потенциометрических сенсоров [13].

Представленная работа посвящена исследованию закономерностей транспорта молекул и ионов в единичных твердотельных нанопорах. В ходе работы были исследованы принципы организации активного и пассивного транспорта модельных единичных биомолекул в отдельной твердотельной нанопоре, а также разработаны методы *in situ* наблюдения конформационных изменений этих молекул под воздействием активных веществ в поре.

### Благодарности

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

### Литература

1. *Strathmann H.* Ion-Exchange Membrane Separation Processes. Elsevier, Amsterdam, 2004.

2. Волков В. В., Мчедlishvili Б. В., Ролдугин В. И., Иванчев С. С., Ярославцев А. Б. Мембраны и нанотехнологии // Российские нанотехнологии. 2008. Т. 3, № 11–12. С. 67–99.

3. Ярославцев А. Б., Никоненко В. В. Ионообменные мембранные материалы: свойства, модификация и практическое применение // Российские нанотехнологии. 2009. Т. 4, № 3–4. С. 137–159.

4. Cipollina A., Micale G. Sustainable Energy from Salinity Gradients. Elsevier/Woodhead Publishing, 2016.

5. Pourcelly G., Nikonenko V. V., Pismenskaya N. D., Yaroslavtsev A. B. Applications of charged membranes in separation, fuel cells, and emerging processes. Chapter 20 in Ionic interactions in natural and synthetic macromolecules, John Wiley & Sons, 2012.

6. Banica F. G. Chemical Sensors and Biosensors: Fundamentals and Applications. John Wiley & Sons, Chichester, UK, 2012.

7. Malmivuo J., Plonsey R. Bioelectromagnetism — Principles and Applications of Bioelectric and Biomagnetic Fields. Oxford University Press, New York, 1995.

8. Tagliacucchi M., Szeleifer I. Transport mechanisms in nanopores and nanochannels: can we mimic nature? // Mater. Today. 2015. Vol. 18 (3). P. 131–142.

9. Guan W., Reed M. A. Electric field modulation of the membrane potential in solid-state ion channels // Nano Lett. 2012. Vol. 12 (12). P. 6441–6447.

10. Sparreboom W., Van den Berg A., Eijkel J. C. T. Principles and applications of nanofluidic transport // Nature nanotech. 2009. Vol. 4. P. 713–720.

11. Picallo C. B., Gravelle S., Joly L., Charlaix E., Bocquet L. Nanofluidic osmotic diodes: theory and molecular dynamic simulation // Phys. Rev. Lett. 2013. Vol. 111. P. 244501.

12. Siria A., Poncharal P., Bianco A. L., Fulcrand R., Blasé X., Purcell S. T., Bocquet L. Giant osmotic energy conversion measured in a single transmembrane boron nanotube // Nature. 2013. Vol. 494. P. 455–458.

13. Bobacka J., Ivaska A., Lewenstam A. Potentiometric ion sensors // Chem. Rev. 2008. Vol. 108. P. 329–351.

## ИНЕРЦИАЛЬНЫЕ ПЬЕЗОПРИВОДЫ В СИСТЕМАХ ПОЗИЦИОНИРОВАНИЯ И СКАНИРОВАНИЯ БИОАНАЛИТИЧЕСКОГО ОБОРУДОВАНИЯ

С. В. Пичахчи<sup>1,2,\*</sup>, О. М. Горбенко<sup>1</sup>, С. Ю. Лукашенко<sup>1</sup>, И. Д. Сапожников<sup>1</sup>,  
М. Л. Фельштын<sup>1</sup>, А. О. Голубок<sup>1,2</sup>  
\* pichakhchi.s@yandex.ru

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

<sup>2</sup>СПБАУ РАН им. Ж. И. Алферова, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, 8/3,  
лит. А

Системы прецизионного механического позиционирования, сканирования и манипулирования с нанометровой точностью находят широкое применение в современном биоаналитическом и медицинском оборудовании. Известны как чисто механические, основанные на использовании рычага, дифференциального винта или редуктора типа «мягкая пружина — жесткая мембрана», так и электромагнитные и пьезоэлектрические системы наноперемещений.

Пьезоэлектрические приводы можно разделить на три категории:

1. Резонансные приводы, в которых вибрации в ультразвуковом диапазоне частот передаются через фрикционную связь на движущийся элемент [1].

2. Шаговые приводы, которые работают в квазистатическом режиме. В этом случае опоры привода попеременно прижимаются к неподвижному основанию в процессе сжатия и растяжения [2].

3. Пьезоинерциальные приводы, движение которых определяется соотношением между силой трения и силой инерции [3].

Инерциальные шаговые пьезоэлектрические приводы привлекают своей простотой, компактностью и легкостью управления. В их основе лежит простая конструкция, обычно состоящая из пьезоактуатора с закрепленным на нем стержнем и слайдера, скользящего вдоль стержня.



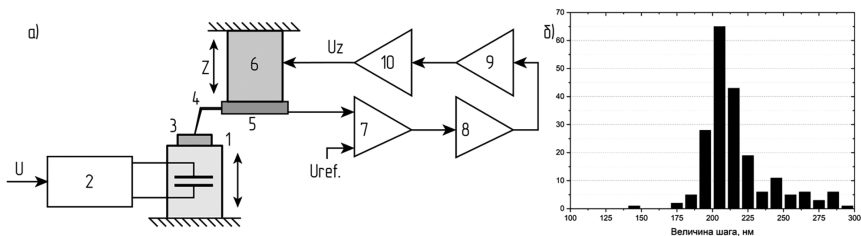


Рис. 1. Схема измерения величины шагов (а): 1 — инерциальный пьезопривод, 2 — схема формирования управляющих импульсов, 3 — образец, 4 — вольфрамовый зонд, 5 — трубчатый датчик, 6 — сканер Z, 7 — дифференциальный усилитель, 8 — интегратор, 9 — усилитель ОС, 10 — высоковольтный усилитель; гистограмма распределения шагов (б)

В работе представлена модель в программном пакете COMSOL, включающая схему управления привода, и его опытный образец. Проведенное моделирование позволило выбрать оптимальную схему управления, обеспечивающую, с одной стороны, достаточно резкий фронт управляющего импульса для реализации инерциального принципа перемещения, а с другой стороны, исключить возникающие в системе вредные пьезорезонансные колебания. Проведено измерение распределения средней величины шага в различных режимах работы и сопоставление результатов моделирования с полученными экспериментальными данными. Выбор оптимальной схемы управления уменьшил дисперсию величины шагов пьезопривода, что положительно сказалось на качестве его работы.

Для измерения величины шагов инерциальный шаговый пьезопривод включался в «home-made» сканирующий силовой микроскоп (ССМ) в качестве системы грубого сближения образца с ССМ зондом (рис. 1). В процессе измерения ССМ сканер Z после захвата взаимодействия между зондом и образцом втягивался, инерциальный привод совершал шаг или серию шагов, после чего сканер Z вытягивался, и взаимодействие захватывалось вновь. Разница в положениях сканера Z принималась за смещение инерциального пьезопривода. Таким образом набиралась статистика шагов пьезопривода и строилась гистограмма их распределения.

Результаты моделирования качественно совпадают с данными, полученными в ходе эксперимента, что подтверждает пригодность модели для дальнейшего использования при разработке инерциальных пьезоприводов.

Рассмотренный в работе инерциальный шаговый пьезоэлектрический привод апробирован в составе сканирующего микроскопа ионных токов, предназначенного для исследования функционирования живых клеток. Отметим также, что рассмотренный компактный и простой в управлении прецизионный пьезопривод может найти применение в микро- и нанофлюидных системах с адаптивной геометрией наноканалов.

### Литература

1. *Zhao C.* Ultrasonic Motors: Technologies and Applications. Science Press: Beijing, China; Berlin, Germany, Springer Verlag, 2011.

2. *Müller K. D., Marth H., Pertsch P., Gloess R., Zhao X.* Piezo-Based, Long-Travel Actuators for Special Environmental Conditions // In Proceedings of the 10th International Conference on New Actuators, Bremen, Germany, 14–16 June 2006. P. 149–153.

3. *Burhanettin Koc, Bülent Delibas.* Impact Force Analysis in Inertia-Type Piezoelectric Motors // Actuators. 2023. Vol. 12. P. 52.

## ВЛИЯНИЕ ГЕОМЕТРИИ АПЕРТУРЫ СКМ-ЗОНДА НА ИОННУЮ ПРОВОДИМОСТЬ: ЭКСПЕРИМЕНТ И МОДЕЛЬ

С. Ю. Лукашенко\*, О. М. Горбенко, М. Л. Фельштын, И. Д. Сапожников,  
М. В. Жуков, С. В. Пичахчи, А. О. Голубок

\* lukashenko13@mail.ru

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

Стекло́нные нано́пипеткИ (НП) с ради́усом аперту́ры  $\sim(10\text{--}50)$  нм широко используются в качестве зондов при исследовании нативных биологических образцов в сканирующей капиллярной микроскопии (СКМ) [1]. НП также привлекают внимание исследователей в связи с возможностью их использования в качестве твердотельных нанопор для биомолекулярного анализа и детектирования [2]. Благодаря высокой чувствительности НП к уровню рН и концентрации электролита, а также к дзета-потенциалу био- и наночастиц, протекающих через апертуру, они активно используются в качестве разнообразных био- и хемосенсоров [3, 4], в том числе при секвенировании ДНК [5]. Важнейшим фактором, определяющим чувствительность СКМ-зондов и сенсоров на основе НП, являются размер и форма апертуры. В данной работе предложен способ уменьшения на порядок исходного радиуса апертуры НП с помощью осаждения углерода под действием фокусированного электронного пучка в сканирующем электронном микроскопе. В работе экспериментально и теоретически исследован ионный транспорт в СКМ-зондах с радиусом апертуры  $\sim(2\text{--}40)$  нм в растворе  $1\times\text{PBS}$  вдали от поверхности образца и при приближении к поверхности на расстояние, соизмеримое с радиусом НП. Предложен способ учета электрохимических реакций путем сравнения теоретического расчетного значения ионного тока, не учитывающего электрохимическую реакцию на  $\text{AgCl}$  электродах, с экспериментально измеренным электронным током, протекающим по электронной цепи между электродами. Сравнение экспериментальной и расчетной зависимостей  $I(V)$  позволяет определить размер апертуры НП, совпадающий с 5 % точностью с размером, полученным путем прямого измерения в просвечивающем электронном микроскопе.

При исследовании ионной проводимости вдали от образца проведено сравнение модельных и экспериментальных вольт-амперных характеристик с учетом электрохимических реакций, протекающих на  $\text{AgCl}$  электродах. Показано, что наилучшее согласие экспериментальных и расчетных данных дает модель Пуассона — Нернста — Планка — Навье — Стокса (П-НП-НС), учитывающая электроосмотический диффузный слой и лимитирующий фактор скорости электрохимических реакций.

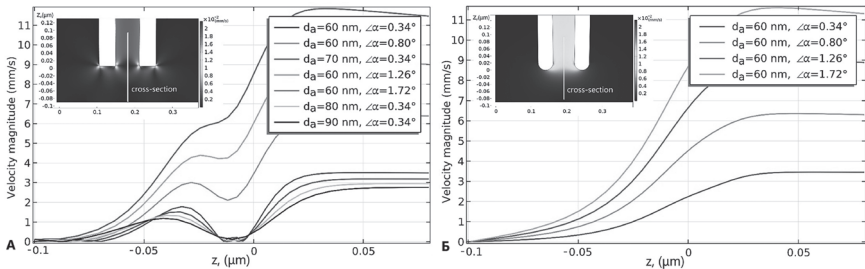


Рис. 1. Профили скоростей конвективного потока электролита по сечению в области апертуры пипетки (cross-section) при радиусе скругления торцов 3 нм (А) и 20 нм (Б) при разной геометрии вершины НП

В рамках численного эксперимента была обнаружена область с нулевой скоростью в поле скоростей электролита в апертуре НП, положение которой зависит от радиуса кривизны торца апертуры и угла при вершине НП (рис. 1). Как известно, значительной проблемой при использовании НП в качестве сенсоров является быстрый транзит частиц аналита через высокочувствительную область в апертуре. Для повышения точности детектирования при сохранении высокой производительности крайне важно регулировать скорость прохождения частиц через эту чувствительную область. Мы предполагаем, что обнаруженная особенность, приводящая к снижению скорости электролита, может быть использована для управления потоком, в частности, для замедления прохождения нано- и биологических частиц через область апертуры НП в зависимости от их размера, дзета-потенциала, приложенного напряжения и концентрации электролита.

При исследовании ионной проводимости НП, расположенной вблизи от поверхности образца, в некоторых случаях обнаружено нетривиальное поведение зависимости ионного тока от расстояния. При отрицательном заряде на поверхности образца, на кривой подвода на расстоянии, соизмеримом с размером апертуры, наблюдается увеличение ионного тока до значений, превышающих ток насыщения, а затем уменьшение тока. В данной работе предложена модель, позволяющая объяснить как ветвь монотонного увеличения, так и ветвь монотонного убывания тока по мере сближения СКМ-зонда и образца.

### Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 24-79-00169).

### Литература

1. *Page A., Perry D., Unwin P. R.* Multifunctional scanning ion conductance microscopy // *Proc. R. Soc. A.* 2017. Vol. 473. Art. 20160889.
2. *Stuber A., Schlotter T., Hengsteler J., Nakatsuka N.* Solid-State Nanopores for Biomolecular Analysis and Detection // *Lisdat F., Plumeré N. (eds) Trends in Biosensing Research. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology.* Springer, Cham, 2023. P. 187.
3. *Kececi K., Dinler A., Kaya D.* Review — Nanopipette Applications as Sensors, Electrodes, and Probes: A Study on Recent Developments // *J. Electrochem. Soc.* 2022. Vol. 169 (2). P. 027502.
4. *Xu C., Yang D., Wang Y., Liu R., Wang F., Tian Z., Hu K.* Micro/nanoelectrode-based electrochemical methodology for single cell and organelle analysis // *Nano Research.* 2024. Vol. 17 (1). P. 196–206.
5. *Sze J. Y. Y., Ivanov A. P., Cass A. E. G. et al.* Single molecule multiplexed nanopore protein screening in human serum using aptamer modified DNA carriers // *Nat. Commun.* 2017. Vol. 8. P. 1552.

### МЕТОДИКА ХАРАКТЕРИЗАЦИИ НАНОКАПИЛЛЯРНОГО ЗОНДА: ИЗМЕРЕНИЕ АПЕРТУРЫ И МЕХАНИЧЕСКОЙ СТАБИЛЬНОСТИ

**М. В. Жуков\***, С. Ю. Лукашенко, И. Д. Сапожников, М. Л. Фельштын,  
О. М. Горбенко, А. О. Голубок

\* cloudjyk@yandex.ru

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

Среди перспективных подходов для изучения биологических объектов можно выделить методы на основе нанопипеток (НП), такие как сканирующая капиллярная микроскопия, метод локальной фиксации потенциала и инъекционные шприцевые НП [1]. Очевидно, что качество и разрешение этих методов определяются формой и размером НП. Современные подходы характеристики НП, такие как оптическая (ОМ) и сканирующая/просвечивающая электронная микроскопия (СЭМ, ПЭМ) [2], имеют ограничения, связанные с дифракционным пределом в ОМ, наличием зарядки, плавления и загрязнения образца углеродом под электронным пучком, а также сложностью подготовки образцов в СЭМ/ПЭМ. Кроме того, важным параметром является механическая устойчивость, поскольку при измерениях присутствуют механические боковые и осевые нагрузки НП.

В данной работе предложена методика для исследования апертуры, массы, жесткости и механической устойчивости нанопипеток с использованием трубчатых пьезодатчиков в различных модах АСМ и СЭМ.

Для формирования НП использовалась установка вытягивания с резистивным нагревом, в качестве датчика использовалась пьезотрубка [3], на которую закреплялась исследуемая НП в качестве зонда (рис. 1, *а*). Для исследования апертуры НП использовалась решетка периодических игл TGT01 [4], т. к. радиус игл  $\sim 10$  нм меньше или сопоставим с размерами апертуры капиллярной НП. При использовании стандартной полуконтактной моды АСМ были замечены срывы в области вершин без четкой границы апертуры НП. Предположительно это связано с застреванием кончика иглы в НП или многократными контактами игл решетки с боковыми стенками НП. Для повышения достоверности данных была реализована и применена «прыжковая» (horping) мода сканирования, которая заключается в отводе и подводе зонда в каждой точке области сканирования (рис. 1, *б*). Использование horping моды позволило оценить геометрию и размер апертуры НП.

Из экспериментов следует, что оптимальное значение подавления амплитуды, при которой НП остается устойчивой для 5–10 участков

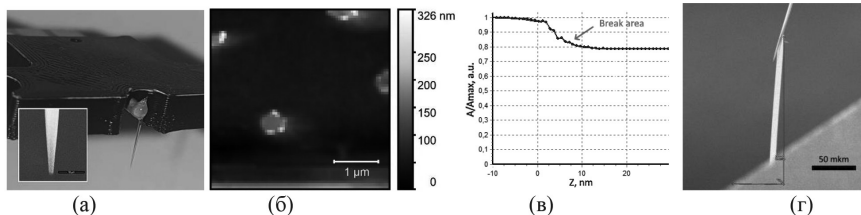


Рис. 1. Оптическое изображение пьезотрубки с НП (а), на вставке представлена область вершины НП в СЭМ (масштабная линейка 10 мкм). АСМ-изображение массивов игл решетки TGT01, полученное зондом с НП в hopping mode АСМ (б). Кривая подвода в полуконтактной mode АСМ с областью надлома НП (в). СЭМ-изображение бокового изгибания НП кантилевером с известной жесткостью в камере электронного микроскопа (г)

сканирования при разрешении  $100 \times 100$  точек, является  $A = 10 \%$ . При значениях  $A$  выше  $15-20 \%$ , как видно из графиков подвода (рис. 1, в), наблюдается потеря механической устойчивости (поломка вершины НП), вызванная слишком большими силами взаимодействия. Исходя из равенства жесткости балки (пьезотрубка) с НП и без нее, можно определить массу НП, зная сдвиг частот, массу пьезотрубки и учитывая в формуле эффективную массу для колеблющейся балки ( $m \sim 6 \cdot 10^{-6}$  кг). По значениям массы НП, зная частоту и амплитуду гармонических колебаний пьезотрубчатого датчика, была оценена критическая сила поломки НП ( $f \sim 50-70$  мкН).

Кроме того, была оценена жесткость НП при использовании мягкого кантилевера, закрепленного на пьезоактуаторе в камере электронного микроскопа (рис. 1, г). Кантилевер выступал в качестве рычага воздействия на НП для ее бокового отклонения. Если приравнять коэффициенты жесткости и отклонения по формуле Гука между собой, зная отклонения кантилевера и НП, а также жесткость кантилевера (измеренную по методу Садера [5]), можно рассчитать жесткость НП ( $k \sim 25,9$  мН/м).

Таким образом, использование трубчатого пьезодатчика с закрепленной не его конце НП позволяет точно измерять геометрию и размеры апертуры НП в hopping mode АСМ, тогда как стандартный полуконтактный режим приводит к появлению артефактов на изо-

бражении. Предложена методика оценки механической устойчивости нанопипетки по кривым подвода в АСМ, измерена масса НП, а также ее жесткость при использовании кантилевера в качестве рычага воздействия в камере СЭМ.

### Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 24-79-00169).

### Литература

1. *Maalouf M. M., Jain M., Actis P., Pourmand N.* Single-cell manipulation using nano pipettes // *Nanotechnology*. 2012. Vol. 2. P. 384–387.
2. *Perry D., Momotenko D., Lazenby R. A., Kang M., Unwin P. R.* Characterization of nanopipettes // *Analytical chemistry*. 2016. Vol. 88 (10). P. 5523–5530.
3. *Gorbenko O. M., Zhukov M. V., Lukashenko S. Y., Pichahchi S. V., Sapozhnikov I. D., Felshyn M. L., Golubok A. O.* On the Spatial Resolution of a Piezoresonance Probe Sensor with a Tungsten Needle // *Journal of Surface Investigation: X-ray, Synchrotron and Neutron Techniques*. 2023. Vol. 17 (3). P. 578–584.
4. *Neto C., Craig V. S.* Colloid probe characterization: radius and roughness determination // *Langmuir*. 2001. Vol. 17 (7). P. 2097–2099.
5. *Sader J. E., Chon J. W. M., Mulvaney P.* Calibration of rectangular atomic force microscope cantilevers // *Review of scientific instruments*. 1999. Vol. 70 (10). P. 3967–3969.



## ОПТИЧЕСКАЯ МУЛЬТИСЕНСОРНАЯ СИСТЕМА

С. Н. Глебов\*, А. Ю. Зайцева, М. С. Мазинг, Л. В. Новиков

\* stepangleboff@yandex.ru

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

Множество современных оптических методов для неинвазивной диагностики в медицинской практике основаны на спектральном анализе отраженного или пропущенного света с использованием набора узкополосных оптических сенсоров [1]. Значительный интерес представляют *мультисенсорные* оптические системы [2].

В настоящей работе рассматривается мультисенсорная оптическая система, каждый сенсор которой содержит широкополосный оптический фильтр с отличающимися нелинейными частотными характеристиками в рабочей полосе частот. Это неселективные сенсоры, обладающие перекрестной чувствительностью во всем рабочем диапазоне длин волн. Для ее исследования была создана цифровая модель. Проведено ее исследование с использованием цифровой модели в соответствии с выражением (1):

$$\vec{U} = S \cdot \vec{I} = S \cdot \vec{I}, \quad (1)$$

где  $\vec{U}$  — вектор-столбец значений выходных напряжений сенсоров при регистрации падающего излучения,  $S$  — прямоугольная матрица частотных характеристик оптических фильтров,  $\vec{I}$  — вектор-столбец значений интенсивности падающего на сенсоры излучения. Перепирав (1) построчно, получаем (2):

$$\begin{cases} U_1 = S_1(\lambda_1) \cdot I(\lambda_1) + \dots + S_1(\lambda_n) \cdot I(\lambda_n) \\ \dots \\ U_k = S_n(\lambda_1) \cdot I(\lambda_1) + \dots + S_n(\lambda_n) \cdot I(\lambda_n) \end{cases} \quad (2)$$

Данное выражение представляет собой систему линейных уравнений. Как известно, единственное нетривиальное решение она может иметь при  $n \leq k$  и  $rank(S) = n$ . Рассмотрим пример для пяти оптических сенсоров в диапазоне частот 410–850 нм, с заданными

частотными характеристиками чувствительности  $S$  (рис. 1, а) и интенсивностью  $\vec{I}$ , равной нулю на всех длинах волн, кроме пяти (рис. 1, б).

В данном случае вектор  $\vec{U}$  имеет размер  $1 \times 51 \times 5$  — по числу сенсоров, а размерность матрицы  $S$  и вектора  $\vec{I}$  можно сократить до  $5 \times 55 \times 5$  и  $5 \times 15 \times 1$ , вследствие того что  $\vec{I}(\lambda_i) = 0, \lambda_i \in \{455, 540, 590, 725, 780\} \text{ нм}$ .  $\vec{I}(\lambda_i) = 0, \lambda_i \in \{455, 540, 590, 725, 780\} \text{ нм}$ .

Подобная формулировка позволяет выполнять количественную оценку интенсивности  $\vec{I}$ , используя выходное напряжение сенсоров  $\vec{U}$  и их чувствительность  $S$ . Для нахождения неизвестных  $\vec{I}(\lambda_i), \lambda_i \in \{\lambda_1, \dots, \lambda_k\} \text{ нм}$  при  $\vec{I}(\lambda_i) = 0, \lambda_i \in \{\lambda_1, \dots, \lambda_k\} \text{ нм}$  необходимо решить обратную задачу (3):

$$\vec{I} = S^{-1} \cdot \vec{U} \vec{I} = S^{-1} \cdot \vec{U} \vec{I} \quad (3)$$

Сравнение результата решения (3) для значений  $\vec{U}$ ,  $S$  модельных данных, описанных на рис. 1, и  $\vec{I}$  из них же подтверждает адекватность алгоритма оценки интенсивности на заданных длинах волн.

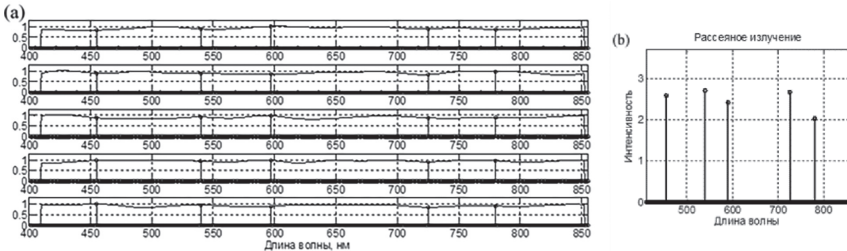


Рис. 1. (а) Модели частотных характеристик фильтров пяти оптических сенсоров:  $S_1(\lambda), S_2(\lambda), S_3(\lambda), S_4(\lambda), S_5(\lambda)$

$S_1(\lambda), S_2(\lambda), S_3(\lambda), S_4(\lambda), S_5(\lambda)$ . Вертикальными

линиями обозначены пять выбранных длин волн

$\lambda_i \in \{455, 540, 590, 725, 780\} \text{ нм}$

. (б) Модель спектральной характеристики интенсивности излучения,

падающего на сенсоры.  $\vec{I}(\lambda_i) = 0, \lambda_i \in \{455, 540, 590, 725, 780\} \text{ нм}$

$\vec{I}(\lambda_i) = 0, \lambda_i \in \{455, 540, 590, 725, 780\} \text{ нм}$

### Литература

1. *Vavrinsky E. et al.* The current state of optical sensors in medical wearables // Biosensors. 2022. Vol. 12, № 4. P. 217.
2. *Bogomolov A.* Developing multisensory approach to the optical spectral analysis // Sensors. 2021. Vol. 21, № 10. P. 3541.

## ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОЙ ДЕТЕКЦИИ В ДИАГНОСТИЧЕСКИХ УСТРОЙСТВАХ ФОРМАТА POINT-OF-CARE

А. Р. Агишева\*, Е. А. Николаева, Е. А. Мучкинова

\* aagisheva@drdbiotech.ru

ООО «РАПИД БИО», 121205, Москва, Большой Бульвар, 42, стр. 1

В настоящее время в диагностических устройствах формата point-of-care широко используются методы анализа, основанные на использовании методов спектрофотометрии и колориметрии. Электрохимическая детекция массово используется в датчиках измерения уровня глюкозы в крови. В последние годы электрохимические биосенсоры активно развиваются и все более широко используются в практике здравоохранения. Они предлагают отличные возможности для определения биомаркеров различных заболеваний благодаря своей высокой чувствительности и селективности, низкой стоимости, использованию малых объемов аналита и простотой миниатюризации [1].

Примером использования электрохимического биосенсора является система i-STAT компании Abbott, которая включает в себя портативный анализатор и тестовые картриджи. Компания предлагает широкий их спектр для определения различных аналитов: кардиомаркеры, электролиты, маркеры коагуляции и др. Данные картриджи совместимы с переносным анализатором, что позволяет

проводить комплекс тестов на месте оказания медицинской помощи. Анализатор возможно подключить к электронной медицинской карте и лабораторной информационной системе, что обеспечивает автоматическую передачу данных сразу после анализа [2].

В качестве примера можно привести картридж на определение концентрации Тропонина I (сTnI). Система i-STAT использует метод иммуноферментного анализа (ИФА) формата «сэндвич». Антитела, специфичные к сTnI, иммобилизованы на электрохимическом датчике, изготовленном на кремниевой подложке. Конъюгированные с ферментной меткой антитела, а также другие необходимые компоненты химической реакции хранятся внутри картриджа в виде лиофилизированных гранул. Субстрат для ферментной реакции хранится в жидком виде в блистере, встроенном в картридж. Для анализа используется всего 17 мкл цельной крови, полученной из прокола пальца пациента. После загрузки образца в картридж и его установки в анализатор, весь дальнейший процесс протекает автоматически, без участия оператора. Картридж содержит микрофлюидные каналы с реагентами. Поток жидкости контролируется за счет мембраны, установленной в картридже, и поршнем в анализаторе. При подключении картриджа к анализатору поршень воздействует на мембрану, создавая давление в каналах [3]. В результате образец последовательно перемещается по камерам для взаимодействия с реагентами и продукты реакции попадают на электрод, где происходит электрохимическая детекция аналита интереса. Весь анализ занимает не более 10 минут [2].

Компания Proxim Diagnostics выпустила картридж и анализатор, схожие с i-STAT. Принцип работы также основан на методе ИФА, и картридж содержит микрофлюидные каналы с лиофилизированными компонентами, а также блистеры с субстратом и промывочным буфером. Управление потоком жидкости осуществляется с помощью мембранных насосов в анализаторе. Компания выпускает картриджи для анализа кардиологических маркеров, в том числе сTnI, прокальцитонина (PCT), а также для выявления респираторных инфекций. Время анализа — около 15 минут, необходимый объем образца — от 30 до 100 мкл [4].

В электрохимических системах часто используются небольшие объемы реагентов, что позволяет сократить количество необходимых реагентов и, соответственно, объем анализируемого образца. Анализатор и картридж обладают компактными размерами, что делает их удобными для использования в отделениях скорой помощи и интенсивной терапии. Электрохимическая детекция является чувствительным методом. Система i-STAT на определение сTnI количественно определяет данный маркер при минимальной концентрации 0,02 мкг/л [5], а система Proxim для определения для сTnI имеет лимит детекции 1,5 пг/мл, для PCT — 0,01 нг/мл [4].

Компания «Рapid Био» также начала разработку микрофлюидного картриджа для количественного определения прокальцитонина методом иммуноферментного анализа с электрохимической детекцией. Были разработаны электроды с использованием одностенных углеродных нанотрубок, модифицированные коллоидными частицами золота. На электрод наносили первичные захватывающие антитела к PCT, всю свободную поверхность блокировали бычьим сы-

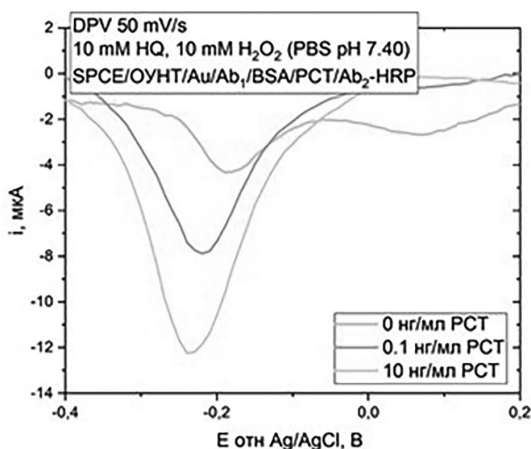


Рис. 1. DPV при скорости сканирования 50 мВ/с при добавлении различных концентраций прокальцитонина (PCT)

вороточным альбумином (BSA). На электрод добавляли различную концентрацию рекомбинантного антигена РСТ. Добавляли вторичные детектирующие антитела, конъюгированные с ферментом пероксидазой хрена (HRP). Непрореагировавшие остатки смывали буфером для промывки, а после электрод помещали в раствор субстрата и регистрировали данные с помощью метода дифференциальной импульсной вольтамперометрии (DPV) при скорости сканирования 50 мВ/с (рис. 1).

На основе полученных данных, а также зарубежного опыта можно отметить несомненные преимущества электрохимической детекции: метод обладает высокой чувствительностью и не требует использования специализированных реагентов, что позволяет снизить затраты за счет минимального объема необходимого образца. Применяющийся уже во многих диагностических устройствах метод иммуноанализа легко адаптируется под электрохимическую детекцию. Считаем, что данное направление прикладной электрохимии представляет значительный интерес для создания новых приборов для point-of-care.

### Литература

1. *Banakar M., Hamidi M., Khurshid Z., Zafar M. S., Sapkota J., Azizian R., Rokaya D.* Electrochemical Biosensors for Pathogen Detection: An Updated Review // *Biosensors (Basel)*. 2022. Oct 26. Vol. 12 (11). P. 927.
2. <https://www.globalpointofcare.abbott/us/en/product-details/apoc/i-stat-system-us.html>.
3. *Campbell J. L. E., Omakor J. E.* Amelioration of heterophile antibody immunosensor interference. US8084272B2, United States, 2011. P. 12–27.
4. <https://www.proximdx.com/>.
5. *Apple F. S., Murakami M. M., Christenson R. H., Campbell J. L., Miller C. J., Hock K. G., Scott M. G.* Analytical performance of the i-STAT cardiac troponin I assay // *Clinica Chimica Acta*. 2004. Vol. 345, Issues 1–2. P. 123–127.

## ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ СЕНСОР НА ОСНОВЕ G-КВАДРУПЛЕКСА ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ БАКТЕРИЙ НА ПРЕДПРИЯТИЯХ ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Д. А. Горбенко\*, П. В. Филатов, М. А. Висков, Т. А. Вартамян  
\* daryarogova7@gmail.com

*Международный научно-образовательный центр физики наноструктур,  
Университет ИТМО, Санкт-Петербург, 197101, Кронверкский пр., д. 49*

Патогенные микроорганизмы на предприятиях пищевой промышленности представляют серьезную угрозу для здоровья населения во всем мире, ежегодно вызывая миллионы случаев заболеваний и сотни тысяч смертей. Несмотря на существующие методы обнаружения патогенов, остается острая потребность в разработке более эффективных, быстрых и доступных систем контроля безопасности пищевых продуктов, способных минимизировать риски для потребителей и экономические потери для производителей.

В этом исследовании представлены хемилюминесцентные пероксидазоподобные ДНК-наномашин (PxDm) для обнаружения пищевых патогенов в быстром и высокоселективном формате. Определена эффективность разработанных PxDm для обнаружения 16S рРНК *E. coli* и области гена субъединицы АТФ-зависимой нуклеазы А *S. aureus* NCTC 8325.

PxDms были охарактеризованы с использованием: (1) синтетических одноцепочечных и двуцепочечных последовательностей; (2) продуктов амплификации нуклеиновых кислот с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) и изотермической амплификации, опосредованной петлей (LAMP) гена *S. aureus* NCTC 8325; (3) выделенной полногеномной РНК; (4) клеточного лизата *E. coli*.

Для *E. coli* предел обнаружения для одноцепочечного аналита составил 12,47 нМ, а фактор специфичности продемонстрировал сильную дискриминацию в отношении нецелевых микроорганизмов, таких как *S. aureus* (87,89 %), *H. influenzae* (86,27 %) и *L. monocytogenes* (84,66 %).

Для *S. aureus* предел обнаружения одноцепочечного синтетического аналита составил 4,7 нМ. Также была показана высокая селективность определения целевой последовательности с точностью 81,46 % для несовпадений отдельных нуклеотидов и почти со 100 % точностью для различения *S. aureus* от других бактерий.

PxDm также продемонстрировал способность раскручивать двуцепочечные последовательности с пределом обнаружения 155,79 нМ и 76,52 % специфичностью.

Дополнительная характеристика была проведена с использованием теста PxDm с колориметрическими субстратами. Чувствительность анализа PxDm с использованием колориметрического субстрата была снижена в 76,13 раза по сравнению с хемилюминесцентным методом.

Обнаружение *S. aureus* NCTC 8325 с использованием PxDm было оценено с фотонным счетчиком H11890. Определенный предел обнаружения составил 6,71 нМ, что близко к 4,71 нМ, полученным с помощью многорежимного микропланшетного считывателя SPARK.

Заключительный этап исследования проиллюстрировал способность системы PxDm обрабатывать более сложные биологические образцы. В частности, эффективность PxDm была проверена с использованием ампликонов АТФ-зависимой нуклеазной субъединицы гена *S. aureus* NCTC 8325. Различные концентрации продуктов ПЦР были обнаружены в реакционных смесях через 10 минут при комнатной температуре. Более сложные продукты изотермической амплификации (LAMP) были идентифицированы после 5-минутной денатурации. Наличие нецелевых продуктов амплификации снизило хемилюминесцентный сигнал ниже отрицательного контроля, вероятно, из-за неудачного образования PxDm.

Одновременно система PxDm обнаружила РНК *E. coli* после предварительной денатурации при 300 нг/мкл из культур с 10 000 клеток/мл. Сигнал РНК от нецелевых микроорганизмов с той же концентрацией упал до уровней отрицательного контроля. Также были проведены начальные эксперименты по обнаружению лизата клеток, которые показали статистически значимую ( $p < 0,05$ ) разницу между целевой реакцией и отрицательным контролем.



Данное исследование демонстрирует потенциал хемилюминесцентных РхDm как эффективного инструмента для быстрого и специфичного обнаружения пищевых патогенов, в частности *E. coli* и *S. aureus*. Система показала высокую чувствительность и селективность при работе с различными типами образцов, включая синтетические последовательности, продукты амплификации и клеточные лизаты. Несмотря на необходимость дальнейших исследований для оптимизации и валидации метода в реальных условиях пищевого производства, полученные результаты указывают на перспективность РхDm как многообещающего подхода к улучшению контроля безопасности пищевых продуктов, что может значительно снизить риски для здоровья потребителей и минимизировать экономические потери производителей.

### **Благодарности**

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-72-00045).

## **РАЗРАБОТКА И ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТОТИПА ЭЛЕКТРОННОГО СЕНСОРНОГО ЦИФРОВОГО ДЕГУСТАТОРА МЯСНОЙ ПРОДУКЦИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕТОДОВ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ**

**В. В. Романова**, М. С. Мазинг, А. Ю. Зайцева\*

\* anna@da-24.ru

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

Одной из важных проблем, с которой сталкивается мясоперерабатывающая промышленность в настоящее время, является необходимость оперативного контроля качества мясного сырья и готовой

продукции. Существующие современные способы комплексной оценки качества мясной продукции являются достаточно трудоемкими и требуют квалифицированного персонала. В связи с этим разработка новых экспресс-методов анализа представляется весьма перспективной [1–2].

Основной целью данной работы являлась разработка и исследование нового автоматизированного аппаратно-программного комплекса для качественного экспресс-анализа мясного сырья и мясных продуктов на основе мультисенсорных технологий и методов машинного обучения. В отличие от существующих коммерческих систем анализа пищевых продуктов, таких как Taste Sensing System, ASTREE и Multiarray, которые также основаны на потенциометрических измерениях, разработанный прототип электронного сенсорного цифрового дегустатора обладает рядом преимуществ.

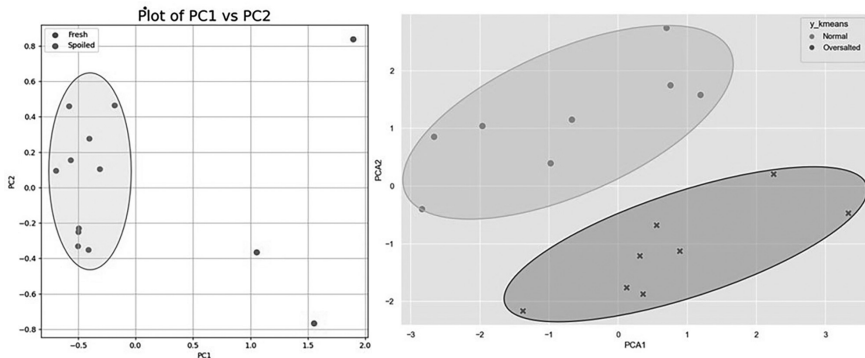
Прототип включает сенсорный модуль, состоящий из 4 катион-чувствительных электродов (для определения  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $Mg^{2+}$ ), 2 анион-чувствительных электродов (для определения  $Cl^-$  и  $F^-$ ) и одного рН-электрода. Данный набор ионоселективных электродов позволяет проводить более комплексную оценку ионного состава образцов мясной продукции по сравнению с имеющимися на сегодняшний день аналогами [3]. Для обработки многомерных данных, получаемых от сенсорного модуля, был разработан специальный измерительный модуль, представляющий собой многоканальный потенциометр. Программное обеспечение прототипа дегустатора реализует методы машинного обучения, а именно: метод главных компонент и метод кластерного анализа k-средних для анализа данных и визуализации результатов в виде «цифровых образов» исследуемых образцов. Это позволяет не только количественно оценивать содержание ключевых ионов, но и выявлять отклонения качественных характеристик продукции от заданного эталона.

В результате анализа данных образцов мясной продукции была произведена классификация объектов анализа с созданием группы эталонных образцов, по которой можно сделать заключение о тождественности входящего и эталонного образцов или о принадлежности образца некоторому классу объектов.

Каждый образец характеризуется двумерной точкой в декартовой прямоугольной системе координат. Результаты анализа в графическом виде наглядно отображались на экране персонального компьютера.

Более того, метод главных компонент и кластерный анализ позволяет четко определять границы области эталонных образцов. Как видно из полученных графиков на рис. 1, испорченные и пересоленные образцы находятся за пределами предполагаемой заданной эталонной области, что говорит об их качественных отклонениях. Таким образом, разработанная система позволяет определять соответствие конкретного образца сырья заданному «эталону» и визуально отображать результат анализа в графическом виде.

Проведенные испытания подтвердили работоспособность разработанного прототипа и его способность обнаруживать отклонения качества мясной продукции. По сравнению с имеющимися аналога-



а

б

Рис. 1. *а* — результат анализа методом главных компонент: круглые метки (Fresh) — свежие образцы образуют эталонную область; звездочки (Spoiled) — несвежее сырье находится за пределами эталонного облака; *б* — результат кластерного анализа *k*-средних: точки (Normal) — свежий комбинированный фарш с нормой закладки соли и перца образуют эталонную область; крестики (Spoiled) — образцы свежего пересоленного и переперченного комбинированного фарша находятся за пределами эталонного облака

ми, данная система обеспечивает более комплексный анализ состава образцов, экспрессность, автоматизацию процесса и наглядное представление результатов, что делает ее перспективным инструментом для оперативного контроля качества мясной продукции.

### Благодарности

Работа выполнена в Институте аналитического приборостроения Российской академии наук (Санкт-Петербург) в рамках Государственного задания № 075-00439-24-00 по теме «Совершенствование методов медико-биологического контроля живых тканей и генетического анализа, их методического, программного и приборного обеспечения для научных исследований и практического применения», FFZM-2022-0010, номер гос. регистрации 122032300337-4.

### Литература

1. *Tan J., Xu J.* Applications of electronic nose (e-nose) and electronic tongue (e-tongue) in food quality-related properties determination: A review // *Artificial Intelligence in Agriculture*. 2020. Vol. 4. P. 104–115.
2. *Romanova V. V., Sibirtsev V. S., Zaitceva A. Y.* Miniature potentiometric system for determination of  $H^+$ ,  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$ ,  $NO_3^-$  — and  $Ca^{2+}$  ions in liquid biological environment // *St. Petersburg Polytechnic University Journal. Physics and Mathematics*. 2023. Vol. 16, № 3.2. P. 323–328.
3. *Mazing M. S., Zaitceva A. Y., Davydov R. V.* Application of the Kohonen neural network for monitoring tissue oxygen supply under hypoxic conditions // *Journal of Physics: Conference Series*. IOP Publishing, 2021. Vol. 2086, № 1. P. 012116.

## **КЛАССИФИКАЦИЯ СОРТОВ ЯБЛОК ПО ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ СТАТИСТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА МНОГОМЕРНЫХ ДАННЫХ**

**А. Э. Митенков<sup>1\*</sup>, Э. Е. Строкатова<sup>1</sup>, С. Н. Глебов<sup>2</sup>, М. С. Мазинг<sup>2</sup>,  
А. Ю. Зайцева<sup>2</sup>  
\* mazmari@mail.ru**

*<sup>1</sup>Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,  
195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, 29*

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

В настоящем исследовании рассматривается применение электрохимических сенсоров для анализа и классификации сладких и кислых сортов яблок. Методология включает использование статистических методов многомерного анализа данных, в частности метода главных компонент (МГК), для визуализации различий между сортами на основе их химических и кислотных характеристик. Полученные результаты продемонстрировали высокую точность и скорость классификации сортов яблок, что подчеркивает потенциал применения электрохимических сенсоров в области пищевого анализа.

В последние годы наблюдается значительное усиление контроля качества и безопасности пищевой продукции. Оценка качества продукции является важным аспектом как для производителей, так и для потребителей. Особое внимание в современных исследованиях уделяется фруктам, которые содержат множество биологически активных соединений, богатый комплекс минералов и витаминов.

Электрохимический анализ представляет собой совокупность различных методов, применяемых в зависимости от специфики эксперимента. В данном исследовании использован метод потенциометрии для определения уровня кислотности в яблоках и яблочном соке. Потенциометрия основана на измерении электродных потен-

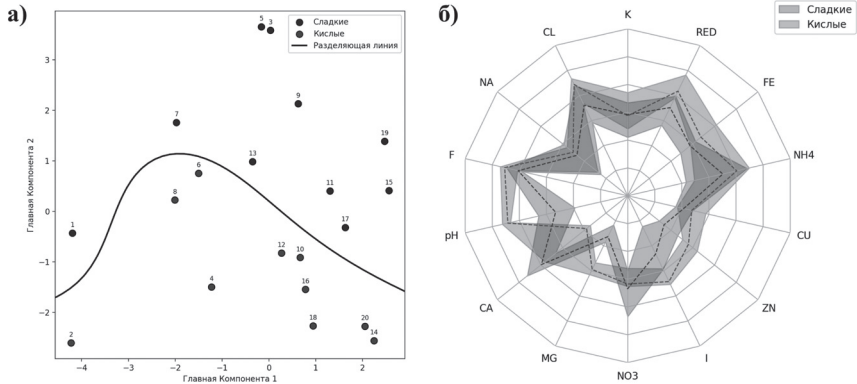


Рис. 1. Классификация кислых (Смит) и сладких (Гала) сортов яблок с использованием метода главных компонент и метода опорных векторов (а) и сравнительная химическая характеристика в виде радиальной диаграммы (б)

циалов, что позволяет оценить концентрацию ионов в растворе. Преимущества данного метода заключаются в высокой чувствительности к концентрации ионов и скорости выполнения анализа, не требующего сложной предварительной подготовки образцов.

Результаты экспериментального исследования продемонстрировали, что электрохимические сенсоры, в сочетании с методами статистического анализа многомерных данных, являются эффективным инструментом для классификации сортов яблок на основе химического состава их сока. Классификация кислых и сладких сортов яблок с использованием метода главных компонент и метода опорных векторов, а также их сравнительная химическая характеристика диаграммы представлены на рис. 1, а, б.

Визуализация в пространстве главных компонент показала возможность разделения яблок кислого и сладкого сортов при помощи метода опорных векторов, а визуализация на радиальной диаграмме продемонстрировала различия в концентрациях таких элементов, как цинк, магний, кальций и йод, а также в уровнях кислотности (рН).

### Литература

1. *Lu L. et al.* Electronic tongue and electronic nose for food quality and safety // *Food Research International*. 2022. Vol. 162. P. 112214.
2. *Santini A. O., Pezza H. R., Pezza L.* Development of a sensitive potentiometric sensor for determination of fumaric acid in powdered food products // *Food chemistry*. 2012. Vol. 134, № 1. P. 483–487.
3. *Wang K. et al.* Review of electrochemical biosensors for food safety detection // *Biosensors*. 2022. Vol. 12, № 11. P. 959.

## МЕТОД ОЦЕНКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЧЕЛОВЕКА НА ОСНОВЕ ТЕХНОЛОГИЙ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДАНЫХ АПК ОПТИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА

Л. А. Маркушина<sup>1, \*</sup>, М. С. Мазинг<sup>2</sup>, А. Ю. Зайцева<sup>2</sup>  
\* markushina010@gmail.com

<sup>1</sup>СПбАУ РАН им. Ж. И. Алферова, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, 8/3, лит. А

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

Тканевая перфузия — важный показатель, который помогает анализировать функциональное состояние человека. Существуют специализированные устройства, которые могут оценить его, регистрируя световые лучи с различными длинами волн, проходящие через ткань. Определение границ нормы измерений для здоровых людей обеспечит использование неинвазивных методов для диагностики и мониторинга здоровья пациентов.

Цель работы: разработка программной методики детектирования отклонений функционального состояния человека на основе мето-

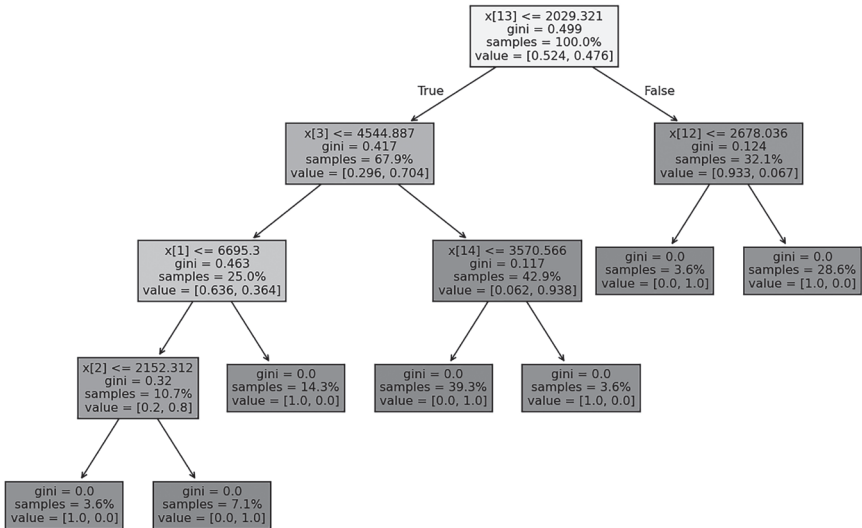


Рис. 1. Графическое представление дерева решений

дов машинного обучения с использованием данных АПК оптического мониторинга [1].

**Материалы и методы:** проведен сравнительный анализ пациентов после операций с искусственным кровообращением и контрольной группы, построена модель машинного обучения, основанная на алгоритме случайного леса (Random Forest).

**Результаты:** выявлены длины волн (460–485 нм, 680 нм, 900 нм), являющиеся наиболее важными для детекции нарушений, написана первая версия программы, регистрирующая отклонение от нормы с точностью 72 % на имеющейся выборке (рис. 1).

## Литература

1. Машинное обучение с PyTorch и Scikit-Learn, 2024, Sebastian Raschka, Yuxi Liu, and Vahid Mirjalili



## **РАЗРАБОТКА АППАРАТНО-ПРОГРАММНОГО КОМПЛЕКСА ДЛЯ ОЦЕНКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ МИКРОСОСУДОВ**

**М. Ю. Заневская<sup>1, \*</sup>**, М. С. Мазинг<sup>2</sup>, А. Ю. Зайцева<sup>2</sup>  
\* mnevskaya1@gmail.com

*<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет аэрокосмического приборостроения, 190000, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 67, лит. А*

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

Нарушения микроциркуляции в тканях играют ключевую роль в патогенезе осложнений различных заболеваний [1]. В настоящее время одним из перспективных направлений диагностики нарушений систем кровоснабжения является использование неинвазивных оптических технологий, позволяющих определять и анализировать различия в оптических свойствах биологических тканей, на основании чего делать выводы о характеристиках биологической среды и происходящих в ней процессах [2, 3].

Цель данной работы — разработка и создание портативного аппаратно-программного комплекса (АПК) для оценки функционального состояния системы микроциркуляции с возможностью регистрации микроциркуляторных параметров на различной глубине биологической ткани.

Разработанный аппаратно-программный комплекс основан на методе неинвазивной оптической спектрометрии. Сенсорный модуль данного интегрированного программно-аппаратного комплекса представляет собой многоканальный оптический спектральный анализатор, работающий в видимом и ближнем инфракрасном (ИК) спектральных диапазонах (от 410 до 940 нм), способный улавливать обратно рассеянное из биологической ткани излучение. Для измерения параметров микроциркуляции на разных глубинах исследуемой среды система разработана в двух различных конфигурациях, которые отличаются расстоянием от источника излучения до фото-

детектора. С целью проведения экспериментальных исследований были разработаны АПК с расстояниями «источник — детектор» 5 мм и 10 мм, что позволило осуществить мониторинг микроциркуляции на глубине 2,5 мм и 5 мм соответственно. Записанный системой массив данных передан на вычислительный блок через Bluetooth-соединение для дальнейшего анализа.

Было проведено экспериментальное исследование с участием 10 испытуемых. С целью инструментальной оценки гемодинамических явлений в биологической ткани каждому испытуемому была предложена функциональная нагрузка в виде окклюзионного теста, представляющего собой кратковременное прекращение кровоснабжения верхней конечности с помощью манжеты. Многоканальные измерения проводились в импульсном режиме с интервалом 5 секунд.

Анализ полученного спектрального отклика позволил получить значение уровня насыщения крови кислородом (оксигенации) и степень кровенаполнения микроциркуляторного русла. На рис. 1 представлена динамика изменения уровня насыщения крови кислородом в процессе функциональной нагрузки для типичного испытуемого. Данные регистрировались аппаратно-программным комплексом

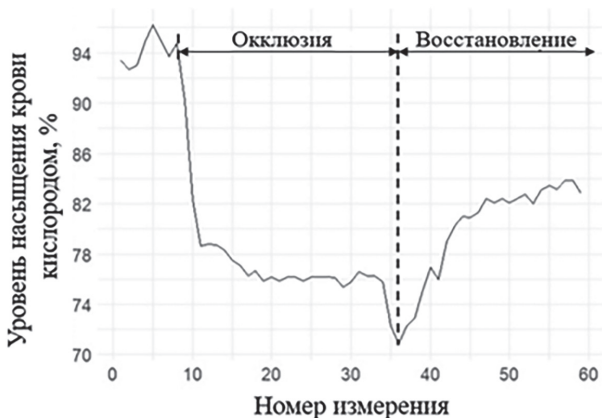


Рис. 1. Динамика изменения показателя насыщения тканей кислородом при функциональной нагрузке для типичного испытуемого

с глубины 2,5 мм при расстоянии «источник — детектор», равном 5 мм.

Одним из важных параметров микроциркуляции является скорость восстановления кровоснабжения тканей после нагрузки [4]. Восстановление тканей у разных людей происходит с разной скоростью, быстрое достижение исходного уровня оксигенации после снятия нагрузки свидетельствует об эффективности работы сосудов и их способности адаптироваться к изменениям внешних условий. Напротив, медленное увеличение параметров микроциркуляции свидетельствует о нарушениях в микроциркуляторном русле. Считается нормальным, если время достижения максимального уровня оксигенации у здоровых людей достигается в первые 25–40 секунд после снятия окклюзии [5]. Исследования показали, что разработанная оптическая система обладает высокой чувствительностью к изменению уровня оксигенации тканей и может быть использована для диагностики функционального состояния микроциркуляции. Возможность измерения микроциркуляции на разных глубинах биологической ткани значительно расширяет перспективы в области биомедицинской диагностики.

### Литература

1. *De Keijzer I. N. et al.* What is new in microcirculation and tissue oxygenation monitoring? // *Journal of Clinical Monitoring and Computing*. 2022. Vol. 36, № 2. P. 291–299.
2. *Messina A., De Backer D., Cecconi M.* Assessment of the Macro- and Microcirculation // *Management of Dysregulated Immune Response in the Critically Ill*. Cham: Springer International Publishing, 2023. P. 151–167.
3. *Vasudevan V., Unni S. N.* Skin microcirculatory responses: A potential marker for early diabetic neuropathy assessment using a low-cost portable diffuse optical spectrometry device // *Journal of Biophotonics*. 2024. Vol. 17, № 3. P. e202300335.
4. *Xie H., Mao X., Wang Z.* Corrigendum: Effect of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on blood lactate clearance after high-intensity test in adult men // *Frontiers in Physiology*. 2024. Vol. 15. P. 1505723.

5. *Fusco D. et al.* Understanding the link between COVID-19, blood pressure and obesity: Perspectives from the New Orleans experience // *American Heart Journal Plus: Cardiology Research and Practice*. 2024. P. 100460.

## **СРАВНЕНИЕ АЛГОРИТМОВ МАСШТАБИРОВАНИЯ КАРДИОЦИКЛОВ ДЛЯ ЗАДАЧ СИНХРОННОГО АНАЛИЗА**

**К. В. Зайченко, Д. О. Шевяков\***

\* sevakovdaniil@gmail.com

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

При исследованиях активности сердца стандартным электрокардиографическим методом (ЭКГ) становится невозможным регистрировать сигналы, содержащие полезную диагностическую информацию и имеющие низкую амплитуду и высокую частоту. Для регистрации этих низкоамплитудных высокочастотных составляющих — микропотенциалов используется новый высокоэффективный авторский метод — электрокардиография сверхвысокого разрешения (ЭКГ СВР) [1]. Данный метод позволит обнаружить ЭКГ-признаки развития патологий сердечно-сосудистой системы. Для апробации метода на базе Института экспериментальной медицины ФГБУ «НМИЦ имени В. А. Алмазова» проводятся серии экспериментов по моделированию острой ишемии миокарда на подопытных крысах, во время которых осуществляется регистрация и запись электрокардиосигналов сверхвысокого разрешения (ЭКС СВР) [2].

Для детального анализа тонкой структуры регистрируемых ЭКС СВР разрабатывается уникальная методика синхронного анализа их циклической структуры на протяжении всей записи. Она включает в себя масштабирование и последующее усреднение отдельных

циклов биоэлектрической активности. [3]. Синхронный анализ кардиоциклов требует обязательного масштабирования, поскольку прямое усреднение кардиоциклов приводит к накоплению ошибок и потере характерных морфологических признаков. Все алгоритмы масштабирования временных рядов основаны на вычислении пути деформации, минимизирующего разницу между сравниваемыми сигналами. Метод оценки этой разницы определяет способ преобразования сигналов.

Алгоритм динамического трансформирования времени предназначен для нахождения оптимального соответствия между временными последовательностями. Таким образом, показателем разницы данного алгоритма является расстояние между временными рядами. Само расстояние может быть рассчитано разными методами, а трансформация направлена на то, чтобы это расстояние стало минимальным [4]. Результат применения алгоритма динамического трансформирования времени показан на рис. 1.

Результат выполнения алгоритма явно демонстрирует, что проведенное масштабирование имеет ряд недостатков. Масштабирование приводит к появлению плоских участков сигнала в местах, где кардиоцикл был растянут, а также искажению зубцов в местах его сжатия. Избежать этого можно, применяя сглаживание пути деформации при его расчете. Даже с учетом возникающих артефактов можно утверждать, что усреднение кардиоциклов демонстрирует уменьшение помехообразных колебаний.

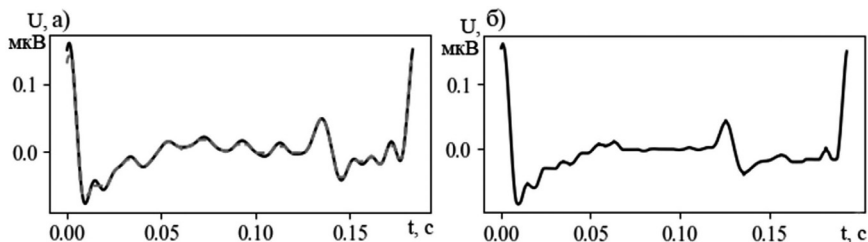


Рис. 1. Результат применения алгоритма динамического трансформирования времени: *а* — масштабированные кардиоциклы; *б* — усреднение 1000 кардиоциклов

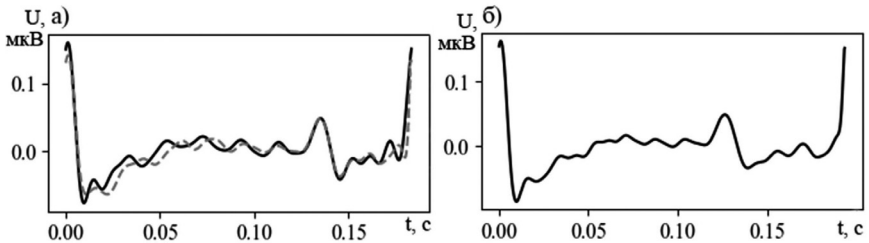


Рис. 2. Результат применения алгоритма совмещения опорных точек: *а* — масштабированные кардиоциклы; *б* — усреднение 1000 кардиоциклов

Основной недостаток динамического трансформирования времени — высокая вычислительная сложность, обусловленная необходимостью сравнения всех точек временных рядов. Для решения этой проблемы используется подход, основанный на сравнении не всех, а лишь характерных точек временного ряда, как, например, в алгоритме совмещения опорных точек [5]. Очевидным недостатком этого алгоритма является необходимость выделения характерных точек перед расчетом пути деформации. Результат применения алгоритма совмещения опорных точек показан на рис. 2.

На рис. 2 ясно видно, что, в отличие от алгоритма динамического трансформирования времени, данный алгоритм масштабирует кардиоциклы так, что по временной оси совпадают только характерные зубцы. Благодаря этому удается избежать возникновения артефактов, искажающих форму кардиоциклов. Хотя усреднение кардиоциклов с использованием данного метода меньше подавляет помехообразные колебания, артефактов при этом не возникает. Добиться более качественного подавления помех можно, включив в усредняемую выборку больше кардиоциклов.

Применение разных подходов к масштабированию влияет на конечный результат синхронного анализа. Таким образом, алгоритм динамического трансформирования времени показывает лучшие результаты по устранению шума на меньшем числе усредняемых кардиоциклов, но при этом искажает информацию артефактами. В свою очередь, алгоритм совмещения опорных точек не вносит искажения

при масштабировании, но требует большей выборки для усреднения, чтобы устранить помехи.

### Благодарности

Работа поддержана Минобрнауки РФ, номер гос. регистрации 122032300151-6, тема № FZZM-2024-0011.

### Литература

1. *Зайченко К. В., Кордюкова А. А., Логачев Е. П., Лучкова М. Н.* Медицинские аспекты применения радиолокационных методов обработки сигналов при реализации электрокардиографии сверхвысокого разрешения // *Медицинская техника*. 2021. № 1 (325). С. 21–24.
2. *Зайченко К. В., Гуревич Б. С., Жмылева А. А., Князев А. А., Логачев Е. П.* Методика электрокардиографических исследований при проведении экспериментов по созданию искусственной ишемии у подопытных животных // *Медицинская техника*. 2019. № 4. С. 17–20.
3. *Garvey J. Lee.* ECG Techniques and Technologies // *Emerg. Med. Clin. N Am* 24. 2006. P. 725.
4. *Keogh E. J., Pazzani M. J.* Derivative Dynamic Time Warping // *Proceedings of the 2001 SIAM International Conference on Data Mining (SDM)*. 2001.
5. *Ramsay J., Silverman B. W.* The Registration and Display of Functional Data. Springer Series in Statistics. Springer-Verlag, New York, Second edition, 2005. P. 127–145.

## ПРИМЕНЕНИЕ ПРИНЦИПА БРИТВЫ ОККАМА ДЛЯ СТАБИЛИЗАЦИИ ОБРАБОТКИ ИМПЕДАНСНЫХ СПЕКТРОВ

Н. А. Бойцова\*, А. А. Абелит, Д. Д. Ступин

\* natab2002@yandex.ru

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

На сегодняшний день электрическая импедансная спектроскопия (ЭИС) находит широкое применение в самых различных областях науки: от экспериментальной физики до биологии и медицины [1]. Для получения наиболее информативного и незашумленного результата обработки импедансных спектров необходимо использовать параметрические способы аппроксимации, например нелинейный комплексный метод наименьших квадратов (complex nonlinear least squares, CNLS) [1, 2], который позволяет сопоставлять измеренные импедансные данные с различными теоретическими эквивалентными схемами. Однако, несмотря на широкое распространение, CNLS имеет ряд недостатков, в частности, наличие локальных минимумов невязки приводит к разбросу параметров эквивалентной цепи и к невозможности однозначной интерпретации измеренных иммиттансных спектров.

Для решения этой проблемы нами был разработан алгоритм «бритвы Оккама», который основывается на утверждении о том, что из всех возможных вариантов описания наблюдаемых явлений предпочтение нужно отдавать самому простому из них. Этот постулат можно переформулировать для эквивалентных схем следующим образом: для двух цепей-моделей с равными в пределах погрешности измерений импедансами более простой и предпочтительной считается та, у которой варьируется наименьшее количество свободных параметров. Такой подход не только улучшает обусловленность CNLS-задачи [3] и упрощает интерпретацию экспериментальных данных, но и предотвращает вырождение в симметричных двухполосниках [4], нивелирует влияние локальных минимумов, а также ускоряет процесс поиска минимума рабочей функции.



Принцип работы предлагаемого нами алгоритма «бритвы Оккама» состоит в следующем. После получения экспериментального импедансного спектра необходимо попробовать его аппроксимировать при помощи какой-нибудь сложной модели. В случае если невязка более простой модели (с закрепленными значениями параметров) статистически совпадает с невязкой более сложной модели, следует воспользоваться вариантом с меньшим количеством параметров.

На рис. 1 представлены результаты применения метода «бритвы Оккама» на примере исследования гибели клеток HeLa под действием детергента Тритон X100. Аппроксимация была произведена при помощи CNLS-обработки в программе NELM для четырех различных эквивалентных схем: R-CPE цепочка с емкостной утечкой (сплошные кривые, цепь А), R-CPE цепь без емкостной утечки (пунктирные кривые, цепь В), R-CPE цепь с зафиксированным значением  $\alpha$  (точечные кривые, цепь С), R-CPE цепь, у которой может варьироваться только сопротивление (штрихпунктирные кривые, цепь D). Не сложно заметить, что эволюции сопротивлений этих цепочек (рис. 1, а) существенно отличаются друг от друга, в частности, при использовании классической, без закрепления параметров, R-CPE цепи без утечки, соответствующей модели Giæver-Keese [5], вместо падения значения сопротивления наблюдается его сохранение, что самой мо-

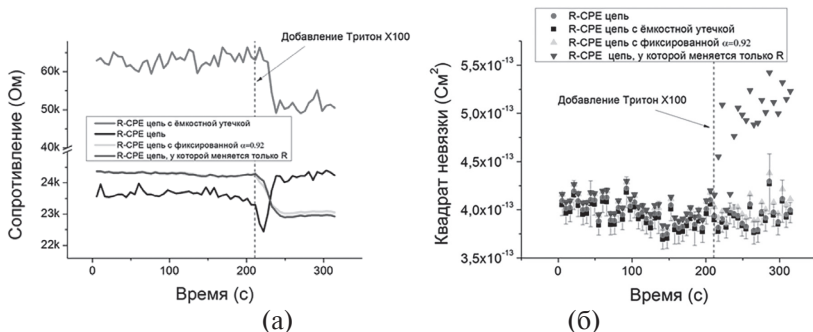


Рис. 1. Исследование гибели клеток под действием детергента Тритон X100: а — временная развертка сопротивлений, которая была получена с помощью CNLS-аппроксимации, для различных видов R-CPE цепей; б — соответствующее значение невязки для каждого спектра

дели Giæver-Keese противоречит. Также можно сделать вывод о том, что невязки аппроксимаций для цепочек А, В и С статически неразличимы (рис. 1, б), т. е. рационально, воспользовавшись принципом «бритвы Оккама», выбрать наиболее простую из них. На основе всех этих наблюдений можно утверждать, что наиболее подходящей эквивалентной схемой для этого эксперимента является R-CPE цепь с зафиксированным значением  $\alpha = 0,92$ . Более того, CNLS-обработка спектров такой цепью не только согласуется с теорией Giæver-Keese (активное сопротивление цепочки падает в момент гибели клеток), но и выдает более гладкую эволюцию номиналов цепи.

Таким образом, разработанный нами алгоритм на основе принципа Оккама позволяет стабилизировать CNLS-аппроксимацию импедансных спектров, что критически необходимо для создания надежных имплантируемых биосенсоров, предназначенных для решения ряда актуальных задач здравоохранения, в частности для лечения сахарного диабета и зрительного протезирования.

### Благодарности

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (FSRM-2024-0001).

### 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. Vol. 7, № 6. P. 1962–1986.
2. *Macdonald J. Ross, Schoonman J., Lehnen 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. Vol. 131. P. 77–95.
3. *Sgura I., Bozzini B.* Numerical issues related to the modelling of electrochemical impedance data by non-linear least-squares // International Journal of Non-Linear Mechanics. 2005. Vol. 40, № 4. P. 557–570.
4. Атабеков Г. И. Основы теории цепей. М.: Энергия. 1969. С. 424.

5. *Giaever I., Keese Ch. R., Wen G. Jiang. Electric Cell-Substrate Impedance Sensing and Cancer Metastasis // Cancer Metastasis — Biology and Treatment. 7 edition. Springer Netherlands, 2012.*

## **ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПЕРЕМЕШИВАНИЯ ВЕЩЕСТВ В МИКРОФЛЮИДНЫХ МИКСЕРАХ ДЛЯ ХЕМОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ СЕНСОРОВ И СИНТЕЗА ЛИПИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ**

**Е. И. Наумов<sup>1,\*</sup>, Н. А. Филатов<sup>1</sup>, А. С. Букатин<sup>1,2</sup>**  
\* [naumove2000@gmail.com](mailto:naumove2000@gmail.com)

<sup>1</sup>*СПбАУ РАН им. Ж. И. Алферова, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, 8/3, лит. А*

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

Микрофлюидные устройства представляют собой системы микроканалов, предназначенные для проведения манипуляций над жидкостями и их исследования в микромасштабе. Течение жидкости в микроканалах является ламинарным, при нем жидкость перемещается слоями без пульсаций и завихрений. Перемешивание веществ при таком течении осуществляется только за счет диффузии, которая является достаточно медленным процессом. Для его ускорения в микрофлюидный канал встраивают различные микроструктуры, выступающие в качестве барьеров для потоков жидкостей и обеспечивающие формирование хаотичных вихрей [1]. Такие элементы, обеспечивающие быстрое перемешивание, находят широкое применение в микрофлюидных устройствах, использующихся для синтеза липидных наночастиц (липосом), которые в свою очередь используются в разработке лекарств, их адресной доставке и генной терапии [2]. В соответствии с этим большой интерес представляет поиск

оптимальной конфигурации микроструктур и условий, обеспечивающих наиболее быстрое и эффективное перемешивание. В данной работе были исследованы микрофлюидные миксеры двух архитектур — каналы с узором «елочка» (от англ. herringbone pattern) и каналы со структурами зигзагообразного вида. Другими параметрами для сравнения выступили различающиеся ширины каналов, а также величины встроенных структур.

Для изготовления микрофлюидных устройств в среде компьютерного моделирования AutoCAD был разработан проект фотошаблонов с микроканалами и микроструктурами. Микрофлюидные чипы представляют собой миксеры типа Y. В дальнейшем по фотошаблонам, при помощи фотолитографии была изготовлена мастер-форма устройства на кремниевой подложке. Далее мастер-форма была залита полидиметилсилоксаном (PDMS) для изготовления реплик устройств. Отвержденные реплики PDMS были соединены с предметными стеклами при помощи обработки поверхностей кислородной плазмой на установке Plasma Finish в течение 75 с.

Для исследования перемешивания воды и флюоресцеина в микрофлюидных миксерах был использован метод анализа интенсивности пикселей в каналах после прохождения через них жидкостей. Для этого была разработана программа в среде Matlab, ведущая подсчет индекса перемешивания по следующей формуле [1]:

$$I_E = 1 - \frac{1}{\bar{I}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (I(i) - \bar{I})^2}{N}}$$

где  $I_E$  — индекс перемешивания в зависимости от интенсивности пикселей.

По результатам исследования была определена наиболее эффективная топология микроструктур, обеспечивающая перемешивание двух реагентов с индексом перемешивания ~86 % при длине канала 10,86 мм.

### Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-72-00045).

### Литература

1. *Carugo D. et al.* Liposome production by microfluidics: potential and limiting factors // *Scientific reports*. 2016. Vol. 6, № 1. P. 1–15.
2. *Bulbake U. et al.* Liposomal formulations in clinical use: an updated review // *Pharmaceutics*. 2017. Vol. 9, № 2. P. 12.
3. *Fu H., Liu X., Li S.* Mixing indexes considering the combination of mean and dispersion information from intensity images for the performance estimation of micromixing // *RSC advances*. 2017. Vol. 7, № 18. P. 10906–10914.

### УСТРОЙСТВО НА ОСНОВЕ СПИРАЛЬНОГО ЧИПА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ

И. С. Тарасов<sup>1,2</sup>, В. Н. Колпаков<sup>1,2</sup>, Я. И. Пигарева<sup>1,2</sup>, А. А. Гладков<sup>1,2</sup>,  
А. В. Масленникова<sup>1,2</sup>, Л. А. Алтынбаев<sup>3</sup>, А. С. Букатин<sup>3,4</sup>, И. В. Мухина<sup>1,2</sup>,  
В. Б. Казанцев<sup>1,2</sup>, А. С. Пимашкин<sup>1,2,\*</sup>

\* [pimashkin@neuro.nnov.ru](mailto:pimashkin@neuro.nnov.ru)

<sup>1</sup>*Нижегородский государственный университет имени Н. И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23*

<sup>2</sup>*Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1*

<sup>3</sup>*СПбАУ РАН им. Ж. И. АлфEROVA, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, 8/3, лит. А*

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

В задачи персонализированной онкологии входит разработка новых устройств для мониторинга эффективности противораковой терапии. Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) являются независимым прогностическим фактором эффективности проводимой

терапии и общей выживаемости пациентов. Количество ЦОК — высокоспецифичный и высокочувствительный показатель опухолевой гематогенной диссеминации [1]. В последнее время растет интерес к разработке устройств для выделения ЦОК из крови пациентов, больных раком, с целью мониторинга эффективности терапии.

Разработанное устройство представляет собой систему, включающую в себя: микрофлюидный чип, интерфейс для подключения чипа к системе перфузии и шприцевой насос. Чип из полидиметилсилоксана с микрорельефом, прикрепленный коронарным разрядом к стеклянной подложке, имеет микроканал в форме спирали с формой сечения в виде прямоугольной трапеции шириной 600 мкм и сторонами 130 и 80 мкм. Чип имеет один вход и два выхода, в один из которых отделяются ЦОК, в другой — форменные элементы крови. Конструкция интерфейса состоит из подвижной крышки, основания с установленным биочипом, стоек, которые служат для устойчивого положения на столе интерфейса биочипа и специальных фитингов с тефлоновыми трубками. В теле крышки расположены бобышки, в которые легко вкручиваются соединительные фитинги с интегрированными трубками для подачи исследуемого образца и вывода целевой фракции с ЦОК и слива с форменными элементами крови. Компоненты интерфейса изготовлены с использованием методов 3D-печати.

Была проведена проверка работоспособности макета прибора для выявления ЦОК на основе спирального чипа в плазме крови с пробами пациенток с раком молочной железы, проходящих лечение в Нижегородском областном клиническом онкологическом диспансере. Клетки, полученные методом микрофлюидной сепарации, маркировали антителами на цитокератин СК19, общий лейкоцитарный антиген CD45, ядерный маркер DAPI. Изображения клеток получали с помощью микроскопа ZEISS Cell Discoverer 7. Клетки, положительные на DAPI и СК19 и отрицательные на CD45, определяли как ЦОК.

В результате было обнаружено, что в целевой фракции присутствуют специфически маркированные лейкоциты и ЦОК. Таким образом, разработанный макет прибора может использоваться для

определения наличия и количества ЦОК в крови пациентов для мониторинга эффективности противораковой терапии.

### **Благодарности**

Работа выполнена при финансовой поддержке программы стратегического академического лидерства «Приоритет 2030».

### **Литература**

1. Кит О. И., Новикова И. А., Никипелова Е. А., Нистратова О. В., Бахтин А. В., Селютин О. В., Черникова Е. Н. Циркулирующие опухолевые клетки как высокоспецифичный прогностический фактор (обзор) // Международн. журн. прикладных и фундамент. исслед. 2014. Т. 12, № 2. С. 252–257.

## **РАЗРАБОТКА МИКРОФЛЮИДНОГО УСТРОЙСТВА «ОРГАН-НА-ЧИПЕ» С ВОЗМОЖНОСТЬЮ ИНТЕГРАЦИИ В НЕГО ТРЕХМЕРНЫХ КЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР**

Л. А. Алтынбаев<sup>1, \*</sup>, П. С. Плешаков<sup>1</sup>, Н. А. Филатов<sup>1</sup>, А. С. Букатин<sup>1,2</sup>  
\* altynbaev.linar@yandex.ru

<sup>1</sup>СПбАУ РАН им. Ж. И. Алфорова, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, 8/3, лит. А

<sup>2</sup>Институт 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*. Создание систем и устройств «орган-на-чипе» и «человек-на-чипе», ключевыми элементами которых станут искус-

ственные модели органов, является научно значимым и актуальным для ускорения и удешевления процесса разработки новых лекарственных препаратов, а также подбора терапии для конкретного пациента.

В данной работе разработана конструкция устройства «орган-на-чипе» [1], методика интеграции в него трехмерных клеточных структур и их последующей культивации, а также исследовались адгезивные свойства поверхности микроканала «органа-на-чипе», т. к. в «органе-на-чипе» одним из ключевых значений является способность клеточных сфероидов прикрепляться к внутренней поверхности с последующим разрастанием в условиях динамического культивирования. При плохой адгезии сфероиды быстро будут смыты потоком среды. Конструкция микрофлюидного устройства состоит из двух параллельных микроканалов шириной в 1 мм и высотой 150 мкм, разделенных тонкой пористой мембраной из полидиметилсилоксана (ПДМС, Sylgard, Dow Corning) толщиной 50 мкм и диаметром пор 10 мкм, при этом верхняя камера содержала массив ловушек для удержания сфероидов внутри микроканала.

В качестве клеток была использована линия аденокарциномы толстого кишечника мыши CT26 EGFP, экспрессирующая флуоресцентный белок в цитоплазму. Клетки инкубировали в культуральной среде RPMI 1640 с добавлением 10 % фетальной бычьей сыворотки (FBS) и 1 % v/v гентамицина при 37 °C и 5 % CO<sub>2</sub>.

Для получения сфероидов клетки, собранные с флакона в виде суспензии, помещали в микролунки диаметром 500 мкм и глубиной 250 мкм, образованные в пленке из ПДМС, закрепленной на дне чашки Петри. Пленка с микролунками была изготовлена с использованием метода мягкой литографии на основе мастер-формы, полученной с помощью SLA 3D-печати. Чтобы обеспечить неадгезивное покрытие, поверхность микролунок обрабатывали раствором неионогенного ПАВ Pluronic F 127. Клетки, осевшие на дно микролунок, формировали межклеточные контакты и в дальнейшем образовывали сфероиды. Готовые клеточные сфероиды собирали и помещали в микрофлюидное устройство для последующего культивирования.

Для смены клеточной среды при долгосрочном культивировании в микрофлюидном устройстве «орган-на-чипе» рассматривались два



похода. Во-первых, непрерывная перфузия достигалась с помощью шприцевых насосов PND2000 (Harvard Apparatus, США), однако такой подход обладает следующими недостатками: из-за высокого соотношения поверхности к объему в микрофлюидном устройстве непрерывная прокачка среды может приводить к долгосрочному токсичному эффекту, поэтому критически важным является подобрать скорости потока жидкости для баланса между доставкой питательных веществ и удалением отходов с требованиями факторов роста, секретируемых клетками, к тому же замена среды в шприце для подачи жидкости связана с риском возникновения пузырей в каналах и периферийной системе, что приводит к гибели клеток. Еще одним неудобством является громоздкость системы, что влечет за собой проблемы с интеграцией с инкубатором. По этим причинам была разработана альтернативная безнасосная установка, основанная на пассивной гидростатической перфузии. Устройство представляет собой качающуюся программируемую платформу, способную работать автономно, а также обладающую небольшими размерами, что позволяет легко помещать ее в CO<sub>2</sub> инкубатор. Циркуляция жидкости осуществляется за счет разницы гидростатических давлений в резервуарах со средой, находящихся на входе/выходе микрофлюидного канала при наклоне платформы. В качестве резервуаров использовались распечатанные на 3D-принтере (Formlab 3B+) коннекторы, герметично закрепленные в отверстиях чипа. Объем коннекторов варьируемый и подбирается в зависимости от требуемого объема среды, в данном исследовании он составлял 1,5 мл. Таким образом, регулируя количество среды, период и угол наклона системы, удалось добиться оптимальных условий для длительной инкубации клеточных структур. Следует отметить, что такой способ периодической перфузии подходит и для клеток, чувствительных к сдвиговому напряжению, в отличие от непрерывной прокачки жидкости шприцевыми насосами.

### **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.

## РАЗРАБОТКА И МОДИФИКАЦИЯ БИОЧЕРНИЛ ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

А. А. Тюшкевич<sup>1,\*</sup>, Е. В. Сивцов<sup>2</sup>, П. С. Плешаков<sup>1</sup>, А. С. Букатин<sup>1,3</sup>  
\* ternet121@gmail.com

<sup>1</sup>СПбАУ РАН им. Ж. И. Алферова, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, 8/3, лит. А

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет), 190013, Санкт-Петербург, Московский пр., 24–26/49, лит. А

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

Область тканевой инженерии в настоящее время актуальна в связи со множеством проблем, среди которых можно выделить нехватку донорских органов и наличие недостатков и ограничений у существующих моделей для скрининга лекарственных препаратов и исследования дифференцировки стволовых клеток. Из-за этого в последние годы большое число специалистов приходят в данную сферу, активно открываются и внедряются новые подходы и методы. В частности, формирование самостоятельных клеточных единиц, называемых клеточными сфероидами, позволило перейти от планарных 2D-культур к пространственным 3D-культурам, являющимся более естественными в живой природе. Использование таких единиц позволило существенно продвигнуться в проектировании новых, более биосовместимых тканево-инженерных конструкций и органов-на-чипе, устройств, имитирующих работу или свойства той или иной ткани или органа [1, 2].

Кроме трудностей, связанных с формированием необходимого объема сфероидов с точными механическими и высокими биосовместимыми свойствами, существует проблема их интеграции в уже существующие и хорошо развитые технологии формирования тканево-инженерных конструкций, наиболее распространенной из которых является экструзионная биопечать. Важной задачей в таком случае становится создание биочернил, которые бы сохранили свои реологические свойства при относительно высоком содержании клеточных сфероидов.

Целью данной работы стала разработка и модификация биочернил для дальнейшего использования их в экструзионном биопринтере для формирования тканево-инженерных конструкций. А первой задачей — исследования реологических свойств гидрогеля на основе альгината и Pluronic F-127. Проведенное исследование продемонстрировало, что анализируемому гидрогелю присуще вязкоупругое

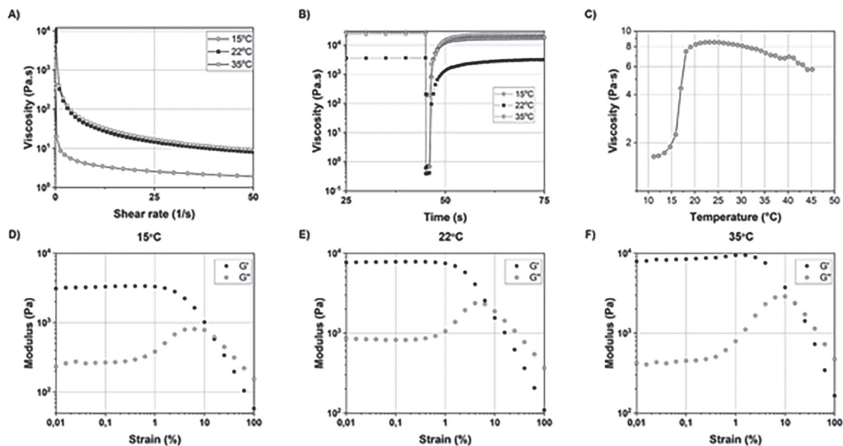


Рис. 1. Реологические характеристики образца биочернил при температурах 15, 22, 35 °С: А — кривая течения при разных температурах, наблюдается уменьшение вязкости при увеличении скорости сдвига (0–50 с<sup>-1</sup>); D, E, F — амплитудная зависимость динамических модулей G' и G'' (Па) в диапазоне от 0,01 до 100 % (при частоте колебаний  $\omega = 1$  Гц); В — трехинтервальный тест на тиксотропность (сдвиговой удар при скорости  $\dot{\gamma} = 3000$  с<sup>-1</sup>, продолжительность = 1 с); С — зависимость вязкости от температуры при скорости сдвига 50 с<sup>-1</sup>

поведение, характерное для гидрогелей, используемых в качестве биочернил для экструзионной печати. Кривые течения (рис. 1, А) демонстрируют уменьшение вязкости при непрерывном увеличении скорости сдвига. Результаты измерений динамических модулей —  $G'$  (модуль накоплений) и  $G''$  (модуль потерь) показывают, что область линейности вязкоэластичных свойств, выражающаяся в виде плато на амплитудной зависимости модулей (рис. 1, D–F), характерна для невысоких значений амплитуд колебаний, причем  $G' > G''$ , что говорит о том, что образец имеет гелеобразную структуру с преобладанием упругих свойств. При деформациях порядка 10 % соотношение модулей меняется на  $G'' > G'$ , образец при этом становится текучим. Результаты трех интервальных тестов на тиксотропию (рис. 1, В) описывают изменение структуры геля при мгновенном воздействии высокой скорости сдвига, равной  $3000 \text{ с}^{-1}$ , продолжительностью 1 с, и последующую регенерацию свойств геля, сопровождающуюся выходом вязкости до начальных значения в течение последующих 5–10 секунд. Данное свойство геля свидетельствует о его способности самовосстанавливаться после высокой деформации, что актуально в случае экструзионной печати. Также была снята экспериментальная зависимость вязкости геля от температуры, обнаружено, что скачкообразное повышение вязкости раствора наблюдается при температуре  $18 \text{ }^\circ\text{C}$ , что характерно для систем с нижней критической температурой растворения.

### Благодарности

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

### Литература

1. *Chen Q., Wang Y.* The application of three-dimensional cell culture in clinical medicine // *Biotechnology Letters*. 2020. Vol. 42, № 11. P. 2071–2082.
2. *Wu X. et al.* Recent advances in three-dimensional stem cell culture systems and applications // *Stem cells international*. 2021. Vol. 2021, № 1. P. 9477332.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ПОВЕРХНОСТНЫХ СВОЙСТВ ПОЛИДИМЕТИЛСИЛОКСАНА ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ ДВОЙНОЙ ЭМУЛЬСИИ В МИКРОФЛЮИДНЫХ УСТРОЙСТВАХ

Д. А. Белоусова<sup>1,\*</sup>, П. С. Плешаков<sup>1</sup>, В. А. Поздеев<sup>1,2</sup>, А. С. Букатин<sup>1,3</sup>  
\* dbelousovaaa@gmail.com

<sup>1</sup>СПБАУ РАН им. Ж. И. Алферова, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, 8/3, лит. А

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет «ЛЭТИ» им. В. И. Ульянова (Ленина), 197376, Санкт-Петербург, Инструментальная, 2

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

Микрофлюидные технологии позволяют управлять микропотоками жидкости. В частности, капельная микрофлюидика направлена на формирование капель макроэмульсии. С помощью технологий микрофлюидики возможно формирование трехмерных моделей тканей и органов, а также использование в качестве носителей лекарственных средств, что имеет большие перспективы для использования в регенеративной медицине и фармацевтической отрасли [1].

Одним из направлений капельной микрофлюидики являются технологии формирования двойной микроэмульсии по типу «вода — масло — вода», где вначале происходит образование капли воды в масле, а затем из нее во втором генераторе образуется капля масла в воде [2]. Таким образом, внутренний объем водной фазы от внешней отделяет масляная оболочка. К преимуществам этой технологии можно отнести низкие расходы масляной фазы с поверхностно-активным веществом (ПАВ), которые зачастую бывают дорогостоящими, а также возможность использовать внутреннюю водную фазу в качестве микроинкубатора для сбора клеток в кластеры для формирования клеточных сфероидов в большом количестве для последующего использования в таких задачах, как 3D-биопечать органов и скрининг лекарств.

Одной из проблем при формировании двойной эмульсии является нестабильная работа микрофлюидной системы. В частности, требуется формирование гидрофобных и гидрофильных покрытий на поверхности микроканалов [3]. Например, гидрофобные каналы производят капли «вода-в-масле», а гидрофильные каналы производят капли «масло-в-воде». Вещества для создания покрытий и сами методы обработки отличаются между собой, они требуют дальнейшего сравнения для выявления метода, который способствует стабильному образованию двойной эмульсии в микрофлюидном устройстве. В качестве универсального параметра, характеризующего свойства обработанной поверхности полидиметилсилоксана (ПДМС), может выступать поверхностная энергия. Аналогично для водной и масляной фазы универсальным параметром, характеризующим состав, может являться поверхностное натяжение растворов.

Целью данной работы являлось сравнение гидрофильных и гидрофобных свойств поверхности ПДМС, обработанной разными способами. Для этого были проведены измерения углов смачивания поверхности каплями воды и диметилсульфоксида (ДМСО). При испарении жидкости уменьшение объема капли происходит быстрее, чем изменение площади основания капли, что приводит к искажению значения краевого угла смачивания по мере протекания эксперимента. Одним из способов определения равновесного краевого угла смачивания является экстраполяция линейного участка его кинетической зависимости (рис. 1). Далее по методу Оуэнса — Вендта [4] из значений равновесных углов были вычислены значения поверхностных энергий для исходного и обработанного ПДМС. Поверхностное натяжение растворов было определено тем же методом на двух различных подложках с известными поверхностными энергиями.

Для необработанного ПДМС было получено значение поверхностной энергии, равное  $14,0 \pm 0,9$  мДж/м<sup>2</sup>, что сходится с литературными данными (13,6 мДж/м<sup>2</sup>) [5].

В результате были получены поверхностные энергии ПДМС, обработанного разными способами, и поверхностные натяжения жидких фаз., выявлены наиболее оптимальные из них.

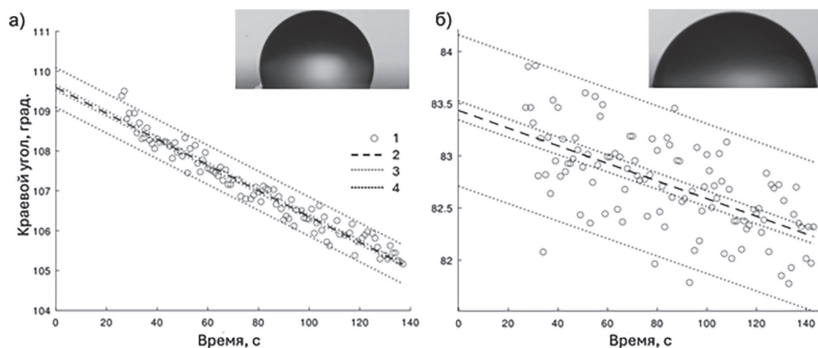


Рис. 1. Кинетические зависимости краевого угла смачивания на поверхности ПДМС для воды (а) и ДМСО (б), где 1 — результат компьютерной обработки изображения, 2 — результат аппроксимации методом наименьших квадратов, 3 — диапазон вероятных значений угла смачивания, 4 — диапазон вероятных значений усредненного угла смачивания

### Благодарности

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

### Литература

1. *Vadivelu R. K. et al.* Microfluidic technology for the generation of cell spheroids and their applications // *Micromachines*. 2017. Vol. 8, № 4. P. 94.
2. *Chan H. F. et al.* Rapid formation of multicellular spheroids in double-emulsion droplets with controllable microenvironment // *Scientific reports*. 2013. Vol. 3, № 1. P. 3462.
3. *Chong D. T. et al.* Advances in fabricating double-emulsion droplets and their biomedical applications // *Microfluidics and Nanofluidics*. 2015. Vol. 19. P. 1071–1090.
4. *Owens D. K., Wendt R. C.* Estimation of the surface free energy of polymers // *Journal of applied polymer science*. 1969. Vol. 13, № 8. P. 1741–1747.
5. *Owen M. J.* Silicone surface fundamentals // *Macromolecular Rapid Communications*. 2021. Vol. 42, № 5. P. 2000360.

## ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРОЦЕНТНОГО СООТНОШЕНИЯ СРЕД ПРАТА И ТАМИЯ НА РОСТ ВОДОРΟΣЛИ *CHLORELLA VULGARIS*

А. А. Житкова\*, В. Б. Пачулия, А. Г. Тригуб  
\*nyrochek123@yandex.ru

Московский государственный университет технологий и управления  
им. К. Г. Разумовского, 119049, Москва, ул. Шаболовка, 14, стр. 9

Данная работа посвящена изучению динамики роста водоросли *Chlorella vulgaris* в зависимости от процентного соотношения сред Прата и Тамия. Эксперимент проводился с использованием различных процентных соотношений сред: 83, 67, 50, 33 и 17 %. В качестве контроля была выбрана среда Тамия с концентрацией 50 %. Культура водоросли *Chlorella vulgaris* была выращена на 50 %-ной среде Тамия в культиваторе КВ-05 (Европолитест), что обеспечило стабильные условия роста и измерение параметров культуры [1]. Эксперимент проводился в течение 48 часов с измерением оптической плотности на фотометре Эксперт-003, при длине волны  $\lambda = 525$ .

Результаты представлены на рис. 1.

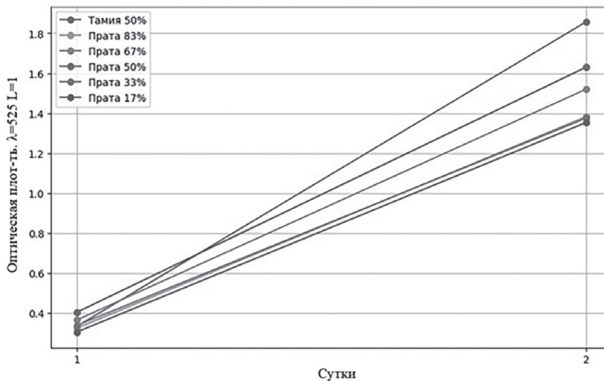


Рис. 1. Динамика роста оптической плотности водоросли *Chlorella vulgaris* в зависимости от процентного соотношения сред Прата и Тамия



На основании полученных данных установлено, что наибольший рост *Chlorella vulgaris* наблюдается при содержании среды Прата и Тамия в концентрации 50 %, что подтверждается наибольшими значениями оптической плотности на 2-е сутки. Снижение или повышение процентного содержания среды Прата приводит к уменьшению оптической плотности, что свидетельствует о снижении скорости роста водоросли.

Для дальнейшего исследования рекомендуется провести дополнительные эксперименты с варьированием условий освещенности и температуры, чтобы определить оптимальные параметры для выращивания *Chlorella vulgaris* в различных средах.

### Литература

1. ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.10-04 Токсикологические методы контроля. Методика измерений оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer) для определения токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления. Федеральная служба по надзору в сфере природопользования. М., 2014. 36 с.

## ОЦЕНКА ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ НАНОПЛАСТИКА НА СТАНДАРТНЫЙ ТЕСТ-ОБЪЕКТ *DAPHNIA MAGNA*

В. Б. Пачулия, А. А. Житкова\*, А. Г. Тригуб

\* nyrochek123@yandex.ru

Московский государственный университет технологий и управления  
им. К. Г. Разумовского, 119049, Москва, ул. Шаболовка, 14, стр. 9

Настоящая работа посвящена изучению влияния нанопластика на выживаемость молоди *Daphnia magna* в острых экспериментах.

Целью работы было определение предельной концентрации нанопластика, при которой наблюдаются изменения в жизнеспособности дафний, что позволяет оценить потенциальную угрозу нанопластиковых частиц для пресноводных экосистем.

Изучено влияние нанопластика на выживаемость пресноводного рачка *Daphnia magna* в концентрациях 10–1000 мг/л в острых тестах продолжительностью 48 ч (табл. 1). Эксперимент проводился в соответствии с ГОСТ Р 56236-2014 [1].

Таблица 1. Результаты выживаемости ракообразных *Daphnia magna* при различных концентрациях нанопластика

Концентрация нанопластика, мг/л	Гибель, %	Показатель токсичности, мг/л
Контроль	0,0	ЛК <sub>50</sub> 48 > 1000
10,0	0,0	
25,0	0,0	
50,0	0,0	
100,0	0,0	
250,0	0,0	
500,0	0,0	
750,0	0,0	
1000,0	0,0	

По показателю выживаемости *Daphnia magna Straus* в остром эксперименте предельно допустимая концентрация нанопластика не выявлена. Рекомендуется проведение большего количества экспериментальных исследований, выявление летальной концентрации 50 % (ЛК<sub>50</sub>) нанопластика при остром эксперименте.

### Литература

1. ГОСТ Р 56236-2014 (ИСО 6341:2012) «Вода. Определение токсичности по выживаемости пресноводных ракообразных *Daphnia magna Straus*» (утв. Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 17 ноября 2014 г. № 1627-ст).

## ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ХЛОРИДА ЖЕЛЕЗА (III) НА ВОДОРΟΣЛЬ *CHLORELLA VULGARIS*

Е. А. Простомолотова, В. Б. Пачулия, А. А. Житкова\*, А. Г. Тригуб  
\*nyrochek123@yandex.ru

*Московский государственный университет технологий и управления  
им. К. Г. Разумовского, 119049, Москва, ул. Шаболовка, 14, стр. 9*

Данная работа основана на оценке влияния различных концентраций хлорида железа (III) на рост и развитие *Chlorella vulgaris*, что может быть полезным для дальнейших биотехнологических и экологических исследований.

Изучено влияние  $\text{FeCl}_3$  на *Chlorella vulgaris*. В пенициллиновые флаконы объемом 10 мл, содержащие по 6 мл контрольных и опытных растворов, добавляли 1 мл культур *Chlorella vulgaris* и необходимые объемы растворов  $\text{FeCl}_3$  (0,006 мл, 0,06 мл, 0,6 мл, 3 мл) для достижения концентраций 0,001 мл/л, 0,01 мл/л, 0,1 мл/л, 0,5 мл/л соответственно. Флаконы инкубировались в культиваторе «КВМ-05» при контролируемых условиях [1].

Периодически собирались образцы (500 мкл) водорослей, смешивались с 1 мл дистиллята и измерялась оптическая плотность при 525 нм и  $L = 1$  с помощью фотометра в первые сутки, во вторые — разбавление 500 мкл и 3 мл дистиллята, в третьи — 500 мкл водорослей и 4 мл дистиллята [2].

Полученные данные обрабатывались статистически для выявления значимых различий в росте и биохимических параметрах между контрольной и экспериментальными группами. Эксперименты проводили при искусственном освещении 3000 лк, продолжительности светового дня 12 часов и температуре 360 °С. Повторность в опыте и контроле двукратная. Длительность опыта 72 часа. Контролем служила дистиллированная вода без добавления вещества. Влияние вещества на хлореллу оценивали по светопроницаемости.

Ниже показан график изменения оптической плотности за 3 суток, основывавшийся на средних значениях измерений (рис. 1).

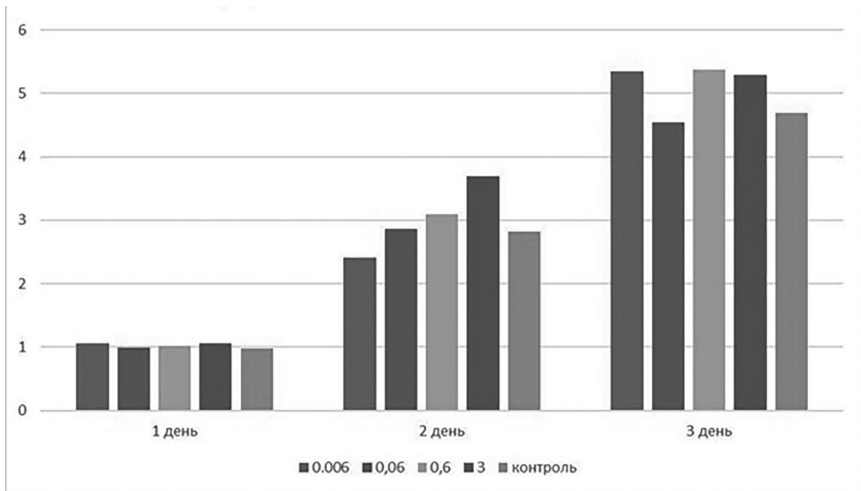


Рис. 1. График изменения оптической плотности

Согласно этому графику, можно сделать вывод, что на третьи сутки оптическая плотность водорослей *Chlorella vulgaris* выросла, по сравнению с первыми и вторыми.

В результате проведенной работы было установлено, что наличие соединения  $\text{FeCl}_3$  в среде способствует успешному культивированию водорослей *Chlorella vulgaris*, однако отличия от контроля во всех концентрациях оказались недостоверными [3]. Это указывает на необходимость проведения дополнительных исследований с большим количеством повторностей для более точной оценки воздействия  $\text{FeCl}_3$  на водоросль.

### Литература

1. Вассер С. П. Водоросли. Справочник. Киев, 1989.
2. Владимирова М. Г., Барцевич Е. Д., Жолдаков И. А., Епифанова О. О., Маркелова А. Г., Маслова И. П., Купцова Е. С. IPPAS — коллекция культур микроводорослей Института физиологии растений им. К. А. Тимирязева АН СССР // Каталог культур коллекций СССР. М., 1991. С. 8–61.

3. *Ильючик И. А.* Влияние сульфата железа (III) на динамику роста культуры *Chlorella vulgaris* / И. А. Ильючик, А. А. Шульган, В. Н. Никандров // Современные проблемы естествознания в науке и образовательном процессе : сб. ст. Междунар. науч.-практ. конф., Минск, 23 нояб. 2023 г. / Белорус. гос. пед. ун-т ; редкол.: Н. С. Сологуб [и др.]; отв. ред. Н. С. Сологуб. Минск, 2024. С. 612–616.

## **ВОЗМОЖНОСТИ ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКОЙ ФОКУСИРОВКИ ПРИ ВЫСОКОМ ДАВЛЕНИИ**

**Е. А. Ткач\***, Т. В. Помозов, М. З. Мурадымов

\* Egoroka765@gmail.com

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

Источники ионизации при атмосферном давлении широко применяются в масс-спектрометрии для решения задач в различных областях, таких как органическая и биоорганическая химия, фармакология, протеомика, экология и др. [1–3].

Чувствительность масс-спектрометра напрямую зависит от эффективности транспортировки ионного пучка из области ионообразования с атмосферным давлением в высоковакуумную область масс-анализа. Этот процесс осуществляется с помощью газодинамического интерфейса, включающего систему дифференциальной откачки (СДО) с размещенными в ней ионно-оптическими элементами. В каждой ступени СДО наблюдаются потери ионов, но наиболее существенные потери происходят при переходе из области атмосферного давления через сопло в первую ступень СДО, достигая двух порядков и более от суммарного тока источника ионов [4].

Одним из перспективных способов снижения потерь ионов является фокусировка ионного пучка на сопло. В работе [5] для этого использовался полусферический сеточный электрод, расположенный между распылительным капилляром и соплом. В работах [6–8] фокусировку ионного пучка осуществляли с помощью дополнительного электрода (диафрагмы), установленного перед соплом. В работе [9] исследованы фокусирующие свойства системы на основе тонких диафрагм, размещенной в области атмосферного давления.

Еще одним способом повышения трансмиссии ионного пучка является увеличение диаметра сопла. Однако такой подход приводит к существенным изменениям в газодинамической структуре потока в первой ступени СДО, увеличению нагрузки на средства откачки и, как следствие, повышению давления в первой ступени СДО и скорости газовой струи.

В настоящей работе проведено численное моделирование эффективности захвата заряженных частиц ионно-оптической системой на основе тонких диафрагм при высоком давлении (1, 10 и 30 Торр) в зависимости от скорости газа (10, 50 и 100 м/с). При моделировании не учитывалась газодинамическая структура струи.

### Литература

1. Галль Л. Н., Баженов А. Н., Шкуров В. А., Бабаин В. А., Галль Н. Р. Масс-спектрометрия ЭРИАД как новый метод изотопного и элементного анализа // Масс-спектрометрия. 2007. Т. 4. № 1. С. 11–18.
2. Лебедев А. Т. Масс-спектрометрия в органической химии. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2003. 494 с.
3. Covey T. R., Thomson B. A., Schneider B. B. Atmospheric pressure ion sources // Mass Spectrometry Reviews. 2009. Vol. 28, № 6. P. 870–897.
4. Willoughby R. C., Sheehan E. W., Fries D. Transmission of ions through laminated conductance pathways from atmospheric pressure. URL: [http://www.lcms.com/products/pdf/ion\\_conductane\\_asms\\_2004\\_abstract.pdf](http://www.lcms.com/products/pdf/ion_conductane_asms_2004_abstract.pdf) (дата обращения: 01.12.2022).
5. Sheehan E. W., Willoughby R. C. Apparatus and method for focusing ions and charged particles at atmospheric pressure. United State Patent № 6744041B2 (2004).

6. Андреева А. Д., Мурадымов М. З., Курнин И. В., Галль Л. Н. Электростатическая фокусировка ионов в газодинамических интерфейсах масс-спектрометров // Аналитическое приборостроение. 2006. Т. 16, № 3. С. 80–87.

7. Кузьмин Д. А., Мурадымов М. З., Краснов Н. В., Помозов Т. В., Арсеньев А. Н. Транспортировка ионов в источниках с ионизацией при атмосферном давлении. I. Субстантивная геометрия // Научное приборостроение. 2017. Т. 27, № 4. С. 8–16.

8. Arseniev A. N., Kurnin I. V., Krasnov N. V., Muradymov M. Z., Yavor M. I., Potozov T. V., Krasnov M. N. Optimization of ion transport from atmospheric pressure ion sources // International Journal for Ion Mobility Spectrometry. 2019. Vol. 22, № 1. P. 31–38.

9. Помозов Т. В., Мурадымов М. З., Ткач Е. А. Эффективность фокусирующей системы на основе тонких диафрагм в ионном источнике с коронным разрядом // Научно-технические ведомости СПбГПУ. Физико-математические науки. 2023. Т. 16, № 2. С. 52–60.

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ДЛЯ АНАЛИЗА И КЛАССИФИКАЦИИ СПИРТНЫХ НАПИТКОВ ПО ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКИМ ХАРАКТЕРИСТИКАМ**

**Ю. В. Лямина**, А. Ю. Зайцева\*, Ю. А. Титов, А. Г. Кузьмин  
\* anna@da-24.ru

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

Контроль качества спиртных напитков является важной задачей алкогольной промышленности. Одним из ключевых аспектов, влияющих на потребительские предпочтения, является органолептическое восприятие напитка, в частности его вкус и аромат. Горечь — это один из вкусовых профилей, который может как привлекать,

так и отталкивать потребителей. Поэтому важно иметь возможность классифицировать и контролировать уровень горечи в спиртах. Современные методы аналитической химии, такие как масс-спектрометрия, предлагают эффективные инструменты для анализа химического состава напитков и их классификации на основе органолептических свойств [1–2].

Целью данного исследования является разработка метода классификации спиртов на основе их горечи с использованием масс-спектрометрии и метода главных компонент (МГК) [3]. Эти методы могут быть использованы для надежного разделения образцов на группы с разными вкусовыми характеристиками.

Объекты и методы исследования: для проведения исследования были отобраны 16 образцов спирта, классифицируемые дегустаторами как содержащие горечь (8 образцов) и не содержащие (8 образцов). Масс-спектры пробы газового состава среды воздуха у поверхности образцов были сняты с использованием малогабаритного квадрупольного масс-спектрометра MS7-200 с прямым вводом пробы при атмосферном давлении, разработанного в ИАП РАН. Это позволило получить данные о летучих компонентах, которые могут влиять на вкус. Полученные масс-спектры были обработаны с использованием метода главных компонент (МГК). МГК — это статистический метод, который позволяет выявить основные направления вариации в данных и сократить их размерность без потери значимой информации.

Проведенный анализ продемонстрировал, что данный подход позволяет классифицировать образцы спирта как содержащие горечь и не содержащие. Это указывает на наличие различий в химическом составе соединений, которые коррелируют с восприятием горечи. Стоит отметить, что интенсивность определенных пиков в масс-спектрах имеет значительное влияние на распределение образцов в пространстве главных компонент. Эти пики могут быть связаны с конкретными летучими соединениями, которые вносят вклад в формирование горького вкуса. Идентификация этих соединений может помочь в дальнейшем понимании механизмов формирования вкусовых профилей спиртов.



Полученные результаты демонстрируют потенциал использования масс-спектрометрии и метода главных компонент для классификации спиртных напитков по их органолептическим свойствам.

Использование масс-спектрометрии в сочетании с методом главных компонент может применяться для анализа и классификации спирта на основе его вкусовых характеристик. В данном исследовании был продемонстрирован подход, позволяющий классифицировать спирты по наличию горечи. В будущем это может способствовать улучшению контроля качества спирта и его сырья в промышленности.

### **Благодарность**

Работа выполнена при поддержке лаборатории экологической масс-спектрометрии ИАП РАН.

### **Литература**

1. *Коростелев А. В., Востриков С. В., Новикова И. В.* Физико-химические и органолептические показатели спиртов-виски из различного сырья // Производство спирта и ликероводочных изделий. 2010. № 1. С. 30–31.
2. *Климова Е. В.* Исследование потерь горечи и химических показателей на стадии кипячения суслу, брожения и розлива пива при традиционной для Румынии технологии пивоварения // Реферативный журнал. Пищевая и перерабатывающая промышленность. 2014. № 2. С. 442.
3. *Манойлов В. В., Новиков Л. В., Кузьмин А. Г., Титов Ю. А., Заруцкий И. В.* Алгоритм обработки данных масс-спектрометрического анализа для первичной диагностики заболеваний по выдыхаемым газам // Научно-технические ведомости Санкт-Петербургского государственного политехнического университета. Физико-математические науки. 2021. № 14 (3). С. 146–157.

## МИКРОДИСПЕРСНЫЙ РЕЖИМ ЭЛЕКТРОРАСПЫЛЕНИЯ В ОТРИЦАТЕЛЬНОЙ МОДЕ КАК СПОСОБ НАНЕСЕНИЯ ОБРАЗЦА НА ЛДИ-МИШЕНЬ

С. И. Столоногова<sup>1,\*</sup>, К. А. Розе<sup>2</sup>, С. К. Ильюшенок<sup>3</sup>  
\* 01031ana@mail.ru

<sup>1</sup>Университет ИТМО, Санкт-Петербург, 197101, Кронверкский пр., д. 49

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный технологический институт  
(технический университет), 190013, Санкт-Петербург, Московский пр.,  
24–26/49, лит. А

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

Метод электрораспыления применяется для распыления образца при атмосферном давлении электрическим полем, создающим жидкостной мениск на конце металлического капилляра и распыляющим заряженные капли в сторону противоэлектрода. Разница между микродисперсным и стандартным режимами электрораспыления заключается в способе формирования жидкостного мениска, а также в их характеристиках. В микродисперсном режиме используется динамическое разделение потока, что позволяет избежать образования крупных капель и способствует распылению раствора в виде мелких частиц или аэрозоля, повышая ионизацию. На сегодняшний день микродисперсное электрораспыление изучалось преимущественно при подаче положительного потенциала на внутренний капилляр и заземлении металлического противоэлектрода, в то время как отрицательная мода также вызывает не меньший интерес. Основной целью данной работы было исследование возможности реализации микродисперсного электрораспыления в отрицательной моде с использованием водного раствора этанола бикарбоната аммония. Основное внимание уделяется совместному распылению эмиттера ионов для ПАЛДИ (поверхностно активированная лазерная десорбция/ионизация) МС и анализа, а также снижению влияния солей на масс-спектрометрический анализ.

Работа основана на методе экстракции сольватированных ионов при атмосферном давлении (ЭРИ АД), который был разработан в лаборатории профессора Лидии Николаевны Галль в Ленинграде [1]. Массовые спектры ЭРИ АД содержали молекулярные ионы для солей и квазимолекулярные ионы для биомолекул, с очищением спектров за счет умеренной фрагментации. Ранее в ходе исследования нами была разработана установка, позволяющая проводить электро-распыление в микродисперсном режиме с динамическим делением потока жидкости при нормальном давлении для распыления твердых частиц [2]. В дальнейшем удалось модернизировать лабораторную установку [3, 4], сделать ее компактнее, дешевле и проще в использовании, сохранив высокое качество результатов. Исследование проводилось с помощью данной установки. Для достижения эффективного распыления в режиме отрицательных ионов необходимо использовать такие добавки, как соли аммония, которые могут образовывать стабильные отрицательные ионы путем электрохимического восстановления в растворе [5]. Устойчивое формирование мениска удалось зафиксировать при использовании 50 мМ  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  в 50 % водном этаноле, что позволило достичь необходимой стабильности процесса распыления. Данный результат был получен при следующих параметрах: напряжение между внешним капилляром и противоэлектродом 5,0 кВ; скорость подачи раствора в капилляр 200 мкл/мин; время распыления 5 минут.

Для контроля процесса распыления раствора и результатов его напыления на ЛДИ-мишень (ЛДИ — лазерная десорбция/ионизация) был использован раствор диклофенака (Sigma-Aldrich) в суспензии наночастиц  $\text{TiO}_2$  (размер частиц ~21 нм, Sigma-Aldrich) 50 мМ раствора  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  в 50 % водном этаноле. Полученную поверхность диоксида титана анализировали методом ПАЛДИ с помощью масс-спектрометра, оснащенного источником ионов МАЛДИ, MALDI-FT-ICR MS (Bruker Daltonics). В масс-спектре, полученном с пятна распыленного раствора диклофенака в суспензии  $\text{TiO}_2$ , искомым сигналом аддукта диклофенака с натрием ( $m/z$  318) оказался одним из наиболее интенсивных (рис. 1). На основании полученных результатов можно сделать вывод, что  $\text{TiO}_2$ , нанесенный на поверхность мишени методом

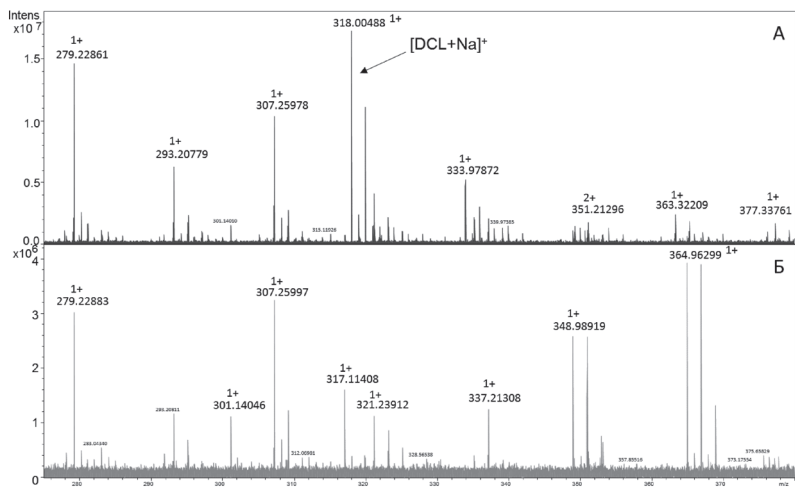


Рис. 1. Масс-спектры ПАЛДИ МС анализа: А — МС спектр ПАЛДИ-анализа распыленного раствора диклофенака в суспензии наночастиц  $\text{TiO}_2$ , 50 мМ раствора  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  в 50 % водном этаноле; Б — МС-спектр ПАЛДИ-анализа распыленного раствора суспензии наночастиц  $\text{TiO}_2$ , 50 мМ раствора  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  в 50 % водном этаноле

микродисперсного электрораспыления в отрицательной моде, позволяет проводить ПАЛДИ-анализ низкомолекулярных соединений, что подтверждает эффективность предложенного метода.

Данный метод открывает новые возможности для дальнейших исследований в области аналитической химии, позволяя более эффективно анализировать сложные образцы без предварительной пробоподготовки.

### Литература

1. Verenchikov A. N., Krasnov N. V., Shkurov V. A. Electrospray ionization developed by Lidija Gall's group // International Journal of Mass Spectrometry. 2023. Vol. 490. P. 117067.

2. Gladchuk A. S., Gorbunov A. Y., Keltsieva O. A., Ilyushonok S. K., Babakov V. N., Shilovskikh V. V., Kolonitskii P. D., Stepashkin N. A., Soboleva A., Muradymov M. Z., Krasnov N. V., Sukhodolov N. G.,

*Selyutin A. A., Frolov A. K., Podolskaya E. P.* Coating of a MALDI target with metal oxide nanoparticles by droplet-free electrospraying — A versatile tool for in situ enrichment of human globin adducts of halogen-containing drug metabolites // *Microchemical Journal*. 2023.

3. *Ильюшонок С. К., Гладчук А. С., Арсеньев А. Н., Томилин Н. В., Краснов М. Н., Подольская Е. П., Краснов Н. В.* Простейший комплект оборудования для нанесения наночастиц оксидов металлов на МАЛДИ-мишень при бескапельном электрораспылении в нормальных условиях // *Научное приборостроение*. 2023. № 33 (3). С. 27–36.

4. *Ильюшонок С. К., Арсеньев А. Н., Мурадымов М. З., Зорин И. М., Селютин А. А., Хасин Ю. И., Краснов Н. В., Подольская Е. П.* Модернизированная лабораторная установка для нанесения наночастиц оксидов металлов на металлическую подложку при бескапельном режиме электрораспыления с динамическим делением потока жидкости при атмосферном давлении // *Письма в ЖТФ*. 2024. Т. 50, Вып. 19. С. 53–56.

5. *Honarvar E., Venter A. R.* Ammonium bicarbonate addition improves the detection of proteins by desorption electrospray ionization mass spectrometry // *Journal of The American Society for Mass Spectrometry*. 2017. Vol. 28 (6). P. 1109–1117.

## **ПРОТОТИП МИКРОКАПЕЛЬНОГО ХИМИЧЕСКОГО РЕАКТОРА НА ОСНОВЕ МУЛЬТИКАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОРАСПЫЛЕНИЯ**

**Д. О. Кулешов\***

\* hellchemist@yandex.ru

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

В процессе развития масс-спектрометрии в начале XXI в. возникло новое научное направление, известное как «масс-спектрометрия

с ионизацией на открытом воздухе» [1, 2]. Одно из возможных применений масс-спектрометрии с ионизацией на воздухе — изучение реакций органических соединений. При этом использование многочисленных техник масс-спектрометрии позволяет не только изучать реакции, но и синтезировать разнообразные соединения «вне колбы». Продукты реакций могут либо сразу поступать в атмосферный ввод масс-спектрометра, либо аккумулироваться для последующего анализа или использования в препаративных целях. Предложены различные варианты осуществления химических превращений на воздухе, основанные на использовании распылительных методов. Их суть заключается в том, что микрокапли, генерируемые с помощью распыления, представляют собой микрореакторы, в которых протекают химические реакции. К настоящему времени продемонстрирована высокая эффективность использования микрокапель для проведения в них химических реакций, которая выражается в значительном ускорении химических реакций по сравнению с их протеканием в «объеме», а также в изменении характера протекания реакций, что делает возможным получение веществ, синтез которых при использовании имеющихся методов крайне затруднен. Однако широкое внедрение микрокапельного химического синтеза (далее — МХС) в практику, для препаративных задач, ограничено его низкой производительностью. В настоящей работе представлен прототип микрокапельного химического реактора [3] (далее — МХР), позволяющий увеличить производительность МХС за счет использования мультикапиллярного пневмо/электрораспыления [4]. Работа прототипа МХР была протестирована на примере реакции конденсации фенилгидразина с циклогексаноном в метанольной среде. С использованием устройства удалось достичь значительного ускорения этой реакции относительно ее протекания в «объеме», максимальное значение кажущегося фактора ускорения ААФ превысило  $83 \times 10^6$ . Прототип МХР позволяет распылять реакционную смесь, подаваемую со скоростью до 17 мл/мин, с сохранением эффекта ускорения. Производительность устройства может достигать единиц грамм/час. Прототип МХР найдет применение в прикладных задачах и фундаментальных исследованиях в области МХС.

### Благодарности

Работа выполнена при поддержке Фонда содействия инновациям (Договор 4732ГС1/79601 от 27.09.2022). Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП НО «Арктика».

### Литература

1. *Morato N. M., Cooks R. G.* Desorption Electrospray Ionization Mass Spectrometry: 20 Years // *Accounts of chemical research.* 2023. Vol. 56, № 18. P. 2526–2536.
2. *Lebedev A. T.* Ambient ionization mass spectrometry // *Russian Chemical Reviews.* 2015. Vol. 84, № 7. P. 665–692.
3. *Kuleshov D. O., Gromov I. A., Pikovskoi I. I., Onuchina A. A., Voronov I. S., Mazur D. M., Lebedev A. T.* Microdroplet chemical reactor prototype based on multiplexed electrospray // *Reaction Chemistry and Engineering.* 2024. Vol. 9, № 10. P. 2683–2690.
4. *Громов И. А., Кулешов Д. О., Дьяченко А. А., Васильев А. А., Булович С. В.* Гибридная мультикапиллярная пневмоэлектрораспылительная система для генерации заряженных микрокапель // *Журнал технической физики.* 2024. Vol. 94, № 9. P. 1532–1539.

## СТЕАРАТ КОБАЛЬТА КАК МЕТАЛЛ-АФФИННЫЙ СОРБЕНТ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ПРОБОПОДГОТОВКИ ОБРАЗЦА В МЕТОДЕ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ С ЛАЗЕРНОЙ ДЕСОРБЦИЕЙ

О. А. Кельциева<sup>1,2,\*</sup>, Е. П. Подольская<sup>2</sup>  
\* keltcieva@yandex.ru

<sup>1</sup>Научно-клинический центр токсикологии им. академика С. Н. Голикова  
Федерального медико-биологического агентства, 192019, Санкт-Петербург,  
ул. Бехтерева, 1

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

Огромное количество ксенобиотиков, обладающих биологической активностью, имеют в своем составе функциональные группы, содержащие такие элементы, как Cl, F, O, P, S. Метод металл-аффинной хроматографии — специфичный метод экстракции таких соединений и их производных из образцов различной природы. Нами было показано, что монослои стеаратов металлов, полученные по классическому методу Ленгмюра и затем сколлапсированные, проявляют металл-аффинные свойства. Монослои стеарата кобальта (II), полученные таким способом, специфично взаимодействуют с хлорсодержащими соединениями на примере диклофенака. Были определены характеристики нового сорбента: структурное звено, удельная поверхность, значение изоэлектрической точки, устойчивость в стандартных водных элюентах и в полярных органических растворителях, применяемых в металл-аффинной хроматографии. Показано, что коллапсированные монослои стеарата кобальта (II) соответствуют требованиям, предъявляемым к металл-аффинным сорбентам.

Монослои стеарата кобальта (II) могут быть получены на поверхности капли, нанесенной на твердую подложку. При этом на поверхности подложки формируется мультимолекулярная структура, сохраняющая свойства металл-аффинного сорбента. Методика формирования структуры отличается экономичностью, простотой и воспроизводимостью, а сформированный сорбент характеризуется высоким уровнем адгезии к подложке и остается на поверхности все время проведения эксперимента. Исследования по снижению потерь образца на сорбенте при проведении металл-аффинной хроматографии и уменьшению количества образца, требуемого для эксперимента, привели к разработке метода пробоподготовки на поверхности мишени для МАЛДИ (матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации) масс-спектрометрического анализа в формате «лаборатория на мишени».

На поверхности ячеек для образцов МАЛДИ-мишени были сформированы слои стеарата кобальта (II). Определены условия проведения металл-аффинной хроматографии на функционализированной поверхности в формате «лаборатория на мишени». Показано, что



аддукт глобина с хлорсодержащим соединением может быть определен при 0,5 % модификации белка и коллапсированные монослои стеарата кобальта (II), сформированные на поверхности МАЛДИ-мишени, обеспечивают высокий уровень чувствительности, специфичности и селективности анализа в формате «лаборатория на мишени». Таким образом, в результате работы разработан комплексный подход для анализа хлорсодержащих аддуктов белков в формате «лаборатория на мишени» с использованием нового металл-аффинного сорбента на основе монослоев стеарата кобальта (II).

### **Благодарности**

Работа по разработке сорбента выполнена в ИАП РАН в рамках темы FFZM-2022-0009 (номер гос. регистрации 122040600002-3) государственного задания № 075-01157-24-00. Работа по функционализации и исследованию сорбента на мишени выполнена в НКЦТ им. С. Н. Голикова в рамках работы шифр «Мишень», рег. № 121041500341-2.



ИАП РАН

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
**ИНСТИТУТ АНАЛИТИЧЕСКОГО ПРИБОРОСТРОЕНИЯ**  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

**ИАП РАН** – ведущая научно-исследовательская организация в области 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.

Разработка и производство новых аналитических методов и приборов, среди них:

- Молекулярно-генетические анализаторы
  - Приборы для ПЦР в реальном времени
  - Масс-спектрометры
  - Лазерные анализаторы биологических объектов (в т.ч. клеток)
  - Носимые датчики здоровья
  - Зондовая и капиллярная микроскопия
  - Анаэростаты
  - Приборы пробоподготовки и др.
- 
- **Контрактная разработка приборов для медико-биологических исследований**
  - **Собственное мелкосерийное производство аналитических приборов**
  - **Импортозамещающее оборудование**



ИАП РАН Санкт-Петербург, 198095, ул. Ивана Черных, 31-33, лит. А.

Почтовый адрес: Санкт-Петербург, 198095, а/я 140

т. (812) 363-0720, ф. (812) 363-0719, e-mail: [iap@ianin.spb.su](mailto:iap@ianin.spb.su), [www.iairas.ru](http://www.iairas.ru)

## 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

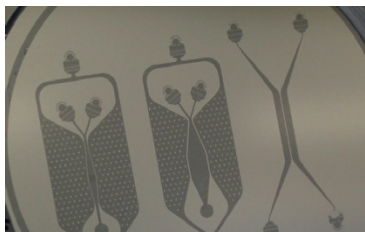
### АППАРАТНО-ПРОГРАММНЫЙ КОМПЛЕКС МАССОВОГО ПАРАЛЛЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДНК

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

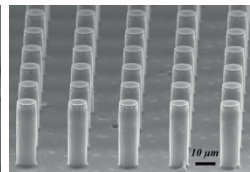
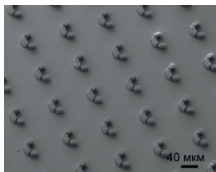


## КРЕМНИЕВЫЕ МАСТЕР-ФОРМЫ для изготовления микрофлюидных чипов из PDMS



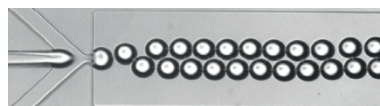
### ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- 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

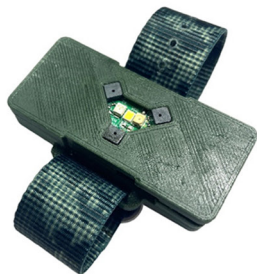
- Капельная микрофлюидика
- Синтез липосом и наночастиц
- Цифровая капельная ПЦР

## 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 в таких системах 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 анализа качественного состава пищевой продукции.



## ОБУЧАЕМАЯ СЕНСОРНАЯ СИСТЕМА МЕДИЦИНСКОГО МОНИТОРИНГА



### НАЗНАЧЕНИЕ

Контроль функционального состояния человека в режиме реального времени.

### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ

Сенсорный контроль функционального состояния военнослужащего в режиме реального времени оптическими методами с применением интеллектуальных технологий. Система является обучаемой – создается индивидуальный «эталон функционального состояния» и контролируется отклонение от него. Предусмотрен вывод сигнала на внешний контур, передача данных на соответствующую архитектуру.

### КЛЮЧЕВЫЕ ПРЕИМУЩЕСТВА

- Минимальные энерго- и массогабаритные характеристики
- Использование интеллектуальной сенсорики
- Обучаемая система «отклонение от эталона»
- Низкие эксплуатационные и стоимостные показатели

Обучаемая гибкая электроника - носимые датчики весом менее 20 гр с возможностью анализа и ранжирования функционального состояния человека в реальном времени с использованием интеллектуальных технологий обработки больших данных (искусственный интеллект).

## 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/м<sup>3</sup>).
- 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

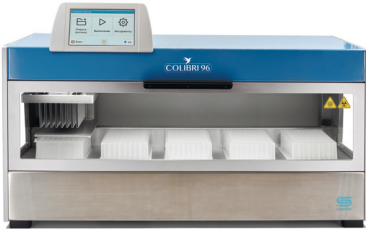
Рабочий объем, л	3
Максимальное количество стеклянных чашек Петри, одновременно помещаемых в АЭ-01, шт.	10
Максимальное количество пластмассовых чашек Петри, одновременно помещаемых в АЭ-01, шт.	15
Габаритные размеры:	
высота; диаметр не более, мм	320; 190
Масса не более, кг	1.5



### ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ

Культивирование микроорганизмов в анаэробных и микроаэрофильных условиях в лабораториях центров гигиены и эпидемиологии, лабораториях лечебно-профилактических учреждений и научно-исследовательских институтов.

## Выделение ДНК



### Colibri

прибор для автоматического  
выделения нуклеиновых  
кислот



### М-Сорб-Автомат

набор для выделения  
нуклеиновых кислот

## Оценка концентрации ДНК



### Флуориметр Qubit

для измерения концентрации  
ДНК, РНК и белков



### Синквант HS ДНК

набор для измерения  
концентрации двуцепочечной  
ДНК

## Классическое секвенирование

### Нанофор 05

капиллярный генетический  
анализатор открытого типа



### GenSeq

набор для секвенирования  
по Сэнгеру



### SeqMag

для очистки реакционных  
смесей после реакции  
Сэнгера



## ДЛЯ ЗАМЕТОК

---



Научное издание

**Тезисы докладов  
Третьей ежегодной всероссийской молодежной  
конференции по методам и приборам для анализа  
биологических объектов «АналитБиоПрибор-2024»**

Подготовка оригинал-макета *М. А. Ивановой*  
Корректор *А. В. Ставская*

---

Подписано в печать 07.11.2024. Формат 60×84/16. Печать цифровая.  
Усл. печ. л. 13,02. Тираж 100. Заказ 199.

---

Выпущено Издательско-полиграфической ассоциацией  
высших учебных заведений  
194021, Санкт-Петербург, Политехническая ул., д. 28, лит. А,  
пом. 3-Н ком. 191. Тел.: (812) 987-75-26  
mediapapir@gmail.com www.mediapapir.com www.mediapapir.ru