

УДК 57.087+502.5(203)

Экспресс-индикация вируса гриппа с помощью биосенсора на основе кремниевого нанопроволочного полевого транзистора

А.А. Черемискина¹, О.В. Наумова², А.Г. Дурьманов¹, В.М. Генералов¹,
А.С. Сафатов¹, Г.А. Буряк^{1*}

¹Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора
630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово

²Институт физики полупроводников им. А.В. Ржанова СО РАН
630090, г. Новосибирск, пр. Лаврентьева, 13

Поступила в редакцию 16.03.2021 г.

Представлены результаты индикации вируса гриппа А (H3N2), штамм А/Гонконг/4801/2014 с помощью биосенсора на основе кремниевого нанопроволочного полевого транзистора. В эксперименте использовались специфические и неспецифические антитела к этому вирусу, содержащиеся в сыворотке. Получено, что антиген вируса гриппа электрически нейтрален на разделе фаз «поверхность нанопроволоки—суспензия»; смеси «антиген—антитело» ВРL-Н1 и В-ВРL обладают отрицательным зарядом на разделе фаз «поверхность нанопроволоки—суспензия».

Ключевые слова: биосенсор, нанопроволочный полевой транзистор, индикация, вирус; biosensor, nanowire field-effect transistor, indication, virus.

Введение

Вирусы — частая причина заболеваний живых организмов, способные вызывать эпидемии и пандемии. Их распространение возможно воздушно-капельным и воздушно-пылевым путями, т.е. через образования биологических аэрозолей [1]. Своевременное и точное обнаружение вирусов в аэрозолях позволяет предотвратить или уменьшить их негативное влияние на здоровье людей, животных, растений и, как следствие, на экономику стран.

Перспективным направлением в изучении биологических аэрозолей, содержащих патогенные агенты, является использование биосенсора на основе кремниевого нанопроволочного полевого транзистора. Это устройство обладает высокой селективностью, чувствительностью, а главное — может использоваться в качестве средства экспресс-индикации вирусных частиц [2, 3]. Биосенсор состоит из кремниевой подложки, на которой расположены полевой транзистор с двумя контактными областями исток-сток и нанопроволока (НП) [4]. Индикация вируса происходит за счет специфической

реакции «антитело—антиген» на поверхности НП. В результате происходит модуляция величины тока в цепи исток—сток [4, 5].

Важно отметить, что сложно проводить прямую индикацию проб аэрозолей с помощью биосенсора. По этой причине пробу переводят в жидкую среду с низкой проводимостью.

Цель настоящей работы — экспресс-индикация вируса гриппа А (H3N2), штамм А/Гонконг/4801/2014 в жидкой среде с помощью биосенсора на основе кремниевого нанопроволочного полевого транзистора.

Материалы и методы

В экспериментах использовались биосенсоры на основе *n*-канальных нанопроволочных полевых транзисторов (Институт физики полупроводников им. А.В. Ржанова СО РАН, Россия); DPBS — 5 мМ раствор натрий-фосфатного буфера, разбавленный дистиллированной водой (исходные 150 мМ раствора натрий-фосфатного буфера разбавляли дистиллированной водой в 30 раз); ВРL — диагностикум гриппозный для реакции торможения геммагглютинации вируса гриппа А (H3N2), штамм А/Гонконг/4801/2014, разведенный в физрастворе (ООО «Предприятие по производству диагностических препаратов», Россия); Н1 — сыворотка диагностическая гриппозная со специфическими антителами к вирусу гриппа А (H3N2), штамм А/Гонконг/4801/2014 (ООО «Предприятие

* Анастасия Алексеевна Черемискина (cheremiskina_aa@vector.nsc.ru); Ольга Викторовна Наумова (naumova@isp.nsc.ru); Александр Гаврилович Дурьманов (gavriylch51@mail.ru); Владимир Михайлович Генералов (general@vector.nsc.ru); Александр Сергеевич Сафатов (safatov@vector.nsc.ru); Галина Алексеевна Буряк (buriyak@vector.nsc.ru).

по производству диагностических препаратов», Россия); В – сыворотка с неспецифическими антителами к вирусу гриппа А (H3N2), штамм А/Гонконг/4801/2014 (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Россия).

Индикация вируса гриппа проводилась по двум схемам.

Схема 1. На поверхность биосенсора капельным способом с использованием автоматической пипетки наносился раствор DPBS, далее последовательно вносились пробы антигена (VPL) и антител (H1 или В) в растворе DPBS;

Схема 2. На поверхность биосенсора капельным путем наносился раствор DPBS, после чего вносилась смесь «антитело–антиген» в растворе DPBS.

Пробы в схеме 1 последовательно разводились в пропорциях 1:100; 1:10; 1:1, в схеме 2 – в пропорциях 1:4; 1:2; 1:1. Объем вносимых проб составлял ~ 0,5–0,8 мкл.

Результаты и обсуждение

На рис. 1 представлена зависимость тока нанопроволоки от времени $I_{ds}(t)$ при последовательном нанесении DPBS, VPL и H1 по схеме 1.

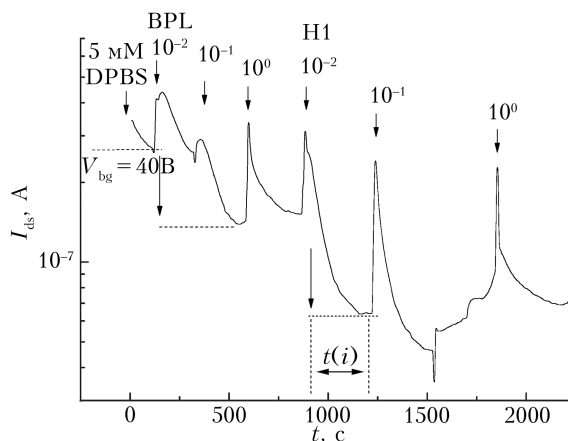


Рис. 1. Временная зависимость тока НП при последовательном нанесении различных проб: 5 мМ буферного раствора DPBS; антигена VPL; сыворотки со специфическими антителами H1; V_{bg} – напряжение между стоком и истоком; $t(i)$ – время индикации

Из рис. 1 видно, что добавление пробы, содержащей антиген вируса гриппа А (H3N2), штамм А/Гонконг/4801/2014, не приводит к изменению тока I_{ds} в цепи. Такое поведение говорит об электрической нейтральности антигена в физрастворе. Добавление в пробу специфических антител H1 приводит к уменьшению тока НП. Поскольку в настоящей работе использовались n -канальные биосенсоры, в которых протекание тока обусловлено движением свободных электронов, то уменьшение тока в цепи исток–сток возможно из-за действия отрицательного заряда на НП. Следовательно, смесь VPL-H1 обладает отрицательным зарядом

на разделе фаз «поверхность НП–суспензия». Время, затраченное на индикацию вируса, составляет 300–400 с.

На рис. 2 показана временная зависимость тока двух НП, расположенных на одной кремниевой подложке, при последовательном внесении проб по схеме 2. Видно, что зависимости подобны для обеих НП; следовательно, можно сделать вывод об однородности распределения пробы по поверхности подложки и о хорошей технологии изготовления устройства.

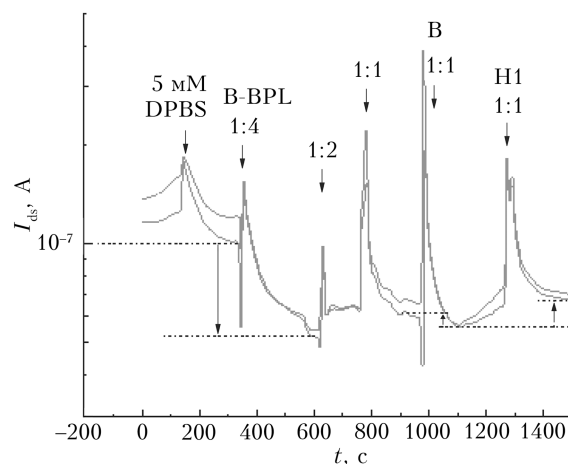


Рис. 2. Временная зависимость тока для двух НП, расположенных на одной кремниевой подложке. Нанесение проб осуществлялось по схеме 2: 5 мМ буферного раствора DPBS, смесь B-VPL, сыворотка с неспецифическими В и специфическими H1 антителами

Из рис. 2 следует, что добавление смеси B-VPL в разведении 1:4 вызывает уменьшение тока в цепи. Дальнейшее внесение проб смеси B-VPL, В и H1 в различных пропорциях не приводит к изменению характера временной зависимости тока, что говорит об экранировании поверхности НП.

Полученные результаты показывают, что биосенсор реагирует на смеси антигена VPL как со специфическими антителами H1, так и с неспецифическими антителами В. Возможно, такое поведение биосенсора связано с наличием посторонних белков в сыворотках, обладающих отрицательным электрическим зарядом. Поэтому нежелательно использовать сыворотки для индикации вируса гриппа с помощью кремниевого нанопроволочного полевого транзистора.

Заключение

В результате проделанной работы получено следующее.

Антиген вируса гриппа А (H3N2), штамм А/Гонконг/4801/2014 в пробе VPL электрически нейтрален на разделе фаз «поверхность НП–суспензия».

Смесь «антиген–антитело» VPL-H1 обладает отрицательным электрическим зарядом на разделе фаз «поверхность НП–суспензия».

Смесь «антиген–антитело» В-BPL обладает отрицательным электрическим зарядом на разделе фаз «поверхность НП–суспензия».

Проведенные исследования показывают возможность применения биосенсора на основе нанопроволочного полевого транзистора в качестве способа экспресс-индикации вируса гриппа в жидких пробах. Однако желательнее заменить сыворотку очищенными антителами, которые дают положительный результат на взаимодействие с определяемым антигеном, например в иммуноферментном анализе.

Пробоподготовка осуществлялась в рамках государственного задания Роспотребнадзора.

Биосенсоры изготавливались и индикация вирусов происходила в ИФП СО РАН при поддержке проекта РФФИ № 18-29-02091.

1. Львов Д.К. Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных. М.:

Медицинское информационное агентство, 2013. 1206 с.

2. Ivanov Y., Pleshakova T., Malsagova K., Kurbatov L., Popov V., Glukhov A., Smirnov A., Enikeev D., Potoldykova N., Alekseev B., Dolotkazin D., Kaprin A., Ziborov V., Petrov O., Archakov A. Detection of marker miRNAs, associated with prostate cancer, in plasma using SOI-NW biosensor in direct and inversion modes // *Sensor*. 2019. V. 19, N 23. P. 5248–5264.
3. Mu L., Chang Y., Sawtelle S.D., Wipf M., Duan X., Reed M.A. Silicon nanowire field-effect transistors – A versatile class of potentiometric nanobiosensors // *IEEE Access*. 2015. V. 3. P. 287–302.
4. Namdari P., Daraee H., Eatemadi A. Recent advances in silicon nanowire biosensors: Synthesis methods, properties, and applications // *Nanoscale Res. Lett.* 2016. V. 11. P. 406–422.
5. Syu Y-C., Hsu W-E., Lin C-T. Review–field-effect transistor biosensing: Devices and clinical applications // *ECS J. Solid State Sci. Technol.* 2018. V. 7, N 7. P. Q3196–Q3207.

A.A. Cheremiskina, O.V. Naumova, A.G. Durymanov, V.M. Generalov, A.S. Safatov, G.A. Buryak.
Rapid indication of the influenza virus using a biosensor based on a silicon nanowire field-effect transistor.

The results of the indication of the A (H3N2) influenza virus, strain A/HongKong/4801/2014 using a biosensor based on a silicon nanowire field-effect transistor are presented. In the experiment, specific and non-specific antibodies to this virus contained in blood serum were used. It is found that the influenza virus is electrically neutral at the “nanowire surface–suspension” phase interface; “antigen–antibody” mixtures BPL–H1 and B–BPL have an electrically negative charge at this interface.