

УДК 57.088 DOI 10.37747/2312-640X-2020-18-119-120

ЗОНДОВАЯ МИКРОСКОПИЯ В ИССЛЕДОВАНИИ ВИРУСОВ

Ахметова А.И., Яминский И.В.

МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия
119991, Москва, Ленинские горы, дом 1
e-mail: akhmetova@nanoscopy.ru

Зондовая микроскопия позволяет получать уникальные данные о локальных физико-механических свойств вирусов, при этом процедура подготовки в отличие от других методов является простой и не требует дополнительных реагентов. С помощью сканирующей зондовой микроскопии возможно получение высокого разрешения – вплоть до 1 ангстрема.

Ключевые слова: сканирующий зондовый микроскоп, вирус клещевого энцефалита, просвечивающая электронная микроскопия.

С помощью зондовой микроскопии можно определить поверхностную структуру вирусов, вычислить концентрацию частиц в образце, определить, как оседают частицы на подложку, формируют ли пленку или агрегируют. До сих пор только с помощью зондового микроскопа можно получить уникальную информацию о следующих свойствах вирусов: определить механическую жесткость, адгезионные свойства, силу взаимодействия частиц.

Методы просвечивающей микроскопии позволяют получать изображения вирусных частиц в вакууме, что прекрасно дополняет данные, полученные с помощью зондовой микроскопии.

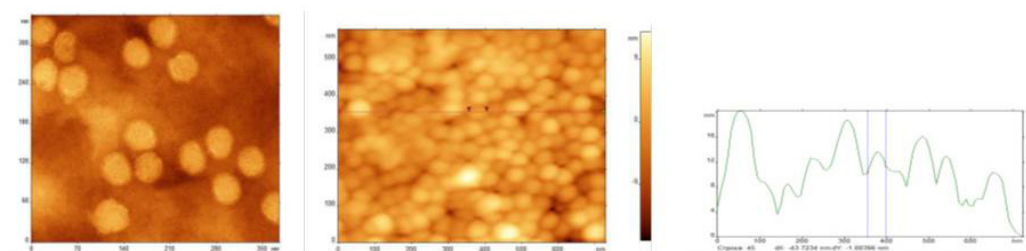


Рисунок 1. Слева – просвечивающая электронная микроскопия, посередине – зондовая микроскопия, справа – сечение образца, по данным сечения диаметр одной вирусной частицы составляет 43 нанометра.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 20-32-90036.

UDC 57.088 DOI 10.37747/2312-640X-2020-18-119-120

PROBE MICROSCOPY IN RESEARCH OF VIRUSES

Akhmetova A.I., Yaminsky I.V.

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia
119991, Moscow, Leninskie gory, building 1
e-mail: akhmetova@nanoscopy.ru

Probe microscopy allows obtaining unique data on the viruses local physic-mechanical properties, while the preparation procedure, unlike other methods, is simple and does not require additional reagents. With the help of scanning probe microscopy, it is possible to obtain high resolution - up to 1 angstrom.

Key words: scanning probe microscope, tick-borne encephalitis virus, transmission electron microscopy.

Probe microscopy can be used to determine the surface structure of viruses, calculate the concentration of particles in a sample, determine how particles settle onto a substrate, and determine whether they form a film or aggregate. Until now, only with the help of a probe microscope it is possible to obtain unique information about the

following properties of viruses: to determine the mechanical rigidity, adhesive properties, and the force of particle interaction.

Transmission microscopy allows images acquisition of viral particles in a vacuum, which perfectly complements the data obtained using probe microscopy.

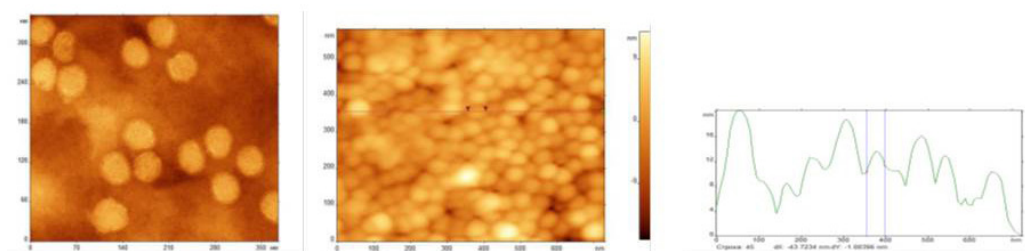


Figure 1. On the left - transmission electron microscopy, in the middle - probe microscopy, on the right - sample cross-section; according to the cross-sectional data, the diameter of one virus particle is 43 nanometers.

The research was carried out with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research, project No. 20-32-90036.

УДК 57.088 DOI 10.37747/2312-640X-2020-18-120-122

ОБНАРУЖЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ АГЕНТОВ С ПОМОЩЬЮ ЭЛЕКТРОМЕХАНИЧЕСКИХ БИОСЕНСОРОВ

Ахметова А.И., Яминский И.В.

МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия
119991, Москва, Ленинские горы, дом 1
Центр перспективных технологий
119311, Москва, ул. Строителей, 4-5-47
e-mail: akhmetova@nanoscopy.ru

Электромеханические биосенсоры позволяют детектировать вирусы с высокой чувствительностью – до единичных вирусных частиц. В настоящей работе для обнаружения биологических агентов применены электромеханические системы на основе кантилеверных биочипов.

Ключевые слова: биосенсор, сканирующий зондовый микроскоп, пьезокерамика, механический резонанс.

Биочип состоит из двух пьезоэлементных дисков, по бокам которых припаяны электроды. Можно подавать сигнал как на первый, так и на второй контакт, поэтому приемная сторона - любая. Сигнал на приёмной стороне не сдвигается по частоте относительно частоты, задаваемой синтезатором. Меняется только амплитуда и фаза сигнала из-за того, что меняется электрическое сопротивление биочипа в резонансе и антирезонансе. Все измерения резонансной частоты были получены при электрическом поле в пьезо-керамике в диапазоне от 340 - 500 В/м. Подаваемое напряжение на пьезокерамику составляет 34-50 мВ.

В работе определяется сдвиг резонансной частоты за счет изменения массы при прикреплении мишени к пьезоэлементу. Для этого сначала необходимо найти резонансную частоту (то есть найти диапазон частот, в которых она располагается). В этом диапазоне частот надо подать сигнал с постоянной амплитудой (время пробега всего диапазона для примера 1 секунда). После пробега всего диапазона получаем 1 резонансный пик. Затем снова проходим этот диапазон и так получаем N резонансных пиков, которые обрабатываем в дальнейшем (ищем «центр масс») и строим зависимость изменения частоты резонансного пика от времени. Обработкой этих данных занимается ПО ФемтоСкан Онлайн [1].

Для определения резонансной частоты колебаний кантилевера диаметром l мы используем формулу для пьезокерамического диска [2]

$$f = \frac{n}{2l} \sqrt{\frac{Y}{\rho}}$$

$Y = 0,7 \times 10^{11}$ – модуль Юнга для ЦТС 19, $\rho = 7,5 \times 10^3$ – плотность для ЦТС 19, n – номер гармоники.

Для диска диаметром 3 мм резонансный пик должен быть на частоте 510 кГц. Для проверки полу-

ченных данных собираем установку на основе электронной схемы зондового микроскопа. В дальнейшем будет разработана электронная схема для управления биосенсором, включающая платы цифрового синтезатора частот, прецизионного усилителя входного сигнала, интерфейса, ЦАП-АЦП, стабилизированного питания. Ниже представлены результаты определения резонансного пика для диска диаметром 3 мм.

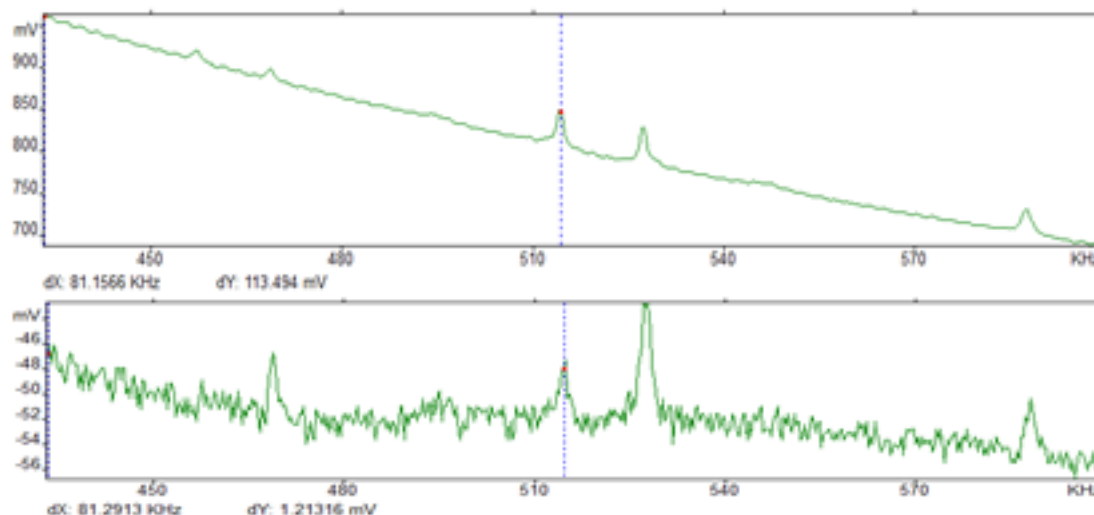


Рисунок 1. Полученные кривые по определению резонансного пика:
верхний график амплитуда колебаний, нижний график – фаза

Подтверждено, что наибольший вклад в изменение резонансной частоты вносит именно изменение жесткости пленки на поверхности биочипа, а не прикрепленная масса.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 20-32-90036

Литература

1. Ахметова А. И., Яминский И. В. Программное обеспечение ФемтоСкан Онлайн в решении задач биологии и медицины // Медицина и высокие технологии. – 2019. – № 1. – С. 16–22.
2. Е.А.Фрид, С.Х.Азарх. Пьезокерамические фильтры. М.: Энергия, 1967. – с. 40.

UDC 57.088 DOI 10.37747/2312-640X-2020-18-120-122

DETECTION OF BIOLOGICAL AGENTS USING ELECTROMECHANICAL BIOSENSORS

Akhmetova A.I., Yaminsky I.V.

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia
119991, Moscow, Leninskie gory, building 1
Center for Advanced Technologies
119311, Moscow, st. Builders, 4-5-47
e-mail: akhmetova@nanoscopy.ru

Electromechanical biosensors allow detecting viruses with high sensitivity – up to single viral particles. In this work, electromechanical systems based on cantilever biochips are used to detect biological agents.

Key words: biosensor, scanning probe microscope, piezoceramics, mechanical resonance.

The biochip consists of two piezoelectric disks, on the sides of which electrodes are soldered. A signal can be applied to both the first and the second contact, so the receiving side is any. The signal on the receiving side is not frequency shifted relative to the frequency set by the synthesizer. Only the amplitude and phase of the signal change due to the change in the electrical resistance of the biochip in resonance and antiresonance. All measurements of the

resonant frequency were obtained with an electric field in piezoelectric ceramics in the range from 340 - 500 V/m. The applied voltage to the piezoceramic is 34-50 mV.

The work determines the shift of the resonance frequency due to the change in mass when the target is attached to the piezoelectric element. To do this, you first need to find the resonant frequency (that is, find the frequency range in which it is located). In this frequency range, a signal with a constant amplitude must be applied (the travel time of the entire range, for example, is 1 second). After running the entire range, we get 1 resonance peak. Then we go through this range again and so we get N resonance peaks, which we process in the future (we are looking for the "center of mass") and build the dependence of the change in the frequency of the resonance peak on time. This data is processed by FemtoScan Online software [1]. To determine the resonant vibration frequency of the cantilever with a diameter l, we use the formula for a piezoceramic disk [2]:

$$f = \frac{n}{2l} \sqrt{\frac{Y}{\rho}}$$

$Y = 0.7 \times 10^{11}$ - Young's modulus for PZT 19,

$\rho = 7.5 \times 10^3$ - density for PZT 19, n - harmonic number.

For a 3 mm disc, the resonance peak should be at 510 kHz. To check the data obtained, we assemble the installation based on the electronic circuit of the probe microscope. In the future, an electronic circuit will be developed for controlling the biosensor, including boards for a digital frequency synthesizer, a precision amplifier for an input signal, an interface, a DAC-ADC, and a stabilized power supply. Below are the results of determining the resonance peak for a disk with a diameter of 3 mm.

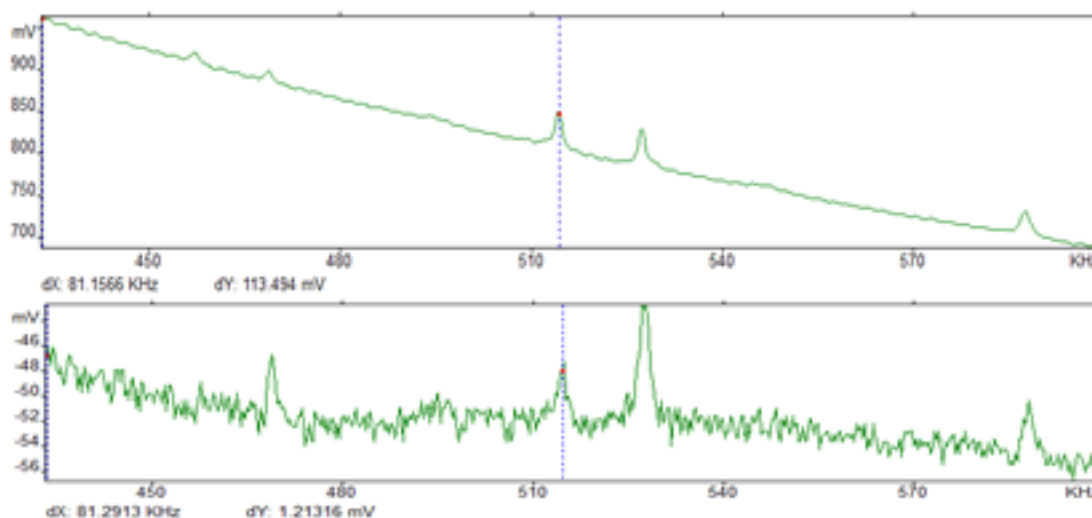


Figure 1. Obtained curves for determining the resonance peak:
 the upper graph is the vibration amplitude, the lower graph is the phase

It was confirmed that it is the change in the film rigidity on the biochip surface, and not the attached mass, that makes the greatest contribution to the change in the resonance frequency.

The study was carried out with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research, project No. 20-32-90036

References

1. Akhmetova A.I., Yaminsky I.V. FemtoScan Online software in solving problems of biology and medicine // *Medicine and high technologies*. 2019. № 1. pp 16-22.
2. E.A.Fried, S.H. Azarch. *Piezoceramic filters*. M.: Energiya, 1967. p. 40.