



ФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОБНАРУЖЕНИЯ ВИРУСОВ И БАКТЕРИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИНСТРУМЕНТОВ СКАНИРУЮЩЕЙ ЗОНДОВОЙ МИКРОСКОПИИ

PHYSICAL METHODS FOR DETECTION OF VIRUSES AND BACTERIA, USING TOOLS OF SCANNING PROBE MICROSCOPY

УДК 543.07, ВАК 05.11.13, DOI: 10.22184/1993-8578.2017.73.3.56.59

И.Яминский^{1,2}, А.Ахметова^{1,2}, Г.Мешков^{1,2} / yaminsky@nanoscopy.ru
I.Yaminsky^{1,2}, A.Akhmetova^{1,2}, G.Meshkov^{1,2}

Биологическая сканирующая зондовая микроскопия за тридцать лет прошла успешный путь от наблюдения биомакромолекул и биологических микрообъектов к изучению живой природы с высоким пространственным и временным разрешением. Эта область бионаноскопии делает уверенные шаги в области медицинской диагностики, разработки новых лекарственных средств, создания биомедицинских препаратов и инструментов. Свой вклад в развитие новых направлений биомедицинской зондовой микроскопии вносит НПП "Центр перспективных технологий".

Biological scanning probe microscopy in thirty years has successfully developed from observation of biomacromolecules and biological micro-objects to the study of nature with high spatial and temporal resolution. This area of bionanoscopia makes steps in the field of medical diagnostics, development of new drugs, creation of biomedical products and tools. Advanced Technologies Center contributes to the development of new areas of biomedical probe microscopy.

В начале этого года в "Центре перспективных технологий" создана лаборатория физических методов биомедицины, которая решает следующие основные задачи:

- сканирующая зондовая микроскопия бактериальных клеток;
- разработка методов обнаружения вирусов в воздушных и водных средах;
- дальнейшее совершенствование биомедицинской сканирующей зондовой микроскопии.

Лаборатория работает в рамках проекта фонда "Сколково" "Сенсорные технологии молекулярной диагностики для персонифицированной медицины". Современная сканирующая зондовая микроскопия стала эффективным инструментом для проведения экспериментальных работ в биологии. Содержательный исторический обзор достижений биологической сканирующей зон-

довой микроскопии приведен в публикации Ив Дюфрена и соавторов [1]. Среди успешно развивающихся направлений следует отметить сканирующую капиллярную микроскопию [2, 3] и высокоскоростную сканирующую зондовую микроскопию [4]. Капиллярная микроскопия минимизирует силовое воздействие на наблюдаемый объект, что особенно важно при наблюдении клеточных структур с пониженной механической жесткостью – клеток эпителия и эндотелия, нейронов, эритроцитов, лейкоцитов, нейтрофилов и пр. Высокоскоростная сканирующая зондовая микроскопия позволяет наблюдать на молекулярном уровне в реальном времени процессы, происходящие в живых биологических системах [5].

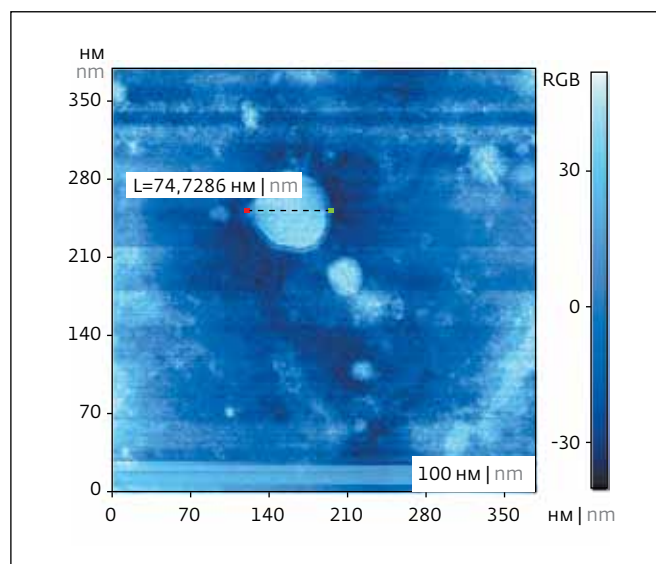
Лаборатория физических методов биомедицины оборудована многофункциональными сканирующими зондовыми микроскопами

¹ МГУ им. М.В.Ломоносова / Lomonosov Moscow State University.

² НПП "Центр перспективных технологий" / Advanced Technologies Center.

"ФемтоСкан" [6], высокоскоростным сканирующим зондовым микроскопом "ФемтоСкан X" [7], сканирующим капиллярным микроскопом на базе оптического микроскопа Nikon Ti-U. Для управления микроскопами и обработки данных используется программное обеспечение "ФемтоСкан Онлайн" [8] (см. рисунок).

На основе инструментария сканирующей зондовой микроскопии разработаны биосенсорные устройства для избирательного обнаружения вируса гриппа А с потенциальной чувствительностью на уровне единичных патогенов. Этому направлению посвящены статьи, опубликованные как в журнале "НАНОИНДУСТРИЯ" [9, 10], так и в других ведущих изданиях [11, 12]. Для обнаружения вирусных частиц в атомно-силовом микроскопе создана оригинальная конструкция проточной ячейки. В отличие от большинства других коммерчески доступных решений, эта ячейка полностью герметична, причем ее можно устанавливать на микроскоп и снимать для проведения измерений на другом оборудовании, не нарушая герметичности. Конструкция ячейки защищена патентами на изобретение [13, 14]. В атомно-сило-



Изображение вируса гриппа А, полученное на просвечивающем электронном микроскопе LEO912AB. Контрастирование фосфорновольфрамовой кислотой. Построение изображения в программе "ФемтоСкан Онлайн" (www.nanoscopy.ru)

Image of influenza A virus obtained using transmission electron microscope LEO912AB. Contrast agent – phosphotungstic acid. Image processing in FemtoScan Online software (www.nanoscopy.ru)

In the beginning of this year, the laboratory of physical methods in biomedicine was created in Advanced Technologies Center. It solves the following main tasks:

- scanning probe microscopy of bacterial cells;
- development of methods for virus detection in air and water environments;
- further improvement of biomedical scanning probe microscopy.

The laboratory works in the framework of the SKOLKOVO Foundation project "Sensor technologies for molecular diagnostics for personalized medicine". Modern scanning probe microscopy has become an effective tool for experimental work in biology. Informative historical overview of biological scanning probe microscopy is given in publication of Y. Dufrene and co-authors [1]. Scanning capillary microscopy [2, 3] and high-speed scanning

probe microscopy [4] should be noted as successfully developing areas. Capillary microscopy minimizes the impact on the object, which is especially important when observing cell structures with low mechanical stiffness like epithelial and endothelium cells, neurons, erythrocytes, leukocytes, neutrophils, etc. High-speed scanning probe microscopy allows to observe processes in living biological systems at the molecular level in real-time [5].

Laboratory of physical methods in biomedicine is equipped with multi-purpose scanning probe microscopes FemtoScan [6], high speed scanning probe microscope FemtoScan X [7], scanning capillary microscopy on the basis of optical microscope Nikon Ti-U. FemtoScan Online software [8] (Fig.) is used to control the microscopes and for data processing.

Based on the scanning probe microscopy tools, biosensors for the

selective detection of influenza A virus with a potential sensitivity at the level of single pathogens are developed. A number of articles published in NANOINDUSTRY [9, 10] and in other leading journals [11, 12] are devoted to this area. For the detection of viral particles in the atomic force microscope, a flow-through liquid cell of the original design was created. Unlike most other commercially available solutions, this cell is completely sealed, and it can be mounted on the microscope and removed for measurements on other equipment without breaking the tightness. Design of the cells is protected by patents [13, 14]. In the atomic force microscope in real time it is possible to observe the adsorption of the virus on the surface of the biochip (plates with sensor layers based on polymers with sialic acids), which is placed into the flow-through cell.



вой микроскоп в режиме реального времени можно наблюдать адсорбцию вируса на поверхности биочипа (пластинки с сенсорными слоями на основе полимеров с сиаловыми кислотами), помещенного в проточную ячейку.

Сканирующий зондовый микроскоп является эффективным инструментом для изучения морфологии и свойств бактериальных клеток. При наблюдении клеток на воздухе атомно-силовая микроскопия позволяет детально изучить морфологические особенности их поверхности.

Для обеспечения функционирования научно-исследовательской лаборатории физических методов биомедицины в "Центре перспективных технологий" имеется собственная производственная база в составе обрабатывающего фрезерного центра Hurco VX M1, ленточнопильного станка, а также сверлильных станков с наборами слесарного, токарного и фрезерного инструмента. Наличие производственной инфраструктуры является существенным подспорьем в эффективном воплощении научных идей лаборатории в готовый продукт.

Созданный компанией при поддержке правительства Москвы, Центр молодежного инновационного творчества "Нанотехнологии" помогает решать несколько задач. Во-первых, он привлекает к инновационному творчеству молодых ребят, которые впоследствии могут стать успешными сотрудниками компании. Во-вторых, научная лаборатория может размещать заказы на моделирование и прототипирование в ЦМИТ,

который располагает компьютерным классом для 3D-дизайна и программирования, механической мастерской с токарным станком с ЧПУ, тремя фрезерными станками ATC NANO, лазерным гравером SharpLase Pro, 3D-сканерами Sense, 3D-принтерами Picaso, радиоэлектронным оборудованием. В рамках инновационной деятельности мы выстраиваем цепочку "обучение – разработка – производство", которая должна существенно ускорить как генерацию новых идей, так и их воплощение в практику в виде инновационной продукции.

Авторы выражают искреннюю благодарность Правительству Москвы, Департаменту науки, промышленной политики и предпринимательства г. Москвы, Минэкономразвития России (договор №8/3-63ин-16 от 22.08.16), Фонду содействия инновациям (проект № ГЦМИТ1/16315) и РФФИ (проект 16-29-06290) за финансовую поддержку проектов.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Dufrène Y.F., Ando T., Garcia R., Alsteens D., Martinez-Martin D., Engel A., Gerber Ch., Müller D.J.** Imaging modes of atomic force microscopy for application in molecular and cell biology // *Nature Nanotechnology*. 2017. V. 12. С. 295–307.
2. **Novak P., Li C., Shevchuk A.I., Stepanyan R., Caldwell M., Hughes S., Smart T.G., Gorelik J., Ostanin V.P., Lab M.J., et al.** Nanoscale live-cell imaging using hopping probe ion conductance microscopy // *Nat. Methods*. 2009. № 6. С. 279–281.

The scanning probe microscope is an effective tool to study the morphology and properties of bacterial cells. When observing cells in air, atomic force microscopy allows to study in detail the morphological characteristics of their surface.

To ensure the operation of the research laboratory of physical methods in biomedicine, the Advanced Technologies Center has its own production facilities with machining milling center Hurco VX M1, contour band saw and drilling machines with sets of bench, lathe and milling tools. This infrastructure is an essential tool for the effective embodiment of scientific

ideas of laboratory into the finished product.

The Nanotechnology youth innovation creativity centre that is established by the company with the support of the government of Moscow helps to solve several tasks. First, it attracts to the innovative creativity young people who may later become successful employees of the company. Secondly, the scientific laboratory may place orders for modeling and prototyping in the centre, which have a computer lab for 3D design and programming, machine shop with CNC lathe, three milling machines ATC NANO, laser engraving machine SharpLase Pro, 3D

scanner Sense, 3D-printers Picaso, electronic equipment. In the framework of the innovation activity we establish the chain "training-development-production", which should greatly accelerate both the generation of new ideas and their implementation in practice in the form of innovative products. ■

The authors express their sincere gratitude to the Government of Moscow, Department of science, industrial policy and entrepreneurship of Moscow, Ministry of economic development (contract No. 8/3-63ин-16 from 22.08.16), the Innovation Promotion Fund (project No. ГЦМИТ1/16315) and RFBR (project 16-29-06290) for financial support of projects.

3. Яминский И. Сканирующая капиллярная микроскопия // НАНОИНДУСТРИЯ. 2016. № 1(63). С. 76–79.
4. Ando T., Uchihashi T., Fukuma T. High-speed atomic force microscopy for nano-visualization of dynamic biomolecular processes // Prog. Surf. Sci. 2008. 83. 337–437.
5. Kodera N., Yamamoto D., Ishikawa R., Ando T. Video imaging of walking myosin V by high-speed atomic force microscopy // Nature. 2010. 468. 72–76.
6. Яминский И. Сканирующий зондовый микроскоп ФемтоСкан: новый инструмент для медицины // НАНОИНДУСТРИЯ. 2013. № 5(43). С. 44–46.
7. Савинов С., Яминский И. От Скана до ФемтоСкана: итоги 25 лет // НАНОИНДУСТРИЯ. 2013. № 1(39). С. 54–59.
8. Яминский И., Филонов А., Сеницына О., Мешков Г. Программное обеспечение "ФемтоСкан Онлайн" // НАНОИНДУСТРИЯ. 2016. № 2(64). С. 42–46.
9. Ахметова А., Гутник Н., Мешков Г., Назаров И., Сеницына О., Яминский И. Биосенсор для обнаружения вирусов и бактерий в жидкостях // НАНОИНДУСТРИЯ. 2016. № 8(70). С. 68–73.
10. Киселев Г., Горелкин П., Ерофеев А., Колесов Д., Яминский И. Детекция вирусов с помощью пьезоэлектрических кантилеверов // НАНОИНДУСТРИЯ. 2015. № 4(58). С. 62–67.
11. Gorelkin P.V., Erofeev A.S., Kiselev G.A., Kolesov D.V., Dubrovin E.V., Yaminsky I.V. Synthetic sialylglycopolymer receptor for virus detection using cantilever-based sensors // Analyst. 2015. 140. 6131–6137.
12. Gorelkin P.V., Erofeev A.S., Kiselev G.A., Kolesov D.V., Gambaryan A.S., Yaminsky I.V., Lee J.S., Lee C., Kim G.S., Song K.H., Han J., Choi E.H., Kwak K., Borodina I. Cantilever sensors based on sialylglycopolymer virus receptor with different readout systems // 2015 IEEE SENSORS – Proceedings, art. no. 7370321.
13. Соснин В.С., Ахметова А.И., Яминский И.В., Яминский Д.И., Мешков Г.Б., Оленин А.В. Проточная жидкостная ячейка для сканирующей зондовой микроскопии // Заявка № 2016146597 от 29.11.2016.
14. Соснин В.С., Ахметова А.И., Яминский И.В., Яминский Д.И., Мешков Г.Б., Оленин А.В. Проточная жидкостная ячейка для сканирующей зондовой микроскопии // Заявка № 2016146599 от 29.11.2016.

НОВЫЕ КНИГИ ИЗДАТЕЛЬСТВА "ТЕХНОСФЕРА"



НАНОТЕХНОЛОГИИ В ЭЛЕКТРОНИКЕ – 3.1 Под редакцией чл.-корр. РАН Ю.А.Чаплыгина

М.: ТЕХНОСФЕРА,
2016. – 480 с.
ISBN 978-5-94836-423-0

Цена 975 руб.

Книга представляет собой сборник научных работ сотрудников и выпускников Национального исследовательского университета "МИЭТ" и касается развивающихся направлений нанотехнологий в электронике. Следует отметить, что каждая из статей – это законченный труд научно-исследовательского или аналитического характера, отражающий современное состояние исследований в обсуждаемых авторами областях.

Книга будет полезна специалистам в различных областях микро- и наноэлектроники, а также молодым исследователям – аспирантам и студентам-магистрантам.

КАК ЗАКАЗАТЬ НАШИ КНИГИ?

✉ 125319, Москва, а/я 91; ☎ (495) 234-0110; 📠 (495) 956-3346; ✉ knigi@technosphere.ru, sales@technosphere.ru