



РАННЕЕ ОБНАРУЖЕНИЕ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТВЕРДОТЕЛЬНЫХ ПЬЕЗОКЕРАМИЧЕСКИХ БИОСЕНСОРОВ

EARLY DETECTION OF VIRAL INFECTIONS USING SOLID-STATE PIEZOELECTRIC CERAMIC BIOSENSORS

И.В.Яминский^{1,2,3,4}, д.ф.-м.н., профессор МГУ имени М.В.Ломоносова, физический и химический факультеты, генеральный директор Центра перспективных технологий, директор Энергоэффективных технологий, вед. науч. сотрудник ИНЭОС РАН, (ORCID: 0000-0001-8731-3947), А.И.Ахметова^{1,2,3}, инженер НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского МГУ, ведущий специалист Центра перспективных технологий и Энергоэффективных технологий, (ORCID: 0000-0001-6363-8202), М.А.Павлова¹, студентка, (ORCID: 0000-0002-4426-0838) / yaminskiy@nanoscopy.ru

I.V.Yaminskiy^{1,2,3}, Doctor of Sc. (Physics and Mathematics), Prof. of Lomonosov Moscow State University, Physical and Chemical departments, Director of Advanced Technologies Center, Director of Energy Efficient Technologies, Leading Specialist of INEOS RAS, A.I.Akhmetova^{1,2,3}, Engineer of A.N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Leading Specialist of Advanced Technologies Center and of Energy Efficient Technologies, M.A.Pavlova¹, Student

DOI: 10.22184/1993-8578.2020.13.3-4.188.195

Получено: 19.05.2020 г.

Раннее обнаружение возбудителей вирусных заболеваний является фундаментальной задачей современной биомедицины. Эффективное решение этой задачи особенно востребовано в условиях возникшей в настоящее время мировой коронавирусной пандемии. Вместе с тем и по ее окончании разработка новых и каждый раз более эффективных биосенсоров на вирусные инфекции будет продолжаться интенсивным образом. Вирусы – это попутчики человека в прошлом, настоящем и будущем.

The early detection of viral pathogens is a fundamental goal of modern biomedicine. An effective solution of this problem is especially in demand in the context of the current global coronavirus pandemic. At the same time, and upon its completion, the development of new and each time more effective biosensors for viral infections will continue in an intensive manner. Viruses are human companions in the past, present and future.

В задаче обнаружения вирусов есть два важных аспекта. Первый аспект связан с обнаружением в окружающей среде возбудителя заболеваний в момент, когда инфицирование еще не произошло. Именно это является жизненно важной целью предупредительной медицины. При этом предупреждение заболевания является существенно менее затратным процессом, нежели чем последующее лечение возможной болезни. Второй аспект предполагает обнаружение вирусных агентов после случившегося заражения.

Подходы для этих двух случаев имеют свои особенности. При раннем предупреждении вирусного заболевания основной мишенью поиска становятся сами вирусные частицы в воздушных и/или жидких средах. Задачами становятся поиск, концентрирование и идентификация вирусов. Для этого регистрирующее устройство должно быть компактным, мобильным, носимым, энергоэффективным, высокочувствительным и избирательным к мишеням, простым

¹ МГУ имени М.В.Ломоносова / Lomonosov Moscow State University, Physical and Chemical departments.

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

³ ООО "Энергоэффективные технологии" / Energy Efficient Technologies.

⁴ ИНЭОС РАН, Москва, Россия / INEOS RAS, Russia.



в обращении, использовании и обслуживании, выдающим результат анализа за короткий промежуток времени. Цена биосенсора тоже является не последним критерием. Низкая стоимость обеспечивает его доступность и массовое применение.

При необходимости выявления причины заболевания варианты обнаруживаемых мишеней могут быть различными: как сами вирусные частицы (аналогично первому случаю), так и антитела к вирусу, вырабатываемые иммунной системой зараженного человека. Выявление повреждений, вызванных вирусом, также может быть альтернативным способом определения заболевания. Например, при коронавирусных инфекциях надежным методом диагностики является компьютерная томография, позволяющая увидеть повреждение тканей легких или других органов. Наличие биосенсора или устройства, которые способны регистрировать характер воздействия на ткани человека, также является в высшей степени востребованной потребностью современной медицины.

Хотя существует большое количество подходов к созданию компактных и мобильных биосенсоров без использования меток, лишь немногие технологии обещают достичь уровня детектирования одного вируса в жидкой среде. Среди таких технологий следует упомянуть следующие: высокодобротные оптические резонаторы [1–3], сенсоры на основе плазмонного резонанса [4], наномеханические резонаторы и нанопроволочные биосенсоры [5].

Среди электромеханических биосенсоров широко используется технология кварцевого микровзвешивания [6]. В этих сенсорах проводится измерение резонансной частоты кварцевой пластинки при изменении связанной массы. Кварцевая пластинка одной стороной обращена в жидкость и совершает сдвиговые колебания. В результате этого чувствительность к изменению упругих свойств поверхностной пленки незначительна, поскольку при измерении пленка не претерпевает циклов растяжения-сжатия

Detecting of viruses has two important aspects. The first one is related to detection of a pathogenic agent in the environment at the moment when viral infection has not yet occurred. It is very particular and vitally important goal of preventive medicine. In this case prevention of the disease is cheaper than its subsequent treatment. The second aspect suggests detection of viral agents after infection contamination.

The approaches to these two cases have their own peculiarities. In the early warning of a viral disease, the main targets of the search are the viral particles themselves in air and / or liquid media. The main tasks are to search, concentrate and identify viruses. Thus, a recording device should be compact, mobile, portable, energy efficient, with high sensitivity and selectivity, simple in operation, use and maintenance, and able to present the analysis result in a short period

of time. The price of a biosensor is also not the last criterion. Low cost ensures its availability and mass application.

If it is necessary to identify a cause of the disease, the variants of detectable targets can be different: both the virus particles themselves (similar to the first case), and antibodies to the virus produced by the immune system of an infected person. Detecting damage caused by a virus can also be an alternative way to identify a disease. For example, with coronavirus infections, a reliable diagnostic method is computed tomography, which allows you to see damage to lung tissue or other organs. The presence of a biosensor or device that is capable to record the nature of the effect on human tissue is also a highly demanded need of modern medicine.

Although there are a large number of approaches to creating compact and mobile biosensors without the use of labels, only

a few technologies promise to achieve the level of detection of a single virus in a liquid medium. Among these technologies, the following should be mentioned: high-Q optical resonators [1–3], plasmon resonance sensors [4], nanomechanical resonators, and nanowire biosensors [5].

Among electromechanical biosensors, quartz microbalance technology is widely used [6]. In these sensors, the resonance frequency of the quartz plate is measured with a change in the attached mass. One side of a quartz plate faces a liquid and performs shear oscillations. As a result, the sensitivity to changes in the elastic properties of the surface film is insignificant, since the film does not undergo tensile-compression cycles of a sufficient level during measurement. However, it often turns out that it is the change in the elastic properties of the probe-target film that plays a decisive role in the formation of the recorded



достаточного уровня. Однако часто оказывается, что именно изменение упругих свойств пленки "зонд-мишень" играет определяющую роль в формировании регистрируемого сигнала. При всех своих плюсах в методе кварцевого микровзвешивания не удастся достичь миниатюризации прибора.

Увеличение чувствительности на шесть порядков по сравнению с лучшими экземплярами коммерческих кварцевых весов достигается в кантилеверном биосенсоре с внутренним каналом и общей массой около 100 нг [7]. Кантилеверные биосенсоры [8, 9] являются высокочувствительной платформой для обнаружения вирусов. В лабораторных экспериментах достигнута чувствительность по обнаружению единичного вируса [10] и даже одного атома [11]. Недостатком кантилеверных систем являются технологические сложности в реализации массового производства. Предлагаемое решение при сохранении высокой чувствительности предполагает использование планарной технологии изготовления биочипа. Это дает существенные преимущества при массовом тиражировании. При этом синтез рецепторной поверхности может происходить сразу на большой плоскости заготовки с последующим ее разделением на отдельные микрочипы.

Оптические биосенсоры представляют собой широко распространенный тип биосенсоров. Оптический сигнал, который обладает высокой чувствительностью, устойчивостью к внешним помехам, стабильностью и низким уровнем

шума, является преимуществом по сравнению с другими физическими сигналами. Однако наличие дифракционного предела не позволяет оптическим способом снимать сигнал с нанометровой области для обнаружения единичных белков или антител. Недавно группой американских ученых был разработан оригинальный фемтосекундный адаптивный спектроскопический метод с улучшенным разрешением благодаря когерентной антистоксовой спектроскопии комбинационного рассеяния (FASTER CARS), использующей усиление сигнала с помощью зонда (tip enhanced Raman spectroscopy). В результате удается обнаружить единичные вирусные частицы [12].

Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ) и атомно-силовая микроскопия позволяют успешно визуализировать единичные вирусные частицы. При этом различные приемы по контрастированию дают возможность в ПЭМ видеть структурные элементы оболочки вируса. При всех достоинствах эти методы вряд ли удастся сделать компактными, мобильными и недорогими. Хотя в области атомно-силовой микроскопии существуют варианты приборов (без учета габаритов электроники) миллиметрового размера, но они остаются по-прежнему сложными и дорогостоящими.

Электрохимические биосенсоры основаны на вступлении в электрохимическую реакцию биологического материала с аналитом [13]. Основные категории электрохимических

signal. With all its advantages, the method of quartz microbalance, is not possible to achieve miniaturization of the device.

An increase in sensitivity by six orders of magnitude compared with the best examples of commercial quartz scales is achieved in a cantilever biosensor with an internal channel and a total mass of about 100 ng [7]. Cantilever biosensors [8, 9] present a highly sensitive platform for detecting viruses. In laboratory experiments sensitivity was achieved in detecting a single virus [10] and even a single atom [11]. A disadvantage of

cantilever systems is the technological difficulties in the mass production implementation. While preserving high sensitivity the proposed solution involves the use of planar technology for manufacture of a biochip. This yields significant advantages in mass replication. In this case, synthesis of the receptor surface can occur immediately on a large plane of the workpiece followed by its subsequent separation into individual microchips.

Optical biosensors represent a widespread type of biosensors. An optical signal of high sensitivity, resistance to external noise,

stability and low noise present advantages over other physical signals. However, presence of the diffraction limit does not allow the optical method to record a signal from the nanometer region to detect single proteins or antibodies. Recently, a group of American scientists developed an original femtosecond adaptive spectroscopic method with improved resolution due to coherent anti-Stokes Raman spectroscopy (FASTER CARS), using signal amplification with the aid of a probe (tip enhanced Raman spectroscopy). As a result, single viral particles can be detected [12].



биосенсоров – потенциометрические, амперометрические и импедиметрические преобразователи. Электрохимические биосенсоры имеют ряд преимуществ в части чувствительности и селективности. Они могут быть мобильными и недорогими. Существует, например, много вариантов коммерческих амперометрических биосенсоров. Биосенсоры по определению уровня глюкозы наиболее известны и общедоступны, например: SIRE P201 (Chemel AB, Лунд, Швеция), система мониторинга уровня глюкозы в крови FreeStyle Freedom, Precision Xtra (Abbot Diabetes Care, Аламеда, Калифорния, США) и GlucoWatch Biographer (Cygnus, Редвуд Сити, Калифорния, США). Устройство Midas Pro (Biosensori SpA, Милан, Италия) широко используется для анализа поверхностных вод.

В настоящее время ПЦР-анализ с обратной транскрипцией на SARS-CoV-2 можно провести только в лабораторных условиях. Для его выполнения требуется набор реактивов и лабораторное оборудование. Тест лучших систем способен обнаружить 0,3–3 копии вирусной РНК в микролитре (0,001 мл). Время тестирования – несколько часов. Сейчас стремятся дополнительно сократить время анализа.

Пьезокерамические биосенсоры появились не так давно, но они уже продемонстрировали высокую чувствительность при обнаружении рецептора фактора эпидермального роста (Her2) [14], вируса (WSSV) растений [15], бактериальных спор (*Bacillus anthracis*) [16], ДНК [17] и вируса гриппа А [18].

Transmission electron microscopy (TEM) and atomic force microscopy make it possible to successfully visualize single viral particles. Moreover, various methods of contrasting make it possible to see the structural elements of the virus envelope in the TEM. With all the advantages, these methods are unlikely to be compact, mobile and inexpensive. Although in the field of atomic force microscopy there are options for devices (without taking into account the dimensions of the electronics) of a millimeter size, they remain complicated and expensive as before.

Electrochemical biosensors are based on the entry into the electrochemical reaction of a biological material with an analyte [13]. The main categories of electrochemical biosensors are potentiometric, amperometric and impedimetric converters. Electrochemical biosensors have several advantages in terms of sensitivity and selectivity. They can be mobile and inexpensive. There are, for example, many variations of commercial amperometric biosensors. Glucose biosensors are best known and widely available, for example: SIRE P201

(Chemel AB, Lund, Sweden), the blood glucose monitoring system FreeStyle Freedom, Precision Xtra (Abbot Diabetes Care, Alameda, California, USA) and GlucoWatch Biographer (Cygnus, Redwood City, California, USA). The Midas Pro device (Biosensori SpA, Milan, Italy) is widely used for surface water analysis.

Currently, reverse transcription PCR analysis on SARS-CoV-2 can only be done in the laboratory. It requires a set of reagents and laboratory equipment. A test of the best systems is able to detect 0.3–3 copies of viral RNA in a microliter (0.001 ml). Testing

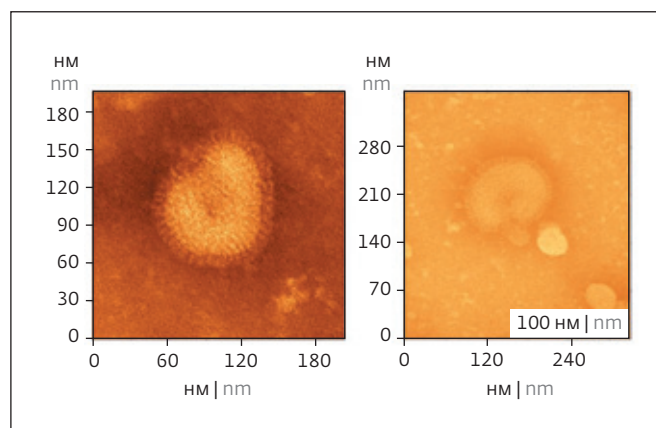


Рис.1. Изображение вируса гриппа H4N6 (слева) и H3N6 (справа). Изображения получены на просвечивающем электронном микроскопе LEO912AB. Контрастирование фосфорновольфрамовой кислотой. Построение изображений выполнено в программе "ФемтоСкан Онлайн"

Fig.1. Image of the H4N6 influenza virus (left) and H3N6 (right). Images were obtained with a LEO912AB transmission electron microscope. Contrasting was performed with phosphoric tungsten acid. Image construction was made using the FemtoScan Online software

В нашей работе по разработке пьезокерамического биосенсора для обнаружения вирусных инфекций мы регистрируем связывание "зонд-мишень" по изменению характеристик колебаний биочипа. Данное решение не предполагает использование дополнительных меток и химических реагентов. Избирательная сенсорная система

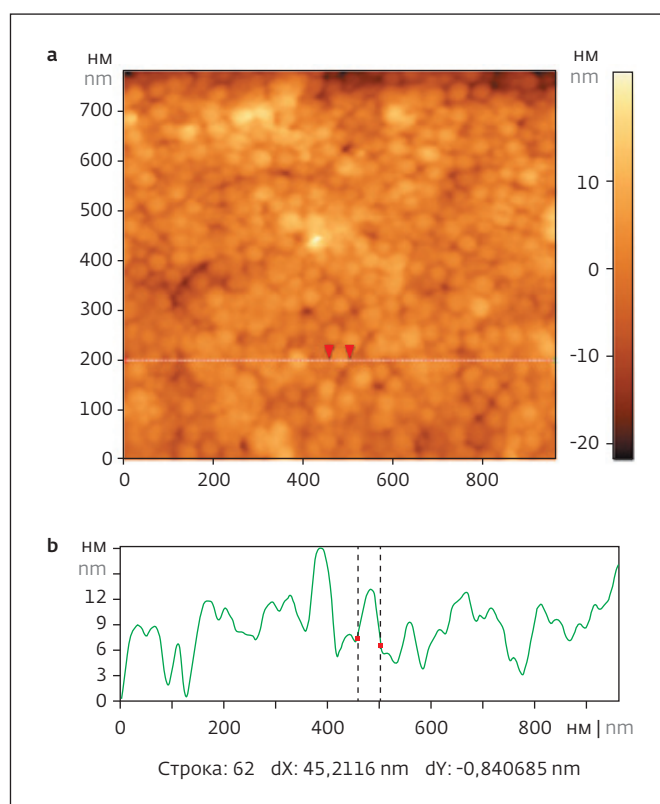


Рис.2. Изображение вируса клещевого энцефалита. Атомно-силовая микроскопия, микроскоп "ФемтоСкан" (www.nanoscopy.ru). а – сечение вдоль выбранного направления, б – обработка данных в программе "ФемтоСкан Онлайн"

Fig.2. Image of tick-borne encephalitis virus. Atomic force microscopy, FemtoScan microscope (www.nanoscopy.ru). а – section along the selected direction, б – data processing was performed in the FemtoScan Online software

полностью расположена на поверхности биочипа, поэтому исчезает необходимость использования дополнительных химических и биологических реагентов: ДНК-праймеров, ТАГ-полимеразы, различных меток и др., в отличие от ПЦР-диагностики и иммуноферментного анализа.

В качестве мишеней при апробации биосенсора нами выбраны вирус гриппа А (рис.1), вирус клещевого энцефалита (рис.2) и коронавирус. Выбор мишеней обусловлен в первую очередь насущной потребностью в активном противостоянии этим вирусным инфекциям. Вирус гриппа А является постоянным сезонным заболеванием, вирус клещевого энцефалита за последний короткий срок стал широко распространяться по территории Российской Федерации, коронавирус SARS-CoV-2 является причиной современной пандемии.

Предлагаемое решение биосенсора состоит из пьезокерамического биочипа в виде диска с диаметром 0,1-3 мм. Симметричная трехэлектродная конструкция исключает влияние двойного электрического слоя и паразитных диффузионных процессов на поверхности биочипа (Патент на изобретение № 2636048, Биосенсорное устройство для обнаружения биологических микро- и нанообъектов, 2017 г.). В этой конструкции биочипа потенциал подается на центральный электрод, при этом внешние электроды, обращенные к раствору, можно заземлять или держать под потенциалом раствора. При этом, в отличие от известных конструкций, отпадает необходимость в дополнительном слое,

time is a few hours. Now they are striving to further reduce the analysis time.

Piezoceramic biosensors appeared not so long ago, but they have already shown high sensitivity when detecting the epidermal growth factor receptor (Her2) [14], the virus (WSSV) of plants [15], bacterial spores (*Bacillus anthracis*) [16], DNA [17] and influenza A virus [18].

In our work on the development of a piezoceramic biosensor for detecting viral infections, we record the probe-target binding by changing characteristics of the biochip oscillations. This

solution does not involve the use of additional labels and chemicals. The selective sensor system is completely located on the surface of the biochip, therefore, the need to use additional chemical and biological reagents: DNA primers, TAG polymerase, various labels, etc., disappears, in contrast to PCR diagnostics and enzyme immunoassay.

We selected influenza A virus (Fig.1), tick-borne encephalitis virus (Fig.2), and coronavirus as targets for testing the biosensor. The choice of targets is due primarily to the urgent need for active opposition to these

viral infections. Influenza A virus is a constant seasonal disease, tick-borne encephalitis virus has become widely spread over the territory of the Russian Federation over the last short period of time, SARS-CoV-2 coronavirus is the cause of a modern pandemic.

The proposed biosensor solution consists of a piezoceramic biochip in the form of a 0.1-3 mm dia. disk. The symmetric three-electrode design eliminates the influence of a double electric layer and parasitic diffusion processes on the surface of the biochip (Patent for invention



изолирующем внешние электроды. Применение периодического и импульсного режимов возбуждения колебаний позволяет за счет использования оригинальных алгоритмов достигать высокой чувствительности при обнаружении вируса гриппа А [18].

Измерительная электронная система реализуется с использованием технологий программируемой логической интегральной схемы FPGA (Field-Programmable Gate Array) или ее дальнейшего развития в виде ASIC (Application Specific Integrated Circuit). Планируется адаптация имеющейся электронной системы сбора информации сканирующего зондового микроскопа "ФемтоСкан" для проведения как резонансных измерений, так и обработки электрохимических сигналов. Сигнал с пьезокерамического биосенсора приходит на частоте механического резонанса биочипа, как правило, это высокочастотный диапазон от сотен кГц до сотен МГц. Сигнал с электрохимического биосенсора расположен в диапазоне существенно более низких частот. Это позволяет синхронно регистрировать сигналы от электрохимического и пьезокерамического биосенсоров с помощью одной электроники. Более того, можно объединить два биосенсора – пьезокерамический и электрохимический – в одном биосенсоре, при этом с одного и того же биочипа будут поступать сразу два сигнала.

Жидкостная система может быть выполнена как по микрофлюидной технологии, так

и с использованием резервуара миллиметровых размеров. В качестве зондов предполагается использование антител, аптамеров и/или синтетических рецепторов. В случае коронавируса SARS-CoV-2 может служить белок ACE2 эпителиальных клеток, к которому присоединяется вирус при инфицировании. При этом константа связывания имеет необычно высокое значение. При тестировании возможно использовать рекомбинантный водорастворимый белок ACE2, доступный на рынке биореагентов.

Предварительно рассчитанное значение чувствительности биосенсора на SARS-CoV-2 составляет 1-100 вирусных частиц в зависимости от размера площади биочипа (0,1-3 мм). Для вируса гриппа А и вируса клещевого энцефалита чувствительность чуть хуже, поскольку константа связывания у имеющихся в настоящее время рецепторов в 3-10 раз меньше.

С помощью биосенсора предлагаемой конструкции возможно регистрировать не только акт связывания, но и момент отрыва вирусной частицы при увеличении амплитуды механических колебаний биочипа до пороговых значений, когда механическая энергия колеблющейся вирусной частицы становится больше энергии связи. В момент отрыва возникает сигнал отрыва, зарегистрировать который позволяет электронная измерительная система. Таким образом, биосенсор сможет регистрировать как связывание вируса, так и его отрыв.

Следует заметить, что неспецифическое связывание в жидкости при наличии различных

No. 2636048, Biosensor device for detecting biological micro- and nano-objects, 2017). In this biochip design, the potential is supplied to the central electrode, while the external electrodes facing the solution can be grounded or kept at the potential of the solution. In this case, unlike the known structures, there is no need for an additional layer insulating the external electrodes. The use of periodic and pulsed modes of excitation of oscillations allows, due to the use of original algorithms, to achieve high sensitivity when detecting the influenza A virus [18].

The measuring electronic system is implemented using FPGA (Field-Programmable Gate Array) technologies or its further development in the form of ASIC (Application Specific Integrated Circuit). It is planned to adapt the existing electronic system for collecting information from a FemtoScan scanning probe microscope for conducting both resonant measurements and processing of electrochemical signals. The signal from the piezoceramic biosensor arrives at the frequency of the mechanical resonance of the biochip, as a rule, this is the high-frequency range

from hundreds of kHz to hundreds of MHz. The signal from the electrochemical biosensor is located in the range of significantly lower frequencies. This allows you to synchronously register signals from electrochemical and piezoelectric ceramic biosensors using just electronic means. Moreover, it is possible to combine two biosensors – piezoceramic and electrochemical – in one biosensor, while two signals will come together from the same biochip.

The liquid system can be made either with microfluidic technology or with the use



примесей, осаждаемых на поверхности биочипа, не приводит к существенному изменению механической жесткости поверхностного слоя и не влияет на сигнал отрыва частицы при большой амплитуде колебаний.

Последующая характеристика вируса при достаточно большом его количестве может проводиться методами хроматографии, просвечивающей электронной микроскопии, атомно-силовой микроскопии. Для обработки данных целесообразно использовать разработанное нами программное обеспечение "ФемтоСкан Онлайн" [19].

В отличие от кварцевого микровзвешивания, в биочипе возбуждаются продольные колебания, которые приводят к растяжению/сжатию сенсорной пленки с прикрепленными вирусными частицами или биомакромолекулами. Измерение жесткости пленки оказывается в 300–1000 раз более чувствительным, чем просто определение прикрепленной массы (как в методе кварцевого микровзвешивания). Любопытно, но этот экспериментальный факт заметил еще в 18 веке Бенджамин Франклин. Путешествуя из Нового в Старый Свет на китобойном судне, Бенджамин Франклин обратил внимание, что во время шторма капитан приказал вылить в море бочку китового жира. После этого волны вблизи корабля успокоились. Современное объяснение этому эффекту довольно простое: на поверхности воды образуется монослойная пленка жира. На ее сжатие и расширение во

время шторма затрачивается большая механическая энергия, в результате происходит затухание волн. А пленка жира преобразует механическую энергию в тепловую энергию, передавая ее морской волне. Удивительно, но расчет показывает, что пленка толщиной в нанометры успокаивает метровые волны на воде.

Создание "идеального" биосенсора на вирусные инфекции – задача сколь благородная, столь и сложная. На этом пути новые идеи и решения будут приводить к постоянному прогрессу. Объединение усилий специалистов из разных областей знаний, бесспорно, будет способствовать продвижению вперед. На нашем пути мы будем только рады попутчикам.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Yoshie T., Tang L.L., Su S.Y.** Optical microcavity: sensing down to single molecules and atoms. *Sensors* 2011;11:1972–91.
2. **Vollmer F., Yan L.** Label-free detection with high-Q microcavities: a review of mechanisms for integrated devices. *Nanophotonics* 1 (2012): 267–291 © 2012 Science Wise Publishing & De Gruyter, Berlin, Boston. DOI 10.1515/nanoph-2012-0021. https://www.academia.edu/7757258/Label-free_detection_with_high-Q_microcavities.
3. **Gil-Santos E., Ruz J.J., Malvar O.** et al. Optomechanical detection of vibration modes of a single bacterium. *Nat. Nanotechnol.* (2020). <https://doi.org/10.1038/s41565-020-0672-y>

of a millimeter-sized tank. Antibodies, aptamers and / or synthetic receptors can be used as probes. In the case of the SARC-CoV-2 coronavirus, its virus can attach to ACE2 protein of the epithelial cells upon infection. Moreover, the binding constant has an unusually high value. When testing, it is possible to use the recombinant water-soluble protein ACE2, available on the market of bioreagents.

The preliminary calculated value of the biosensor sensitivity to SARC-CoV-2 is 1–100 viral particles depending on the size of the biochip area (0.1–3 mm). For

influenza A virus and tick-borne encephalitis virus, the sensitivity is slightly worse, since the binding constant of the currently available receptors is 3–10 times less.

Using the biosensor of the proposed design, it is possible to record not only the act of binding, but also the moment of detachment of a viral particle with an increase in the amplitude of mechanical vibrations of the biochip to threshold values when the mechanical energy of the vibrating viral particle becomes greater than the binding energy. At the moment of

separation, a separation signal is given and the electronic measuring system records it. Thus, the biosensor will be able to detect both binding of the virus and its detachment.

It should be noted that nonspecific binding in liquid in the presence of various impurities deposited on the surface of the biochip does not lead to a significant change in the mechanical rigidity of the surface layer, and does not affect the separation signal of the particle at large vibration amplitude.

Subsequent characterization of the virus in a sufficiently large



4. Anker J.N., Hall W.P., Lyandres O., Shah N.C., Zhao J., VanDuyne R.P. Biosensing with plasmonic nanosensors. *Nat Mater* 2008;7:442-53.
5. Patolsky F., Zheng G.F., Hayden O., Lakadamyali M., Zhuang X.W., Lieber C.M. Electrical detection of single viruses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:14017-22.
6. Dixon M.C. Quartz crystal microbalance with dissipation monitoring: enabling realtime characterization of biological materials and their interactions. *Journal of biomolecular techniques: JBT* 19, 151 (2008).
7. Burg T.P., Godin M., Knudsen S.M., Shen W., Carlson G., Foster J.S., Babcock K., Manalis S.R. Weighing of biomolecules, single cells and single nanoparticles in fluid. *Nature* 446, 1066-1069 (26 April 2007).
8. Arlett J., Myers E., Roukes M. Comparative advantages of mechanical biosensors. *Nature nanotechnology* 6, 203-215 (2011).
9. Boisen A., Dohn S., Keller S.S., Schmid S., Tenje M. Cantilever-like micromechanical sensors. *Reports on Progress in Physics* 74, 036101 (2011).
10. Gupta A., Akin D., Bashir R. Single virus particle mass detection using microresonators with nanoscale thickness // *Appl. Phys. Lett.* 2004. V. 84. No. 11. PP. 1976-1978.
11. Jensen K., Kwanpyo K., Zettl A. An atomic-resolution nanomechanical mass sensor. *Nature Nanotechnology* 3, 533-537 (2008).
12. Deckert V., Deckert-Gaudig T., Cialla D., Popp J., Zell R., Sokolov A.V., Yi Z., Scully M.O. // *Laser Spectroscopic Technique for Direct Identification of a Single Virus I: FASTER CARS*, 17 March 2020, ArXiv ID: 2003.07951.
13. Iqbal M.A., Gupta S.G., Hussaini S.S. A Review on Electrochemical Biosensors: Principles and Applications // *Advances in BioResearch*, V. 3[4], December 2012, P. 158-163.
14. Loo L., Capobianco J.A., Wu W., Gao X., Shih W.Y., Shih W.H., Pourrezaei K., Robinson M.K., Adams G.P. // *Anal. Chem.* 83, 3392, (2011).
15. Capobianco J.A., Shih W.H., Leu J.H., Lo G.C., Shih W.Y. // *Biosens. Bioelectron.* 26, 964 (2010).
16. McGovern J.P., Shih W.Y., Rest R., Purohit M., Pandya Y., Shih W.H. // *Analyst* 133, 649 (2008).
17. Wu W., Kirimli C.E., Shih W., Shih W.Y. *Biosens. Bioelectron.* 43, 391 (2013).
18. Erofeev A.S., Gorelkin P.V., Kolesov D.V., Kiselev G.A., Dubrovin E.V., Yaminsky I.V. Label-free sensitive detection of influenza virus using PZT discs with a synthetic sialylglycopolymer receptor layer. *Royal Society Open Science*, 6:190255, 2019. <https://doi.org/10.1098/rsos.190255>
19. Akhmetova A.I., Yaminsky I.V. Software FemtoScan Online in solving problems of biology and medicine // *Medicine and High Technologies*. 2019. No. 1. P. 16-22.

quantity can be carried out by chromatography, transmission electron microscopy and atomic force microscopy. For data processing, it is advisable to use the FemtoScan Online software developed by us [19].

In contrast to quartz microbalance, longitudinal vibrations are excited in the biochip, which lead to stretching / compression of the sensor film with attached viral particles or biomacromolecules. The measurement of film stiffness is 300-1000 times more sensitive than simply determining the attached mass (as in the quartz microbalance method).

Curiously, this experimental fact was noticed in the 18th century by Benjamin Franklin. Traveling from the New to the Old World on a whaling ship, Benjamin Franklin noticed that during the storm the captain ordered that a barrel of whale oil be poured into the sea. After that, the waves near the ship calmed down. The modern explanation of this effect is quite simple: a monolayer film of fat is formed on the surface of water. A lot of mechanical energy is expended on its compression and expansion during a storm; as a result, the waves attenuate. A film of fat

converts mechanical energy into thermal energy transmitting it to the sea wave. Surprisingly, the calculation shows that a film with a thickness of nanometers calms meter high waves on the water.

Creating an "ideal" biosensor for viral infections is a noble task though a difficult one. On this path, new ideas and solutions will lead to continuous progress. The combined efforts of specialists from different fields of knowledge will undoubtedly contribute to moving forward. On our way, we will be glad to have new companions. ■