



ЦИФРОВАЯ ПЛАТФОРМА БИОНАНОСКОПИИ НА БАЗЕ ЗОНДОВОГО МИКРОСКОПА

DIGITAL BIONANOSCOPY PLATFORM BASED ON PROBE MICROSCOPE

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. сотр. 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: 0000-0002-5115-8030) / yaminskiy@nanoscopy.ru

I.V.Yaminskiy^{1,2,3,4}, *Doct. 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 Sci. 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

DOI: 10.22184/1993-8578.2020.13.6.360.363

Получено: 29.09.2020 г.

Цифровая платформа бионаноскопии может быть использована для решения широкого круга задач биологии и медицины. Ее возможности применимы для изучения остро стоящих проблем биологии и медицины: раннего обнаружения вирусов, резистентности бактерий к антибиотикам, вопросов топологии сетей нейронов.

The digital bionanoscopy platform can be used to solve a wide range of problems in biology and medicine. Its capabilities are applicable to study actual problems in biology and medicine, such as early detection of viruses, bacterial resistance to antibiotics and topological issues of neuronal networks.

В нашей научной группе разрабатывается экспериментальная платформа бионаноскопии на базе сканирующего зондового микроскопа и микролинзовой технологии, позволяющая проводить:

- оптические наблюдения с разрешением вплоть до 40–50 нм и временным интервалом в доли миллисекунды;
- регистрацию топографии биологических объектов и их характерного движения в жидкости и на воздухе с разрешением в доли нанометра с временным разрешением на уровне долей миллисекунды;
- локальное воздействие химическими реагентами в область нанометрового размера с контролем за дозой препарата, при этом объем доставляемой дозы может достигать до уровня 10^{-15} мкл и менее;

- определение картины распределения электрического потенциала по поверхности объекта;
- наблюдение прохождения электрических сигналов вдоль выбранных траекторий.

Платформа бионаноскопии дает возможность проводить исследования биологических объектов, детектировать вирусы, определять антибиотико-резистентность бактерий.

Сегодня существуют либо очень чувствительные (иммуноферментный анализ, ИФА или полимеразная цепная реакция, ПЦР) или быстрые методы детекции (иммунохроматографические полоски). Разрыв между высокочувствительными методами и экспресс-техниками составляет 100–10 000-кратные различия в пределе обнаружения вирусов [1–4].

В экспериментах по обнаружению вируса гриппа А нами используется сенсорная

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.



поверхность с биоспецифическим взаимодействием на основе оптимального зонда (антитела, аптамеры, синтетические рецепторы) для использования в проточной жидкостной ячейке. При выборе зонда учитываются следующие параметры: чувствительность, специфичность, время анализа, константа связывания, ложноположительные и ложноотрицательные результаты, долговечность, возможность регенерации. Контроль экспериментов проводится с помощью иммуноферментного и колориметрического анализов, ПЦР-диагностики. В экспериментах рассматривается возможность использования релеевского рассеяния света вирусными частицами как в процессе движения в потоке, так и при закреплении на сенсорной поверхности биочипа.

В экспериментах с бактериями используется метод деликатной иммобилизации клеток

на сенсорной или модифицированной реагентами (полилизин, антителами) поверхности. При этом задачей оптической и зондовой микроскопии является слежение за субмикронными колебаниями мембраны живых бактериальных клеток (или одиночной бактерии) и их изменениями (затуханием) под воздействием антибиотиков. Определение характера воздействия антибиотика на бактериальную клетку по существенному уменьшению характера осцилляций клеточной мембраны позволяет значительно сократить время проведения теста на антибиотик по сравнению с обычным тестом по наблюдению деления клеток и роста колоний. Метод регистрации осцилляций клетки позволяет сократить общее время тестирования до 20 мин и менее.

Платформа бионаноскопии направлена на изучение детальной структуры сетей из живых

Our research group develops an experimental bionanoscopia platform on the base of a scanning probe microscope and microlens technology to provide the following:

- optical observations with a resolution up to 40–50 nm and a time interval of a fraction of a millisecond;
- registration of the biology objects topography and their characteristic movement in a liquid and air with sub-nanometer resolution and a time resolution of a fraction of a millisecond;
- local exposure to chemical reagents in the nanometer-sized area with control over the dose of the agent, while the volume of the delivered dose can reach the level of 10^{-15} microlitres and less;
- detection of the electrical potential distribution pattern over the surface of the object;
- observation of electric signals flow along the selected tracks.

The bionanoscopia platform makes it possible to study biological objects, detect viruses and the antibiotic resistance of bacteria. Nowadays, there exist either very sensitive

(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA or polymerase chain reaction, PCR) or rapid detection methods (immunochromatographic strips). The gap between the highly sensitive methods and express techniques is 100–10,000 times the difference in the virus detection limit [1–4].

Our experiments in detection of the influenza A virus we use a sensor surface with biospecific interaction based on an optimal probe (antibodies, aptamers, synthetic receptors) intended for use in a flow-through liquid cell. When choosing a probe, the following parameters are taken into account: sensitivity, specificity, analysis time, binding constant, false positive and false negative results, durability, and a possibility of regeneration. The experiments are controlled with the aid of enzyme immunoassay and colorimetric analyses and PCR diagnostics. In the experiments, a possibility of using Rayleigh light scattering by viral particles both in the flow and when attached to the sensor surface of the biochip is considered.

In experiments with bacteria, a method of cells delicate

immobilization on a sensor surface or a surface modified with reagents (polylysine, antibodies) is used. In this case the task of optical and probe microscopy is to monitor submicron vibrations of the living bacterial cell membrane (or a single bacterium) and their changes (attenuation) under the influence of antibiotics. Determining the nature of the antibiotic effect on a bacterial cell by a significant decrease in the nature of oscillations of the cell membrane can significantly reduce the time of the antibiotic test compared to a conventional test used for observing cell division and colony growth. The method to record cell oscillations can reduce the total testing time to 20 minutes or less.

The bionanoscopia platform aims to study the detailed structure of living neurons networks. Here we propose the following approaches:

- the first is the geometric alignment of the microlens array [5] with the area of neurons;
- the second is to provide conditions for the full functioning and growth of the neural network;
- the third is the initiation of signal transmission using



Установка для зондовой микроскопии на базе оптического инвертированного микроскопа Nikon Ti-U
Probe microscopy unit based on Nikon Ti-U optical inverted microscope

нейронов. Здесь нами предлагаются следующие подходы:

- геометрическое совмещение массива микролинз [5] с областью расположения нейронов;

scanning capillary microscopy [6] as a result of local chemical action by a mediator and / or an external impulse (electrical, electrochemical, mechanical).

Particular attention is paid to the formation pattern of the contacts between dendrites, the interaction between synapses and the formation and passage of nerve impulses through the neural network. Large-scale observation of the neural network is carried out using an array of microlenses while a detailed characterization of the topography of dendrites and axons the picture of signal

passage will be carried out using atomic force, capillary and electrochemical microscopy. In the case of capillary microscopy, multichannel capillary probes are used to simultaneous recording of topography, measurement of the electric potential and local delivery of reagents.

The developed bionanoscopy platform makes it possible to determine:

- the effectiveness of the designed receptor surfaces to a specific strain of the virus. Demonstration of the possibilities will be carried out on the influenza A virus and various

- обеспечение условий для полноценного функционирования и роста нейронной сети;
- инициирование передачи сигналов с помощью сканирующей капиллярной микроскопии [6] в результате локального химического воздействия медиатором и/или внешним импульсом (электрическим, электрохимическим, механическим).

Особое внимание уделяется картине формирования контактов между дендритами, взаимодействию между синапсами, формированию и прохождению нервных импульсов по нейронной сети. Масштабное наблюдение нейронной сети осуществляется с помощью массива микролинз в то время, как детальная характеристика топографии дендритов и аксонов, картина прохождения сигналов будут проводиться с помощью атомно-силовой, капиллярной и электрохимической микроскопии. В случае капиллярной микроскопии используются многоканальные капилляры-зонды для одновременной регистрации топографии, измерения электрического потенциала и локальной доставки реагентов.

Разработанная платформа бионаноскопии дает возможность определить:

- эффективность конструируемых рецепторных поверхностей к конкретному штамму вируса. Демонстрация возможностей будет проведена на вирусе гриппа А и различных модельных растительных вирусах (вируса табачной мозаики, вируса картофеля и пр.);
- устойчивость бактерий к антибиотику за время проведения теста длительностью не более 20 мин;

model plant viruses (tobacco mosaic virus, potato virus, etc.);

- bacterial resistance to antibiotics during the test duration of no more than 20 minutes;
- the role of the dendritic processes of the neuron in the formation of nerve impulses of the neural network and the relationship of their topology with the functions of neural networks. ■

This work was supported by the Russian Science Foundation, project No. 20-12-00389, and the Russian Foundation for Basic Research, project No. 20-32-90036.



- роль дендритных отростков нейрона в формировании нервных импульсов нейронной сети, связь их топологии с функциями нейронных сетей.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 20-12-00389, и Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 20-32-90036.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Chan K-H., To KKW, Chan JFW, Li CPY, Chen H., Yuen K-Y.** Analytical sensitivity of seven point-of-care influenza virus detection tests and two molecular tests for detection of avian origin H7N 9 and swine origin H3N 2 variant influenza A viruses. *J Clin Microbiol.* (2013) 51: 3160–3161. <https://doi.org/10.1128/JCM.01222-13> PMID: 23784125.
2. **Keitel K., Wagner N., Lacroix L., Manzano S., Gervais A.** Performance characteristics of a rapid immunochromatographic assay for detection of pandemic influenza A (H1N 1) virus in children. *Eur J Pediatr.* (2011) 170: 511–517. <https://doi.org/10.1007/s00431-010-1326-0> PMID: 20938682.
3. **Peters T.R., Blakeney E., Vannoy L., Poehling K.A.** Evaluation of the limit of detection of the BD Veritor™ system flu A+B test and two rapid influenza detection tests for influenza virus. *Diagn Microbiol Infect Dis.* (2013) 75: 200–202. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.11.004> PMID: 23219228.
4. **Peng Y., Wu J., Liu X., Wang J., Li W.** Evaluation of Wondfo influenza A&B fast test based on immunochromatography assay for rapid diagnosis of influenza A H1N 1. *Braz J Infect Dis.* (2013) 17: 247–250. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2012.09.014> PMID: 23465599.
5. **Wang Z., Guo W., Li L., Luk'yanchuk B., Khan A., Liu Z., Chen Z. & Hong M.** Optical virtual imaging at 50 nm lateral resolution with a white-light nanoscope, *Nature Communications* (2011) 2, p. Article, no. 218. <https://doi.org/10.1038/ncomms1211>.
6. **Yaminsky I.V., Akhmetova A.I.** Scanning capillary microscopy: promising methods and solutions // *Medicine and High Technologies.* (2020) No.2: 22–25.

НОВЫЕ КНИГИ ИЗДАТЕЛЬСТВА «ТЕХНОСФЕРА»



Цена 583 руб.

ЧИСЛЕННЫЕ МЕТОДЫ ИНТЕГРИРОВАНИЯ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫХ УРАВНЕНИЙ

Гарифуллин М.Ф.

Рассмотрены вопросы интегрирования по времени дифференциальных уравнений, используемых при моделировании нестационарных явлений. Приведены численные методы, которые нашли применение при решении различных научных и технических задач, исследованиях технологических процессов. Представлены различные варианты численных методов прямого интегрирования уравнений первого и второго порядков шагами по времени (явные и неявные, одношаговые и многошаговые). Приведены тексты реализующих программ с подробными комментариями. На простых примерах продемонстрированы возможности и свойства методов. Уделено внимание вопросам тестирования программ и выбора рационального метода интегрирования, удовлетворяющего требованиям по точности и устойчивости вычислений.

Предназначено для специалистов, занятых решением нестационарных задач, а также преподавателей, студентов и аспирантов технических вузов.

М.: ТЕХНОСФЕРА,
2020. – 192 с.,
ISBN 978-5-94836-597-8

КАК ЗАКАЗАТЬ НАШИ КНИГИ?

☎ 125319, Москва, а/я 91; ☎ +7 495 234-0110; ☎ +7 495 956-3346; ✉ knigi@technosphera.ru, sales@technosphera.ru