



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2016141844, 25.10.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
25.10.2016Дата регистрации:
17.11.2017

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 25.10.2016

(45) Опубликовано: 17.11.2017 Бюл. № 32

Адрес для переписки:

119311, Москва, ул. Строителей, 4-5-47,
Яминский И.В.

(72) Автор(ы):

Назаров Иван Александрович (RU),
Ахметова Ассель Иосифовна (RU),
Яминский Игорь Владимирович (RU),
Мешков Георгий Борисович (RU),
Сагитова Алсу Вакифовна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Общество с ограниченной ответственностью
Научно-производственное предприятие
"Центр перспективных технологий" (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: US 9274087 B2, 01.03.2016. WO
2005043126 A2, 12.05.2005. HWANG I., LEE
J., Self-actuating biosensor using a piezoelectric
cantilever and its optimization // Journal of
Physics: Conference Series, 34, 2006, стр.362-
367. RU 2527699 C1, 10.09.2014.

(54) Биосенсорное устройство для обнаружения биологических микро- и нанообъектов

(57) Реферат:

Изобретение относится к области биохимии. Предложено биосенсорное устройство для обнаружения биологических микро- и нанообъектов, таких как бактерии и вирусы. Устройство содержит плоский пьезокерамический первый и второй элемент с плоскими электропроводящими слоями на двух противоположных сторонах каждого элемента. Причём один электропроводящий слой второго элемента присоединен к одному электропроводящему слою первого элемента, а не присоединенные друг к другу

электропроводящие слои первого и второго элементов соединены с проводами для подачи или снятия электрического сигнала на устройство. На не присоединенные друг к другу электропроводящие слои первого и второго элемента также нанесен сенсорный слой. Сенсорный слой представляет собой антитела специфичные к искомому биологическому микро- или нанообъекту. Изобретение обеспечивает повышение чувствительности за счёт снижения порога обнаружения биологических микро- или нанообъектов. 2 з.п. ф-лы, 6 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

C12M 1/34 (2006.01)

C12Q 1/04 (2006.01)

G01N 29/036 (2006.01)

G01N 33/48 (2006.01)

B82B 3/00 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: 2016141844, 25.10.2016

(24) Effective date for property rights:
25.10.2016Registration date:
17.11.2017

Priority:

(22) Date of filing: 25.10.2016

(45) Date of publication: 17.11.2017 Bull. № 32

Mail address:

119311, Moskva, ul. Stroitelej, 4-5-47, Yaminskij I.V.

(72) Inventor(s):

Nazarov Ivan Aleksandrovich (RU),
Akhmetova Assel Iosifovna (RU),
Yaminskij Igor Vladimirovich (RU),
Meshkov Georgij Borisovich (RU),
Sagitova Alsu Vakifovna (RU)

(73) Proprietor(s):

Obshchestvo s ogranichennoj otvetstvennostyu
Nauchno-proizvodstvennoe predpriyatie "Tsentr
perspektivnykh tekhnologij" (RU)

(54) BIOSENSING DEVICE FOR BIOLOGICAL MICRO- AND NANO-OBJECTS DETECTION

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: biosensing device for detection of biological micro- and nano-objects, such as bacteria and viruses, is proposed. The device comprises a flat piezoceramic first and second element with flat electrically conductive layers on two opposite sides of each element. At that, one electrically conductive layer of the second element is connected to one electrically conductive layer of the first element, and the electrically conductive layers of the first and second elements not

connected to each other are connected to wires for supply or removal of an electrical signal to the device. A sensor layer is also applied to the electroconductive layers of the first and second element not connected to each other. The sensor layer is antibodies specific to the desired biological micro- or nano-object.

EFFECT: increased sensitivity due to reduced threshold of biological micro- or nano-objects detection.

3 cl, 6 ex

Изобретение относится к области биофизики и касается биосенсорных устройств для обнаружения биологических микро- и нанообъектов, например, таких как бактерии и вирусы.

Известно биосенсорное устройство, представляющее прямоугольный кантилевер, на поверхность которого нанесен рецепторный слой, чувствительный к искомому биологическому объекту. На кантилевер направляют лазерный луч, который отражаясь, направляется на детектор. Если на рецепторный слой попадают биологические микро- или нанообъекты, то лазерный луч смещается и это смещение определяется детектором (Mar Alvarez, Laura G. Carrascosa, Kiril Zinoviev, Jose A. Plaza, Laura M. Lechuga // *Methods in Molecular Biology: Biosensors and Biodetection*, 2009, Vol. 504, pp 51-71).

Известно биосенсорное устройство, представляющее призму с высоким показателем преломления, на основание которой нанесен тонкий металлический слой и на этот металлический слой нанесен рецепторный слой, чувствительный к искомому биологическому объекту. На грань призмы направляют лазерный луч, который проходит сквозь призму, фокусируется на ее основание и отражается. Далее отраженный лазерный луч попадает на детектор. Если на рецепторный слой попадают биологические микро- или нанообъекты, то лазерный луч смещается и это смещение определяется детектором (Д.А. Мамичев, И.А. Кузнецов, Н.Е. Маслова, М.Л. Занавескин // *Молекулярная медицина* №6, стр. 19-27, 2012).

Наиболее близким к заявляемому является известное биосенсорное устройство для обнаружения биологических объектов (бактерий), содержащее плоский пьезокерамический элемент, имеющий плоские электропроводящие слои на двух противоположных сторонах элемента, каждый из которых соединен с проводом, служащим для подачи электрического сигнала на биосенсорное устройство или снятия электрического сигнала с биосенсорного устройства, и нанесенный на электропроводящий слой сенсорный слой, представляющий собой антитела, которые специфичны к искомому биологическому микро- или нанообъекту (патент США US 9,274,087 B2, 1 марта 2016, МПК C12M 1/34, (2006.01) см. фиг. 1) - прототип. Известное техническое решение имеет признаки, совпадающие с существенными признаками предлагаемого технического решения, как наличие плоского пьезокерамического элемента, имеющего плоские электропроводящие слои на двух противоположных сторонах элемента, каждый из которых соединен с проводом, служащим для подачи электрического сигнала на биосенсорное устройство или снятия электрического сигнала с биосенсорного устройства, и нанесенный на электропроводящий слой сенсорный слой, представляющий собой антитела, которые специфичны к искомому биологическому микро- или нанообъекту.

Недостатком данного технического решения является то, что данное устройство имеет относительно высокий порог определения искомых биологических объектов. Например, порог определения бактерии *Bacillus anthracis* составляет 10 бактерий на мл (см. прототип, фиг. 8), что обусловлено конструктивными особенностями данного устройства и свидетельствует о его относительно низкой чувствительности.

Техническая проблема изобретения заключается в разработке биосенсорного устройства для обнаружения биологических микро- и нанообъектов, таких как бактерии и вирусы, лишенного указанного недостатка.

Технический результат изобретения заключается в повышении чувствительности биосенсорного устройства за счет снижения порога обнаружения биологических микро- или нанообъектов.

Предварительно были проведены эксперименты с различными биосенсорными

устройствами для обнаружения биологических микро- и нанообъектов, таких как бактерии и вирусы, которые показали, что указанный технический результат достигается в том случае, когда биосенсорное устройство для обнаружения биологических микро- и нанообъектов, таких как бактерии и вирусы, содержащее плоский пьезокерамический первый элемент, имеющий плоские электропроводящие слои на двух противоположных сторонах элемента, каждый из которых соединен с проводом, служащим для подачи электрического сигнала на биосенсорное устройство или снятия электрического сигнала с биосенсорного устройства, и нанесенный на электропроводящий слой сенсорный слой, представляющий собой антитела, которые специфичны к искомому биологическому микро- или нанообъекту, дополнительно содержит второй плоский пьезокерамический элемент с плоским электропроводящим слоем на двух противоположных сторонах элемента, присоединенный к плоской стороне электропроводящего слоя у первого элемента, причем неприсоединенные друг к другу электропроводящие слои первого и второго элементов соединены с проводами, служащими только для подачи электрического сигнала на биосенсорное устройство или только для снятия электрического сигнала с биосенсорного устройства, причем сенсорные слои нанесены только на неприсоединенные механически друг к другу электропроводящие слои первого и второго элемента. При этом геометрические размеры у первого и второго элемента могут быть одинаковы или разные.

Предлагаемое устройство является новым и не описано в научно-технической литературе.

Конструктивной особенностью предлагаемого устройства является то, что оно выполнено из двух элементов. Первый элемент и второй элемент обязательно должны быть плоскими и должны быть изготовлены из пьезокерамики. При этом можно использовать пьезокерамику различных марок, например, такую, как ЦТС-19, ЦТС-36 и ЦТС-21. Геометрическая форма у каждого из элементов может быть диском, параллелепипедом, призмой и т.д., толщина которых может варьироваться в широких пределах в зависимости от конкретной решаемой задачи. Если каждый из элементов не будет плоским и/или не будет изготовлен из пьезокерамики, то предлагаемое техническое решение утрачивает работоспособность. Кроме того, каждый элемент обязательно должен иметь на одной из своих плоских поверхностей плоский электропроводящий слой и нанесенный на электропроводящий слой сенсорный слой, представляющий собой антитела, которые специфичны к искомому микро- или нанообъекту. Такие антитела коммерчески доступны. При этом сенсорный слой на поверхности пьезокерамического элемента может быть как химически связанным с поверхностью электропроводящего слоя на элементе, так и быть связанным с ним за счет адсорбционных сил. Практически все методы химического связывания сенсорного слоя с поверхностью элемента осуществляется в несколько стадий. Поверхность электропроводящего слоя активируют нанесением тонкой пленки, содержащей активные функциональные группы, необходимые для последующей иммобилизации белковых молекул. Адсорбционное связывание сенсорного слоя с поверхностью элемента может быть получено путем обработки одной из плоских сторон элемента суспензией антител в жидкой среде, например, такой, как вода или физиологический раствор. Если каждый из элементов не будет содержать сенсорного слоя, специфического к искомому биологическому объекту, то предлагаемое техническое решение утрачивает работоспособность.

Первый и второй конструктивный элемент устройства обязательно должны содержать на двух своих противоположных плоскостях плоские электропроводящие слои. Для

изготовления таких слоев могут быть использованы различные электропроводящие материалы, например, такие, как медь, алюминий, серебро, золото и т.д. При этом электропроводящий слой может быть изготовлен как из одного металла, так и из нескольких слоев различных металлов. Электропроводящие слои на каждой из сторон элемента могут быть как одинаковы, так и отличаться друг от друга, и заполнять всю плоскую поверхность элемента или только ее часть. Толщина таких слоев может варьироваться в зависимости от электропроводящих свойств используемых металлов и составлять, например, несколько десятков микрон (мкм). Следует отметить, что электропроводящие слои обязательно должны быть плоскими. Если электропроводящий слой по крайней мере у одного из элементов будет неплоским, то это ухудшит чувствительность биосенсорного устройства. Наносить плоские электропроводящие слои на поверхность элемента можно различными способами, например путем магнетронного напыления металла или гальваническим способом. Если каждый из элементов не будет содержать на двух противоположных сторонах электропроводящий слой, то предлагаемое техническое решение утрачивает работоспособность.

У первого элемента устройства каждый электропроводящий слой обязательно должен быть соединен с проводом, служащим для подачи электрического сигнала на устройство или снятия электрического сигнала с устройства. У второго конструктивного элемента устройства провод должен быть присоединен только к той плоской стороне элемента, на которую нанесен сенсорный слой, чувствительный к искомому биологическому объекту. Необходимость использования проводов обусловлена тем, что пьезокерамический элемент совершает колебания только при подаче на него переменного электрического сигнала, т.е. сигнала, представляющего из себя переменное напряжение с определенной частотой, при этом форма переменного сигнала может быть как синусообразной, так и иной. Следует отметить, что целесообразно использовать подаваемую частоту переменного электрического сигнала, совпадающую с рассчитанной теоретически частотой механических колебаний конкретной пьезокерамики, используемой для получения конкретного пьезокерамического элемента. В таком случае возникает явление резонанса, что повышает чувствительность устройства. Предлагаемое техническое решение утрачивает работоспособность, если у собранного устройства электропроводящие слои у каждого из элементов не будут соединены с проводами, обеспечивающими подачу электрического сигнала на устройство или снятие электрического сигнала с устройства.

В предлагаемом устройстве провода у первого и второго элемента, служащие как для подачи электрического сигнала на устройство, так и для снятия электрического сигнала с устройства, могут быть изготовлены из различных материалов, например, таких, как медь, алюминий, серебро, золото и т.д. Толщина таких проводов может варьироваться в зависимости от электропроводящих свойств материала, используемого для их изготовления. Длина используемых проводов должна обеспечивать соединение пьезокерамических элементов с источником электрического сигнала и с приемным устройством, снимающим электрический сигнал с устройства. В качестве таких устройств могут быть использованы различные устройства, традиционно применяемые для этих целей.

Необходимо отметить, что предлагаемое устройство кроме первого элемента также содержит второй дополнительный плоский пьезокерамический элемент с плоским электропроводящим слоем на двух противоположных сторонах элемента, присоединенный к плоской стороне электропроводящего слоя у первого элемента. При

сборке устройства соединять электропроводящие слои элементов можно различными способами, например с помощью электропроводящего клея, путем обжига проведенных в соприкосновении друг с другом элементов из модифицированной пьезокерамики и т.д. У данного устройства механически неприсоединенные друг к другу

5 электропроводящие слои первого и второго элементов должны быть соединены с проводами, служащими только для подачи электрического сигнала на устройство или только для снятия электрического сигнала с устройства, и сенсорный слой нанесен только на механически неприсоединенные друг к другу электропроводящие слои у первого и второго элементов. Если в предлагаемом устройстве первый элемент и второй
10 элемент будут соединены иным способом кроме вышеописанного, то устройство утрачивает работоспособность. Если устройство будет содержать только первый элемент, то чувствительность такого устройства по отношению к искомым биологическим объектам будет существенно ниже. Если устройство будет содержать только второй элемент, но не будет содержать первого элемента, то устройство
15 утрачивает работоспособность. В предлагаемом устройстве первый элемент и второй элемент должны быть плотно соединены друг с другом так, чтобы их электропроводящие слои, находящиеся внутри собранного устройства, соприкасались друг с другом и обеспечивали прохождение электрического сигнала между элементами.

Предлагаемое устройство работает следующим способом. В проточную ячейку
20 вводят предлагаемое устройство, содержащее на неприсоединенных друг к другу электропроводящих слоях первого и второго элементов одинаковый сенсорный слой, чувствительный к искомому биологическому объекту, представляющий собой антитела, которые специфичны к искомому микро- или нанообъекту. Затем в проточную ячейку помещают дисперсионную среду, представляющую, например, физиологический раствор
25 или воду. После этого на центральный (внутренний) провод устройства подают переменный электрический сигнал, а с внешних электрических проводов каждого из элементов снимают (записывают) электрический сигнал с устройства, который регистрируют прибором, традиционно используемым для этих целей. Также возможно подавать переменный электрический сигнал на каждый из внешних проводов устройства,
30 а с центрального (внутреннего) провода снимать электрический сигнал с устройства. Таким образом, фиксируют резонансную частоту колебаний пьезокерамики в отсутствии вводимых биологических микро- или нанообъектов. Далее в эту же проточную ячейку добавляют исследуемый биологический или небиологический объект, например желудочный сок, мочу, водопроводную воду и т.д. Затем на один или несколько
35 электрических проводов подают аналогичный электрический сигнал, а с другого провода (проводов) регистрируют сигнал, выходящий с устройства. Если резонансная частота электрического сигнала в отсутствии и в присутствии биологического объекта оказывается одинаковой, то данный объект исследований не содержит искомый биологический микро- или нанообъект (конкретный вирус или бактерию). Если
40 резонансная частота электрического сигнала в отсутствии и в присутствии биологического объекта различна на величину в несколько килогерц (кГц), то искомый биологический микро- или нанообъект присутствует в исследуемом объекте. Необходимо отметить, что чем меньше размер исследуемого биологического объекта, то тем больше таких объектов должно провзаимодействовать с сенсорными слоями устройства для
45 получения достоверных и воспроизводимых результатов. После каждого измерения необходимо заменить используемое устройство новым или осуществить удаление биологического объекта с устройства известным способом. (Matthew A. Cooper, Fedor N. Dultsev, Tony Minson, Victor P. Ostanin, Chris Abell, David Klenerman // Nature

biotechnology, 19, pp.833-837, 2001).

Следует отметить, что проводить вышеописанные исследования целесообразно при комнатной температуре, поскольку предлагаемое устройство позволяет регистрировать как живые исследуемые биологические микро- или нанообъекты, так и неживые объекты.

5 Также возможно проводить исследования и при других температурах. При этом в экспериментах можно использовать как отдельное предлагаемое устройство, так и несколько таких устройств, каждое из которых содержат сенсорные слои, чувствительные к различным биологическим микро- и нанообъектам. Также необходимо отметить, что порог определения для каждого биологического микро- и нанообъекта
10 порог определения свой и он зависит от размеров исследуемого объекта.

Преимущества предлагаемого устройства иллюстрируют следующие примеры.

Пример 1 (качественное определение бактерий *Escherichia coli*, имеющих диаметр около 1 мкм и длину в диапазоне 2-6 мкм)

В опыте используют устройство, содержащее два элемента. Первый элемент выполнен
15 из пьезокерамики марки ЦТС-19 и имеет форму диска с диаметром 3 мм и толщиной 50 мкм. У первого элемента устройства на каждой из сторон диска методом магнетронного напыления нанесен плоский электропроводящий слой толщиной 20 мкм, выполненный из меди, каждый из которых соединяют с медным проводом для подачи электрического сигнала на элемент или снятия электрического сигнала с
20 элемента. Второй элемент также выполнен из пьезокерамики марки ЦТС-19 и имеет форму диска с диаметром 3 мм и толщиной 50 мкм. У элемента на каждой из сторон диска методом магнетронного напыления нанесен плоский электропроводящий слой толщиной 20 мкм, выполненный из меди, один из которых соединяют с медным
25 проводом для подачи электрического сигнала на элемент или снятия электрического сигнала с элемента. У собранного устройства второй элемент прикреплен с помощью электропроводящего клея к первому элементу так, чтобы диски были совмещены и не соединенный с проводом электропроводящий слой на втором элементе был прикреплен (присоединен) к электропроводящему слою первого элемента. После этого на
механически неприсоединенные друг к другу электропроводящие слои у первого и
30 второго элементов с помощью адсорбции наносят сенсорный слой, состоящий из антител, специфичных к бактерии *Escherichia coli*. Собранное биосенсорное устройство используют для обнаружения *Escherichia coli* в образце очищенной водопроводной воды. Для этого устройство при 25°C помещают в проточную ячейку, заполненную физиологическим раствором, не содержащим *Escherichia coli*. После этого центральный
35 (внутренний) провод устройства присоединяют к источнику переменного электрического сигнала синусообразной формы с напряжением 40 милливольт (мВ) и внешние электрические провода каждого из элементов устройства соединяют с приемным электронным устройством марки «ФемтоСкан», регистрирующим сигнал, поступающий с биосенсорного устройства. Затем на устройство в течение 1 мин подают переменный
40 электрический сигнал с плавно изменяющейся частотой в диапазоне 441176 - 444631 герц (Гц), включающий теоретическую рассчитанную резонансную частоту колебаний пьезокерамики и в течение этого же времени снимают электрический сигнал с устройства в отсутствии бактерии *Escherichia coli*, который имеет максимум резонансного пика на частоте 443350 Гц. После этого в ту же проточную ячейку добавляют исследуемый
45 объект - водопроводную воду, затем на устройство подают в течение 15 мин вышеописанный переменный электрический сигнал и регистрируют сигнал с устройства. Полученный сигнал имеет максимум на частоте 443578 Гц, что свидетельствует об отсутствии биологического микрообъекта *Escherichia coli* в водопроводной воде.

Пример 2 (количественное определение бактерии *Escherichia coli*)

Опыт проводят аналогично примеру 1, однако в качестве исследуемых объектов используют 5 специально подготовленных образцов водопроводной воды, содержащих бактерию *Escherichia coli* в концентрации 1 бактерия/мл, 5 бактерий/мл, 10 бактерий/мл, 50 бактерий/мл и 100 бактерий/мл. Затем измеряют сдвиг максимума резонансной частоты снимаемого с устройства электрического сигнала при различном содержании исследуемых бактерий и строят соответствующий график, с помощью которого можно количественно определить концентрацию бактерий в исследуемом объекте. После этого проводят измерения в образце исследуемой неочищенной водопроводной воды. При этом каждое измерение проводят с использованием одинакового нового биосенсорного устройства, которое еще не контактировало с суспензией бактерий.

Используемое устройство позволяет выявлять искомую бактерию в концентрации 5 бактерий/мл, что свидетельствует о высокой чувствительности устройства и о низком пороге обнаружения бактерий.

Пример 3 (качественное определение вируса гриппа А, имеющего размер 200 нм)

Опыт проводят аналогично примеру 1 при 20°C, однако используют биосенсорное устройство, выполненное из пьезокерамики марки ЦТС-36 в виде двух квадратных пластин со стороной 3 мм и толщиной 40 мкм. У первого элемента устройства на две противоположные стороны квадрата методом гальванизации наносят плоский электропроводящий слой толщиной 1 мкм, выполненный из золота, каждый из которых соединяют с медным проводом для подачи электрического сигнала на элемент или снятия электрического сигнала с элемента. У второго элемента на две противоположные стороны пластины методом гальванизации наносят плоский электропроводящий слой толщиной 1 мкм, выполненный из золота, один из которых соединяют с медным проводом для подачи электрического сигнала на элемент или снятия электрического сигнала с элемента. У собранного устройства с помощью обжига второй элемент прикрепляют к первому так, чтобы пластины были совмещены и образовывали единую квадратную пластину, при этом не соединенный с проводом электропроводящий слой на втором элементе был прикреплен (присоединен) к электропроводящему слою первого элемента. У устройства на механически неприсоединенные друг к другу электропроводящие слои первого и второго элементов наносят сенсорный слой, состоящий из антител, специфичных к вирусу гриппа А. Собранное биосенсорное устройство используют для обнаружения вируса гриппа А в образце мазка из носа человека. Для этого устройство помещают в проточную ячейку, заполненную дистиллированной водой, не содержащей вируса гриппа А. После этого центральный (внутренний) провод устройства присоединяют к приемному электронному устройству марки «ФемтоСкан», регистрирующему сигнал, поступающий с биосенсорного устройства, а внешние электрические провода каждого из элементов устройства присоединяют к источнику переменного электрического сигнала синусообразной формы при напряжении 40 мВ. Затем на устройство в течение 1 мин подают переменный электрический сигнал с плавно изменяющейся частотой в диапазоне 350445-353524 Гц, включающий теоретическую рассчитанную резонансную частоту колебаний пьезокерамики и в течение этого же времени снимают электрический сигнал с устройства в отсутствие вируса гриппа А, который имеет максимум резонансного пика на частоте 352350 Гц. После этого в ту же проточную ячейку добавляют исследуемый объект - каплю слизи из носа человека, затем на устройство подают в течение 30 мин вышеописанный переменный электрический сигнал и регистрируют сигнал с устройства. Полученный сигнал имеет максимум на частоте 350827 Гц, что свидетельствует о

присутствии биологического нанообъекта вируса гриппа А в капле слизи из носа человека.

Пример 4 (количественное определение вируса гриппа А)

Опыт проводят аналогично примеру 3, однако в качестве исследуемых объектов используют 5 специально подготовленных образцов дистиллированной воды, содержащей вирус гриппа А в концентрации 5000 вирусов/мл, 10000 вирусов/мл, 50000 вирусов/мл, 100000 вирусов/мл и 200000 вирусов/мл. Затем измеряют сдвиг максимума резонансной частоты снимаемого с устройства электрического сигнала при различном содержании исследуемых вирусов в образце и строят соответствующий график, с помощью которого можно количественно определить концентрацию вирусов в исследуемом объекте. Затем проводят измерения в образце исследуемой дистиллированной воды, содержащей каплю исследуемой слизи носа человека. При этом каждое измерение проводят с использованием одинакового нового биосенсорного устройства, которое еще не контактировало с суспензией вирусов.

Используемое устройство позволяет выявлять искомый вирус в концентрации 5000 вирусов/мл, что свидетельствует о высокой чувствительности устройства и о низком пороге обнаружения вирусов.

Пример 5 (качественное определение бактерий *Bacillus anthracis*, имеющих размер 4 мкм)

Опыт проводят аналогично примеру 1 при 28°C, однако используют биосенсорное устройство, выполненное из пьезокерамики марки ЦТС-21 в виде двух треугольных пластин толщиной 30 мкм со сторонами 3 мм у первой пластины и 4 мм у второй пластины. У каждого из элементов устройства на две противоположные стороны пластины методом гальванизации вначале наносят плоский электропроводящий слой меди толщиной 10 мкм, затем на него наносят плоский электропроводящий слой золота толщиной 10 мкм. У первого треугольного элемента со стороной 4 мм каждый из электропроводящих слоев соединяют с медным проводом для подачи электрического сигнала на элемент или снятия электрического сигнала с элемента. У второго элемента устройства один из электропроводящих слоев соединяют с медным проводом для подачи электрического сигнала на элемент или снятия электрического сигнала с элемента. У собранного устройства второй элемент прикреплен с помощью электропроводящего клея к первому элементу так, чтобы пластина с более меньшими размерами полностью располагалась на пластине с большими размерами, причем не соединенный с проводом электропроводящий слой на втором элементе был прикреплен (присоединен) к электропроводящему слою первого элемента. У устройства на механически неприсоединенные друг к другу электропроводящие слои первого и второго элементов, наносят сенсорный слой, состоящий из антител, специфичных к *Bacillus anthracis*. Собранное биосенсорное устройство используют для обнаружения бактерии *Bacillus anthracis* в образце крови северного оленя. Для этого устройство помещают в проточную ячейку, заполненную физиологическим раствором, не содержащим *Bacillus anthracis*. После этого центральный (внутренний) провод устройства присоединяют к приемному устройству марки «ФемтоСкан», регистрирующему сигнал, поступающий с биосенсорного устройства, а внешние электрические провода каждого из элементов устройства присоединяют к источнику переменного электрического сигнала синусообразной формы с напряжением 40 мВ. Затем на устройство в течение 1 мин подают переменный электрический сигнал с плавно изменяющейся частотой в диапазоне 381528-384751 Гц, включающий теоретическую рассчитанную резонансную частоту колебаний пьезокерамики и в течение этого же времени снимают электрический сигнал

с устройства в отсутствии *Bacillus anthracis*, имеющий максимум резонансного пика на частоте 382350 Гц. После этого в ту же проточную ячейку добавляют исследуемый объект - кровь северного оленя, затем на устройство подают в течение 25 мин вышеописанный переменный электрический сигнал и регистрируют сигнал с устройства.

5 Полученный сигнал имеет максимум на частоте 381702 Гц, что свидетельствует о присутствии биологического микрообъекта *Bacillus anthracis* в крови северного оленя.

Пример 6 (количественное определение бактерии *Bacillus anthracis*)

Опыт проводят аналогично примеру 5, однако в качестве исследуемых объектов используют 5 образцов физиологического раствора, содержащего бактерию *Bacillus anthracis* в концентрации 1 бактерия/мл, 10 бактерий/мл, 100 бактерий/мл, 500 бактерий/мл и 1000 бактерий/мл. Затем измеряют сдвиг максимума резонансной частоты снимаемого с устройства электрического сигнала при различном содержании исследуемых бактерий и строятся соответствующий график, с помощью которого можно количественно определить концентрацию бактерий в исследуемом объекте.

15 Затем проводят измерения в образце физиологического раствора, содержащего тестируемую кровь северного оленя.

Используемое устройство позволяет выявлять искомую бактерию в концентрации 1 бактерия/мл, что свидетельствует о высокой чувствительности устройства и о низком пороге обнаружения бактерий.

20 Таким образом, из приведенных примеров видно, что предлагаемое устройство по сравнению с прототипом действительно снижает в 10 раз порог обнаружения биологических микро- или нанообъектов, что свидетельствует о высокой чувствительности устройства.

25 (57) Формула изобретения

1. Биосенсорное устройство для обнаружения биологических микро- и нанообъектов, таких как бактерии и вирусы, содержащее плоский пьезокерамический первый элемент, имеющий плоские электропроводящие слои на двух противоположных сторонах элемента, каждый из которых соединен с проводом, служащим для подачи

30 электрического сигнала на биосенсорное устройство или снятия электрического сигнала с биосенсорного устройства, и нанесенный на электропроводящий слой сенсорный слой, представляющий собой антитела, которые специфичны к искомому биологическому микро- или нанообъекту, отличающееся тем, что дополнительно содержит второй плоский пьезокерамический элемент с плоским электропроводящим слоем на двух

35 противоположных сторонах элемента, присоединенный к плоской стороне электропроводящего слоя у первого элемента, причем не присоединенные друг к другу электропроводящие слои первого и второго элементов соединены с проводами, служащими только для подачи электрического сигнала на биосенсорное устройство или только для снятия электрического сигнала с биосенсорного устройства, причем

40 сенсорные слои нанесены только на не присоединенные механически друг к другу электропроводящие слои первого и второго элемента.

2. Биосенсорное устройство по п. 1, отличающееся тем, что геометрические размеры у первого и второго элемента одинаковы.

3. Биосенсорное устройство по п. 1, отличающееся тем, что геометрические размеры у первого и второго элемента разные.

45