



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

G01N 27/4145 (2022.05); G01N 27/4146 (2022.05); B82Y 15/00 (2022.05)

(21)(22) Заявка: 2021134257, 23.11.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
23.11.2021

Дата регистрации:  
17.06.2022

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 23.11.2021

(45) Опубликовано: 17.06.2022 Бюл. № 17

Адрес для переписки:

630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово,  
ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор" Роспотребнадзора,  
зав. патентным отделом Мистюнину Ю.Н.

(72) Автор(ы):

Асеев Александр Леонидович (RU),  
Генералов Владимир Михайлович (RU),  
Локтев Валерий Борисович (RU),  
Протопопова Елена Викторовна (RU),  
Сафатов Александр Сергеевич (RU),  
Черемискина Анастасия Алексеевна (RU),  
Кручинина Маргарита Витальевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное бюджетное учреждение науки  
"Государственный научный центр  
вирусологии и биотехнологии "Вектор"  
Федеральной службы по надзору в сфере  
защиты прав потребителей и благополучия  
человека (ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор"  
Роспотребнадзора) (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: RU 178317 U1, 29.03.2018. RU  
2018124345 A, 09.01.2020. CN 109427908 A,  
05.03.2019. WO 2014/042418 A1, 20.03.2014. US  
20120073992 A1, 29.03.2012.

(54) Биосенсор для индикации биопатогенов

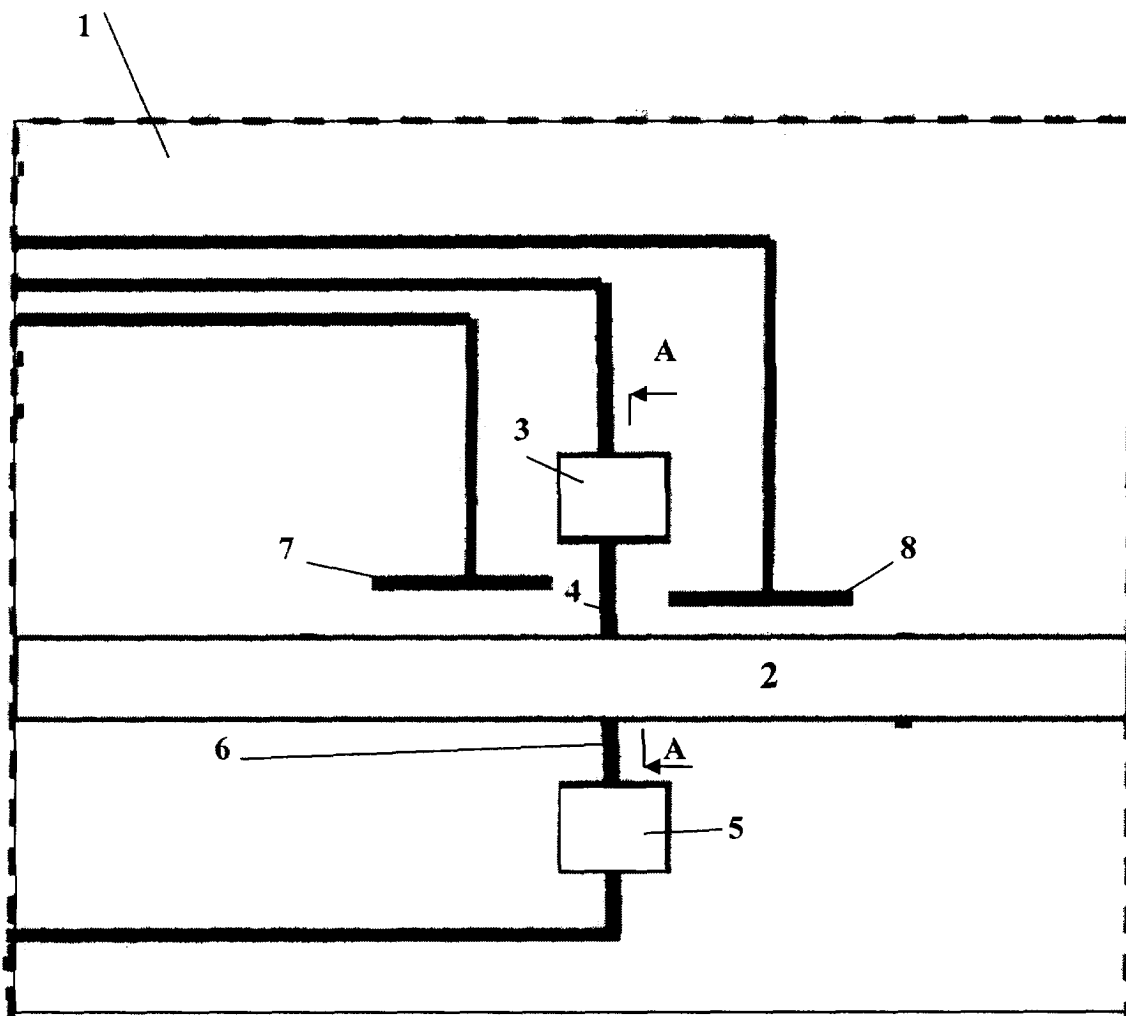
(57) Реферат:

Изобретение относится к средствам индикации мелкодисперсных частиц (МЧ) нано и микронного размера в суспензии: белков, вирусов, бактерий и может быть использовано в области медицины, вирусологии, микробиологии, биотехнологии, токсикологии, биологии. Биосенсор для индикации биопатогенов включает кристалл кремния в виде подложки, на котором расположены проводящие электроды, представляющие собой исток и первый сток транзистора, чувствительный элемент, представляющий собой первый нанопровод, выполненный в тонкопленочной структуре кремний-на-изоляторе на кремниевой подложке и размещенный между двумя проводящими электродами истока и стока с образованием

канала транзистора, диэлектрические покрытия, обеспечивающие изоляцию проводящих электродов. Кроме того, на кремневой подложке по другую сторону электрода истока симметрично первому электроду стока расположены второй электрод стока и второй нанопровод, установленный между электродом истока и вторым электродом стока, а по обе стороны одного из нанопроводов установлены пара латеральных электродов для диэлектрфоретического концентрирования вирусных частиц, расположенных с зазором относительно указанного нанопровода и с осевым смещением относительно друг друга или по обе стороны обоих нанопроводов установлены пары латеральных электродов для

диэлектрофоретического концентрирования вирусных частиц, расположенных с зазором относительно указанных нанопроводов и с осевым смещением относительно друг друга.

Изобретение обеспечивает повышение чувствительности биосенсора для индикации биопатогенов. 1 з.п. ф-лы, 1 пр., 6 ил.



Фиг. 1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

*G01N 27/4145* (2022.05); *G01N 27/4146* (2022.05); *B82Y 15/00* (2022.05)(21)(22) Application: **2021134257**, **23.11.2021**(24) Effective date for property rights:  
**23.11.2021**Registration date:  
**17.06.2022**

Priority:

(22) Date of filing: **23.11.2021**(45) Date of publication: **17.06.2022** Bull. № 17

Mail address:

**630559, Novosibirskaya obl., r.p. Koltsovo, FBUN  
GNTS VB "Vektor" Rospotrebnadzora, zav.  
patentnym otdelom Mistyurinu YU.N.**

(72) Inventor(s):

**Aseev Aleksandr Leonidovich (RU),  
Generalov Vladimir Mikhajlovich (RU),  
Loktev Valerij Borisovich (RU),  
Protopopova Elena Viktorovna (RU),  
Safatov Aleksandr Sergeevich (RU),  
Cheremiskina Anastasiya Alekseevna (RU),  
Kruchinina Margarita Vitalevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe byudzhethnoe uchrezhdenie nauki  
"Gosudarstvennyj nauchnyj tsentr virusologii i  
biotekhnologii "Vektor" Federalnoj sluzhby po  
nadzoru v sfere zashchity prav potrebitel' i  
blagopoluchiya cheloveka (FBUN GNTS VB  
"Vektor" Rospotrebnadzora) (RU)**(54) **BIOSENSOR FOR INDICATION OF BIOPATHOGENS**

(57) Abstract:

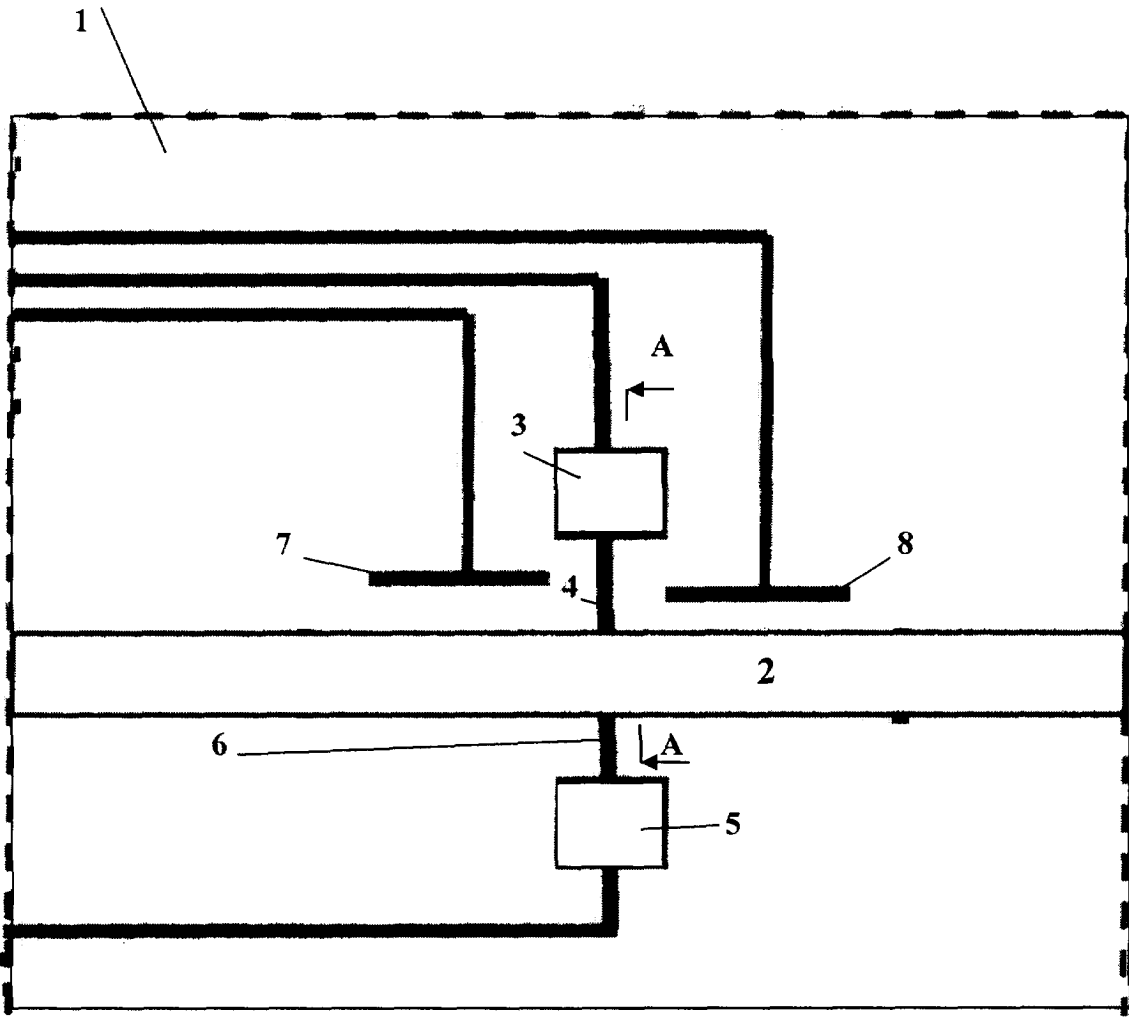
FIELD: fine particles indicating.

SUBSTANCE: invention relates to means for indicating fine particles (FP) of nano and micron size in suspension: proteins, viruses, bacteria and can be used in the field of medicine, virology, microbiology, biotechnology, toxicology, biology. The biosensor for indicating biopathogens includes a silicon crystal in the form of a substrate on which conductive electrodes are located, which are the source and the first drain of the transistor, a sensitive element, which is the first nanowire, made in a thin-film silicon-on-insulator structure on a silicon substrate and placed between two conductive electrodes source and drain electrodes to form a transistor channel, dielectric coatings that provide insulation for the conductive electrodes. In addition, on the silicon substrate on the other side of the source electrode, symmetrically to the first drain

electrode, there is a second drain electrode and a second nanowire installed between the source electrode and the second drain electrode, and on both sides of one of the nanowires, a pair of lateral electrodes for dielectrophoretic concentration of viral particles are installed, located with a gap relative to the specified nanowire and with an axial displacement relative to each other, or on both sides of both nanowires, pairs of lateral electrodes are installed for dielectrophoretic concentration of viral particles, located with a gap relative to of these nanowires and with axial displacement relative to each other.

EFFECT: invention provides an increase in the sensitivity of the biosensor for the indication of biopathogens.

2 cl, 1 ex, 6 dwg



Фиг. 1

Изобретение относится к средствам индикации мелкодисперсных частиц (МЧ) нано и микронного размера в суспензии: белков, вирусов, бактерий и может быть использовано в области медицины, вирусологии, микробиологии, биотехнологии, токсикологии, биологии.

5 Предшествующий уровень техники в настоящее время, современные аналитические методы индикации вирусов (иммуноферментный, иммунохроматографический, полимеразной цепной реакции (ПЦР), анализ и др.) обладают высочайшим уровнем чувствительности. Они способны обнаружить единичные вирусные частицы и их  
фрагменты в суспензии с объемом доли микролитра, выявлять специфические участки  
10 ДНК, РНК конкретных патогенов [Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия. - Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2004. - 496 с.; илл. - ISBN 5-94087-098-81. Так, например, иммуноферментный метод предоставляет высокую скорость и удобство в проведении диагностической реакции [Егоров А.М., Осипов А.П., Дзантиев Б.Б., Гаврилова Е.М. Теория и практика иммуноферментного анализа. М.: Издательство "Высшая школа",  
15 1991. С. 3-42.].

Иммунохроматографический метод при относительно низкой стоимости позволяет осуществлять визуальную оценку результата индикации патогенов  
[Иммунохроматографический анализ <https://monographies.ru/en/book/section?id=99291>.

Метод ПНР значительно увеличивает малые концентрации определенных фрагментов  
20 нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК) в биологическом материале (пробе) и выявляет специфические участки ДНК или РНК, что дает прямое указание на присутствие возбудителя инфекции.

Однако накопленные теоретические знания указывают, что значительная часть вирусов, низкомолекулярных белков все же ускользает от методов обнаружения  
25 вследствие их естественной низкой концентрации. В результате достоверность индикации приобретает случайную величину.

Поиск новых принципов и средств индикации патогенов по-прежнему являются актуальным для ранней медицинской диагностики заболевания.

Конкурентоспособную альтернативу вышеуказанным аналитическим средствам  
30 индикации вирусов могут предложить нанопроволочные биосенсоры на основе структур кремний на изоляторе с нанопроволочными сенсорами (КНИ-НП) [Мальсагова К.А. Высокочувствительная детекция низкокопийных белков с использованием нанопроволочного биосенсора. 2019. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук.]. Разработка технических средств экспресс индикации  
35 патогенов с помощью КНИ-НП сенсоров ведется в направлении улучшения характеристик их чувствительности, достоверности, простоты, применение диэлектрофореза, устройств концентрирования.

Известен способ и устройство для манипулирования поляризуемыми аналитами с помощью диэлектрофореза (заявка на патент US 20040011650, Фиг. 1). В устройстве  
40 модуль концентрации, включает в себя микрожидкостный канал с впускным и выпускным портами и конструктивным сужением. Два электрода, генерирующие электрическое поле для манипулирования аналитами, расположены выше и ниже по направлению потока. С помощью метода диэлектрофореза целевые аналиты концентрируются или отделяются от загрязняющих и транспортируются в модуль  
45 обнаружения. Изобретение позволяет повысить величину обнаружения целевых аналитов. Однако способ и устройство имеют ряд недостатков. Первым недостатком указанного способа является высокие требования к качеству исследуемой суспензии аналита. Суспензия должна иметь низкую электрическую проводимость, частицы

микронного размера должны полностью отсутствовать. Они могут приводить к частичной или полной остановки потока суспензии по микрожидкостному каналу. Вторым недостатком является сложность реализации стабильности объемного расхода и величины линейной скорости потока исследуемой жидкости через микрожидкостный канал. Сила диэлектрофореза, действующая на целевой аналит между двумя электродами, генерирующими электрическое поле для манипулирования аналитами, имеет высокую чувствительность от указанных параметров потока суспензии. Третьим недостатком является крайне сложная процедура удаления загрязняющих частиц или воздушных пузырьков из микрожидкостного канала. Четвертым недостатком является проблема стерилизации, промывка нейтрализующим раствором и пробоподготовка микрожидкостного канала к следующему эксперименту. Пятым недостатком является многочисленные сложности совмещения стандартной КМОП-технологии с конструктивными особенностями биосенсора.

Известен способ увеличения чувствительности биосенсора (заявка на патент US 20060219939), в котором представлены способ и устройство для обнаружения малых количеств биочастиц в небольших объемах образца. Здесь используется квадрупольная система электродов, которая содержит четыре электрода. Между электродами помещается капля исследуемой суспензии. Концентрация и манипуляция целевых частиц осуществляется с помощью метода диэлектрофореза, который обеспечивает их сжатие к центру квадрупольной системы. Способ и устройство также имеют недостатки. Первый недостаток - это четыре электрода и пересечение между собой проводников, подводящих переменное напряжение к ним. Второй недостаток многочисленные сложности совмещения стандартной КМОП-технологии с конструктивными особенностями биосенсора.

Известен биосенсор, описанный в работе (Мальсагова К.А. Высокочувствительная детекция низкокопийных белков с использованием нанопроволочного биосенсора. 2019. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук., стр. 28-33). Основным элементом биосенсора является массив из 12 транзисторов с нанопроволоками. Каждый транзистор имеет индивидуальные электроды для истока и стока. Конструктивное решение топологии не содержит и не предусматривают использование электродов с целью манипуляции частицами для повышения количества частиц в области НП и, таким образом, увеличения чувствительности биосенсора с помощью диэлектрофореза. В результате, появление искомой вирусной частицы на поверхности нанопроволоки (затворе) носит случайный характер.

Известен биосенсор, содержащий в себе массив нанопроволок на кристалле и интегрированную микрожидкостную систему для подачи биологических растворов [Patolsky F., Timko B.P., Zheng G., Lieber C.M. Nanowire - Based Nanoelectronic Devices in the Life Sciences // MRS BULLETIN. 2007. Vol. 32. P. 142-149]. Размер чипа составляет 15×15 мм, который расположен на платформе и имеет канал для ввода жидкости, ПДМС (полидиметилсилоксан) канал и канал для вывода жидкости

Однако биосенсор-аналог имеет недостаточную чувствительность, т.к. не имеет электродов для манипуляции вирусными частицами методом диэлектрофореза с целью увеличения их концентрации в области нанопроводов. Для микрожидкостной системы свойственны и типичные недостатки, которые подробно описаны выше (см. заявка на патент США US 20040011650).

Наиболее близким аналогом (прототипом) является биосенсор (патент на полезную модель РФ №178317, МПК G01N 27/414, опубл. 29.03.2018 г.), выполненный в виде полевого транзистора для определения биологически активных соединений,

включающий кремниевую подложку, проводящие электроды, представляющие собой исток и сток транзистора, чувствительный элемент, размещенный между двумя проводящими электродами с образованием канала транзистора, диэлектрические покрытия, обеспечивающие изоляцию проводящих электродов. Чувствительный элемент представляет собой нанопровод, выполненный в тонкопленочной структуре кремний-на-изоляторе, образованной на кремниевой подложке, при этом на поверхность нанопровода нанесены золотые наночастицы диаметром 2-6 нм с плотностью нанесения 100-7000 шт./мкм<sup>2</sup>, на которые ковалентно иммобилизованы фрагменты высокоспецифических антител к определяемому биологически активному соединению. Проводящие электроды выполнены из хрома, золота, платины, алюминия, титана или сильнолегированного кремния.

Однако биосенсор-прототип обладает недостаточной чувствительностью из-за отсутствия средств концентрирования частиц у нанопроводов биосенсора и малого количества транзисторов.

Техническим результатом заявляемого изобретения является повышение чувствительности биосенсора для индикации вирусных частиц путем увеличения количества нанопроволочных транзисторов и повышения концентрации вирусных частиц в области указанных нанопроводов за счет воздействия на частицы методом диэлектрофореза.

Указанный технический результат достигается тем, что в биосенсоре для индикации вирусных патогенов, включающем кристалл кремния в виде подложки, на котором расположены проводящие электроды, представляющие собой исток и первый сток транзистора, чувствительный элемент, представляющий собой первый нанопровод, выполненный в тонкопленочной структуре кремний-на-изоляторе на кремниевой подложке и размещенный между двумя проводящими электродами истока и стока с образованием канала транзистора, диэлектрические покрытия, обеспечивающие изоляцию проводящих электродов, согласно изобретения, на кремневой подложке по другую сторону электрода истока симметрично первому электроду стока расположен второй электрод стока и второй нанопровод, установленный между электродом истока и вторым электродом стока, а по обе стороны одного из нанопроводов установлены пара латеральных электродов для диэлектрофоретического концентрирования вирусных частиц, расположенных с зазором относительно указанного нанопровода и с осевым смещением относительно друг друга или по обе стороны обоих нанопроводов установлены пары латеральных электродов для диэлектрофоретического концентрирования вирусных частиц, расположенных с зазором относительно указанных нанопроводов и с осевым смещением относительно друг друга. Осевое смещение латеральных электродов относительно друг друга составляет не больше ширины одного латерального электрода.

Диэлектрофорез позволяет управлять направлением и скоростью поступательного движения вирусных частиц с помощью амплитудно-частотных характеристик неоднородного переменного электрического поля (НПЭП). Под действием поля, любая частица поляризуется, в ее объеме формируется индуцированный дипольный момент. В результате она движется в сторону ближайшего электрода и оседает на его грани (положительный диэлектрофорез) или поле выталкивает частицу в область, где его градиент минимален (отрицательный диэлектрофорез). Таким образом, манипулируя частицами с помощью параметров неоднородного переменного электрического поля (НПЭП) можно целенаправленно помещать их на поверхность нанопроволоки. Реализация данного технического результата достигается введением латеральных

электродов в области пространства охватывающего нанопровод транзистора и использование диэлектрофореза.

Заявляемый биосенсор иллюстрируется следующими графическими материалами. На фиг. 1 представлена схема биосенсора, состоящая из двух КНИ-НП транзисторов, одного общего истока и одной пары латеральных электродов. На фиг. 2 представлена схема биосенсора, состоящая из двух КНИ-НП транзисторов, одного общего истока и двух пар латеральных электродов. На фиг. 3 приведена схема биосенсора, состоящая из четырех КНИ-НП транзисторов, двух истоков и двух пар латеральных электродов. На фиг. 4 приведена расчетная структура потенциала электрического поля между двумя латеральными электродами для диэлектрофореза заявляемого биосенсора. На фиг. 5 приведен график временных токов  $I_{ds}$  биосенсора, измеренных на воздухе, для 1 мМ PBS, разных напряжениях  $V_{bg}$  и в пробах с разной концентрацией моноклональных антител 10Н10 к вирусу клещевого энцефалита. На фиг. 6 представлена электрическая схема КНИ-НП транзистора заявляемого биосенсора в разрезе по А-А на фиг. 1 вместе с подложкой из кристалла кремния.

Описание конструкции заявляемого биосенсора. Биосенсор для индикации вирусных патогенов включает кристалл кремния (Si) в виде подложки 1, на которой расположены проводящие электроды, представляющие собой исток 2 и первый сток 3 транзистора, чувствительный элемент, представляющий собой первый нанопровод 4 (затвор), выполненный в тонкопленочной структуре кремний-на-изоляторе на кремниевой подложке 1 и размещенный между двумя проводящими электродами истока 2 и первого электрода стока 3 с образованием канала транзистора. На кремниевой подложке 1 по другую сторону электрода истока 2 симметрично первому электроду стока 3 расположен второй электрод стока 5 и второй нанопровод 6 (затвор), установленный между электродом истока 2 и вторым электродом стока 5. По обе стороны одного из нанопроводов 4 или 6 установлены пара латеральных электродов 7 и 8 для диэлектрофоретического концентрирования вирусных частиц, расположенных с зазором относительно одного из указанных нанопроводов 4 или бис осевым смещением относительно друг друга (фиг. 1). В другом варианте выполнения биосенсора (фиг. 2) по обе стороны обоих нанопроводов 4 и 6 установлены соответственно пары 7, 8 и 9, 10 латеральных электродов для диэлектрофоретического концентрирования вирусных частиц, расположенных с зазором относительно указанных нанопроводов 4, 6 и с осевым смещением относительно друг друга. Осевое смещение латеральных электродов 7, 8 и 9, 10 относительно друг друга составляет не больше ширины одного латерального электрода. Для обеспечения изоляции проводящие электроды истока 2, первого электрода стока 3 и второго электрода стока 5 имеют диэлектрическое покрытие (на чертежах не показано).

Вышеприведенные варианты выполнения биосенсора (фиг. 1, 2) позволяют создавать более сложные конструкции биосенсора из 4, 12, 20, 40 и более КНИ-НП транзисторов. На фиг. 3 приведен биосенсор, состоящий из четырех КНИ-НП транзисторов и снабженный дополнительным электродом истока. Биосенсор для индикации вирусных патогенов (также, как на фиг. 1) включает кристалл кремния (Si) в виде подложки 1, на которой расположены проводящие электроды, представляющие собой первый исток 2 и первый сток 3 транзистора, чувствительный элемент, представляющий собой первый нанопровод 4 (затвор), выполненный в тонкопленочной структуре кремний-на-изоляторе на кремниевой подложке 1 и размещенный между двумя проводящими электродами истока 2 и первого электрода стока 3 с образованием канала транзистора. По другую сторону электрода истока 2 симметрично первому электроду стока 3 расположен второй

электрод стока 5 и второй нанопровод 6 (затвор), установленный между электродом истока 2 и вторым электродом стока 5. По обе стороны нанопровода 4 установлены пара латеральных электродов 7 и 8 для диэлектрофоретического концентрирования вирусных частиц, расположенных с зазором относительно указанного нанопровода 4 и с осевым смещением относительно друг друга. Кроме того, на подложке 1 расположены проводящие электроды, представляющие собой исток 11 и третий сток 12 транзистора, третий нанопровод 13 (затвор), размещенный между двумя проводящими электродами второго истока 11 и третьего стока 12 с образованием канала транзистора. На кремневой подложке 1 по другую сторону электрода истока 11 симметрично третьему электроду стока 12 расположен электрод четвертого стока 14 и четвертый нанопровод 15 (затвор), установленный между электродами второго истока 11 и четвертого стока 14. По обе стороны нанопровода 15 установлены пара латеральных электродов 16 и 17 для диэлектрофоретического концентрирования вирусных частиц, расположенных с зазором относительно второго нанопровода 11 и с осевым смещением относительно друг друга (фиг. 3).

Представленная на фиг. 6 электрическая схема КНИ-НП транзистора заявляемого биосенсора в разрезе по А-А на фиг. 1 вместе с подложкой 1 из кристалла кремния содержит индуцированный канал 18 проводимости (подзатвор) транзистора, расположенный под нанопроводом 4 (затвором) транзистора и референс-электрод 19. Источник 20 постоянного напряжения  $U=0,15$  В подключен в цепи сток 3-исток 2. Клемма плюс источника 20 постоянного напряжения подключен ко всем стокам. Источник 21 постоянного напряжения в интервале  $U=0-30$  В (например, ОJ5003СП) подключают в цепь подзатвор - земля. С помощью универсального вольтметра 22 (например, В7-73/3), включенного в режим амперметра постоянного тока, выполнялись измерения  $I_{ds}$  - тока биосенсора. Исследуемая капля суспензии 23 содержит вирусные частицы 24 и антитела 25.

Принцип действия биосенсора состоит в следующем.

Источник 20 питания 0,15 В положительной клеммой подключается к стоку(ам) (3, 5, 12, 14) транзистора(ов) через типовые контактные площадки (на чертежах не показаны). Отрицательная клемма источника 20 подключается к истоку(ам) (2, 11) является общей (земля) для всех транзисторов (биосенсоров) в электрической принципиальной схеме (фиг. 6).

На индуцированный канал 18 проводимости (подзатвор) транзистора от источника 21 подается напряжение в интервале (0-30) В. Напряжение устанавливается таким, чтобы начальный ток  $I_{ds}$  коллектора транзистора в режиме холостого хода составлял примерно  $10^{-6}$  А. Начальный  $I_{ds}$  ток коллектора транзистора устанавливается при полном отсутствие исследуемой пробы (капли 23 исследуемой суспензии).

Далее на поверхность массива транзисторов наносится капля 23 суспензии антител 25 объемом (0,5-1,0) мкл. Она должна обязательно покрывать нанопроводы (4, 6, 13, 15). Ток транзистора после некоторого времени (100-200) секунд устанавливается на уровне состояния покоя. Этот уровень принимается как уровень отсчета. Все дальнейшие измерения величины  $I_{ds}$  тока транзистора производятся относительно него. Далее вносится исследуемая суспензия объемом 0,5-1,0 мкл. В ее составе присутствуют вирусные частицы 24 (антиген). Если антитела 25 являются специфическими по отношению к внесенным вирусным частицам 24, то между ними образуются устойчивые комплексы антитело + антиген. Указанные комплексы на разделе фаз исследуемая суспензия-поверхность нанопровода (4, 6, 13, 15) образуют электрический заряд, который

модулирует проводимость индуцированного канала 18 и, как следствие, изменяется ток стока транзистора. Суммарный электрический заряд комплексов антитело + антиген отражает количества вирусных частиц и амплитуду изменения тока транзистора как биосенсора. Положительный знак электрического заряда комплексов увеличивает проводимость индуцированного канала 18 и величину тока транзистора. Данная реакция определяется хорошо известными свойствами при транзистора [Дьяконов В.П., Максимчук А.А., Ремнев А.М., Смердов В.Ю. Энциклопедия устройств на полевых транзисторах / Дьяконов В.П. - М.: СОЛОН-Р, 2002. - 512 с.]. Аналогично, отрицательный заряд комплексов уменьшает величину и амплитуду тока транзистора (биосенсора).

Латеральные электроды (7, 8, 9, 10, 16, 17) позволяют управлять направлением поступательного движения вирусных частиц 24 с помощью метода диэлектрофореза. После внесения исследуемой суспензии на поверхность массива транзисторов и нанопровода (4, 6, 13, 15), на 5-10 секунд подают переменное напряжение на латеральные электроды (7, 8, 9, 10, 16, 17). В результате концентрация вирусных частиц 24 в области нанопровода (4, 6, 13, 15) и на разделе фаз исследуемая суспензия-нанопровод (затвора транзистора) возрастает, что увеличивает вероятность индикации искомых вирусных частиц 24. Амплитуда и частота переменного напряжения на латеральных электродах (7, 8, 9, 10, 16, 17) определяется экспериментально для каждого антигена индивидуально.

Временная зависимость тока  $I_{ds}$  биосенсора, измеренные на воздухе, в пробах с разной концентрацией вируса клещевого энцефалита представлено на фиг. 5.

Пример выполнения и использования заявляемого биосенсора.

В эксперименте использовался заявляемый биосенсор, изготовленный в институте физики полупроводников им. А.В. Ржанова Сибирского отделения Российской академии наук, фрагмент которого приведен на фиг. 3 и состоящий из 40 полевых транзисторов, подключенных к двум общим электродам, выполняющих функцию первого и второго истока (2, 11), латеральные электроды (7, 8, 16, 17) для манипуляции направлением поступательного движения частиц антигена 24 и антител 25 в ближайшем пространстве нанопровода 4 или 15, использование источников постоянного напряжения 20 и 21.

Кристалл биосенсора в виде подложки 1 изготовлен на основе пластин фирмы SOITEC (Франция). Пластины имели проводимость р-типа и удельное сопротивление 14-22 Ом см.

Внешний вид топологии четырех КНИ-НП транзисторов на двух истоках 2, 11 с латеральными управляющими электродами (7, 8, 16, 17) представлены на Фиг. 3. Схема электрическая КНИ-НП транзистора представлена на фиг. 6. Транзисторы изготавливались методом оптической литографии. Все транзисторы имели структуру n-p-n типа.

На латеральные электроды подавали переменное гармоническое напряжение с частотой 1 МГц и амплитудой  $U=10$  В, без постоянной составляющей с генератора ГЗ-112/1 [Техническое описание и инструкция по эксплуатации ГЗ-112/1]. Частота контролировалась с помощью частотомера АСН-8322. Относительная погрешность измерения частоты не превышала  $\pm 10^{-4}\%$  [Руководство пользователя. Частотомер АСН-8322]. Напряжение контролировалось вольтметром В7-78-3. Относительная погрешность измерения амплитуды напряжения составляла не более  $\pm 0,16\%$  [Руководство по эксплуатации. Вольтметр универсальный цифровой В7-78/3.].

Между латеральными электродами (7, 8) НПЭП  $\vec{E}_{cp}$  вызывает перераспределение (поляризацию) совокупности свободных и связанных, положительных  $q^+$  и

отрицательных  $q^-$  зарядов во всем объеме частицы 24 (клетке, вирусе, бактерии и др.). В результате возникает индуцированный диполь  $\vec{d}_{кл}$  на который действует усредненный по времени вектор силы, см. уравнение (1). Он приводит частицу (клетку, бактерию, вирус и др) в поступательное движение и удерживает ее между латеральными электродами (7, 8) [Hughes M.P., Morgan H., Rixon F.J. Dielectrophoretic manipulation and characterization of herpes simplex virus-1 capsids // Eur. Biophys. J. 2001. V. 30, N 4. P. 268-272.].

$$\langle \vec{F}_{кл} \rangle = \langle 2 \cdot \pi \cdot \epsilon_{ср} \cdot \epsilon_0 \cdot r_k^3 \cdot \left[ \frac{\epsilon_{кл} - \epsilon_{ср}}{\epsilon_{кл} + 2 \cdot \epsilon_{ср}} \right] \cdot \nabla E_{ср}^2 \rangle \quad (1)$$

где:  $\epsilon_{ср}$  - диэлектрическая проницаемость среды;

$\epsilon_{кл}$  - диэлектрическая проницаемость частицы (клетки и др);

$\nabla E_{ср}^2$  - градиент квадрата напряженности электрического поля в среде.

В зависимости от знака разницы  $\epsilon_{кл} - \epsilon_{ср}$  сила, действующая на частицу, может быть как положительной, так и отрицательной. На частоте 1 МГц она положительная. В этом случае, частицы движутся на грань электродов (7, 8) в область с максимальным градиентом квадрата напряженности электрического поля и оседают на ней

Сдвиг латеральных электродов относительно оси симметрии обеспечивает возможность достижения максимального  $\nabla E_{ср}^2$  градиента напряженности электрического поля между ними по оси симметрии. Расчетная структура потенциала  $\phi$  электрического поля между латеральными электродами для диэлектрофореза представлена на фиг. 4.

Значения компонент напряженности  $E$  электрического поля между латеральными электродами вычисляются по координатам  $X, Y$  как сумма их квадратов

$$E_x = \frac{\partial \phi}{\partial x}, \quad E_y = \frac{\partial \phi}{\partial y},$$

Искомая величина градиента квадрата напряженности двумерного электрического поля в каждой точке между латеральными электродами (7, 8) находится по формуле

$$\nabla E^2 = \frac{\partial E^2}{\partial x} i + \frac{\partial E^2}{\partial y} j.$$

Результаты индикации антител к клещевому энцефалиту 10Н10

В эксперименте использовался:

- вирус клещевого энцефалита Штамм 205 (ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор Роспотребнадзора);
- моноклональные антитела 10Н10 к вирусу клещевого энцефалита (ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор" Роспотребнадзора).

Фосфатный буфер (PBS) 1 мМ разводили в:  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0.05 М +  $\text{NaCl}$  0.15 М, pH8.

Исследуемая суспензия 23 очищенных моноклональных антител (МКА) 10Н10 к вирусу клещевого энцефалита (КЭ), штамм 205, имела концентрацию 1 мг/мл в растворе 0.15 М  $\text{NaCl}$ , 0.010 М  $\text{Tris}$  pH7.4. Суспензия МКА последовательно для выполнения экспериментов разбавлялась в 1 мМ PBS в соотношениях 10Н10:PBS=10<sup>-1</sup>-10<sup>-6</sup> и наносилась капельным способом (объем капли 1 мкл) на кристалл в виде подложки 1

биосенсора и поверхность нанопровода 4. Концентрация антител к вирусу КЭ составляла  $\sim 10^6$  шт/мкл. В эксперименте использовалась физическая фиксации антител на поверхности нанопровода 4 как не дорогая и наиболее простая. С этой целью модификация поверхности нанопровода 4 не проводилась [Никонов А.М., Наумова О.В., Генералов В.М., Сафатов А.С., Фомин Б.И. Подготовка поверхности нанопроволочных кремниевых полевых транзисторов как этап создания биосенсора: обзор. Поверхность. Рентгеновские, синхронные и нейтронные исследования, 2020, №4, стр. 24-34.]. Перед измерением на латеральные электроды (7, 8) в течение 5 секунд подается переменное напряжение с частотой 1 МГц и амплитудой 10 В. Между латеральными электродами (7, 8) возникает поле и диэлектрофорез частиц, которые движутся в сторону ближайшего электрода и оседают на его грани и на поверхность нанопровода 4. С помощью напряжения источника 21 питания OJ5003СП выбирается начальная величина  $I_{ds}$  тока биосенсора, относительно которой производится отсчет.

При увеличении напряжения источника 21 питания  $V_{bg}$  значения тока  $I_{ds}$  увеличивается (см. фиг. 5),  $t$  - 2500 sec. Положительное напряжение источника 21 индуцирует электронный канал проводимости 18 между областями истока 2 и стока 3 биосенсора. Экспериментально оптимальная начальная величина тока  $I_{ds}$  выбрана на уровне  $10^{-6}$  А, что обеспечивает высокую чувствительность биосенсора. Уменьшение тока  $I_{ds}$  при фиксированном напряжении  $V_{bg}$  и после замены PBS на пробу с МКА ( $t=1000-1200$ ) sec означает, что антитела к вирусу КЭ в исследуемых пробах на поверхности нанопровода 4 транзистора имеют отрицательный заряд. Этот вывод следует из хорошо известной реакции транзистора со структурой n-p-n [Дьяконов В.П., Максимчук А.А., Ремнев А.М., Смердов В.Ю. Энциклопедия устройств на полевых транзисторах / Дьяконов В.П. - М.: СОЛОН-Р, 2002. - 512 с.].

Амплитудные изменения величины тока  $I_{ds}$  биосенсора от напряжения  $V_{bg}$ , и концентрации МКА в пробе представлены на фиг. 5, где приведен график временных токов  $I_{ds}$  биосенсора, измеренных на воздухе ( $t=0-100$ ) sec, для 1 mM PBS ( $t=100-1200$ ) sec, разных напряжениях  $V_{bg}$  и в пробах с разной концентрацией моноклональных антител 10Н10 к вирусу клещевого энцефалита ( $t=1200-2500$ ) sec. На временном участке 2500 sec напряжение от источника 21 увеличили до 20 В для разведения вируса в  $10^{-4}$  раз. Из приведенных данных следует, что отклик биосенсора - относительные изменения тока  $I_{ds}$  для пробы 10Н10:PBS= $10^{-6}$  составляет  $\sim 65\%$ , для пробы с разведением  $10^{-5}$  - 90%. На пробу  $10^{-4}$  биосенсор практически не реагирует - наблюдается насыщение, связанное, с отсутствием свободных связей, способных обеспечить адсорбцию МКА на поверхность сенсора, или заблокирован доступ к этим связям.

Таким образом, пример выполнения и использования заявляемого биосенсора подтверждает достижение заявляемого технического результата, состоящего в повышении чувствительности биосенсора для индикации вирусных частиц за счет их концентрации методом диэлектрофореза на поверхности нанопровода.

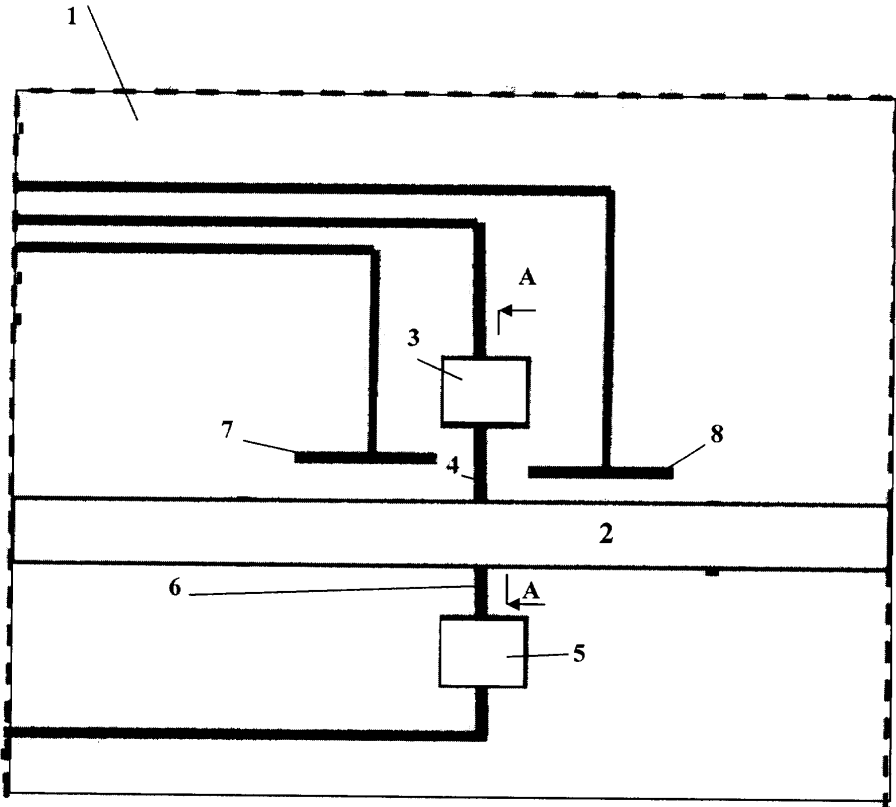
#### (57) Формула изобретения

1. Биосенсор для индикации биопатогенов, включающий кристалл кремния в виде подложки, на котором расположены проводящие электроды, представляющие собой исток и первый сток транзистора, чувствительный элемент, представляющий собой первый нанопровод, выполненный в тонкопленочной структуре кремний-на-изоляторе

на кремниевой подложке и размещенный между двумя проводящими электродами истока и стока с образованием канала транзистора, диэлектрические покрытия, обеспечивающие изоляцию проводящих электродов, отличающийся тем, что на кремниевой подложке по другую сторону электрода истока симметрично первому электроду стока расположены второй электрод стока и второй нанопровод, установленный между электродом истока и вторым электродом стока, а по обе стороны одного из нанопроводов установлены пара латеральных электродов для диэлектрофоретического концентрирования вирусных частиц, расположенных с зазором относительно указанного нанопровода и с осевым смещением относительно друг друга или по обе стороны обоих нанопроводов установлены пары латеральных электродов для диэлектрофоретического концентрирования вирусных частиц, расположенных с зазором относительно указанных нанопроводов и с осевым смещением относительно друг друга.

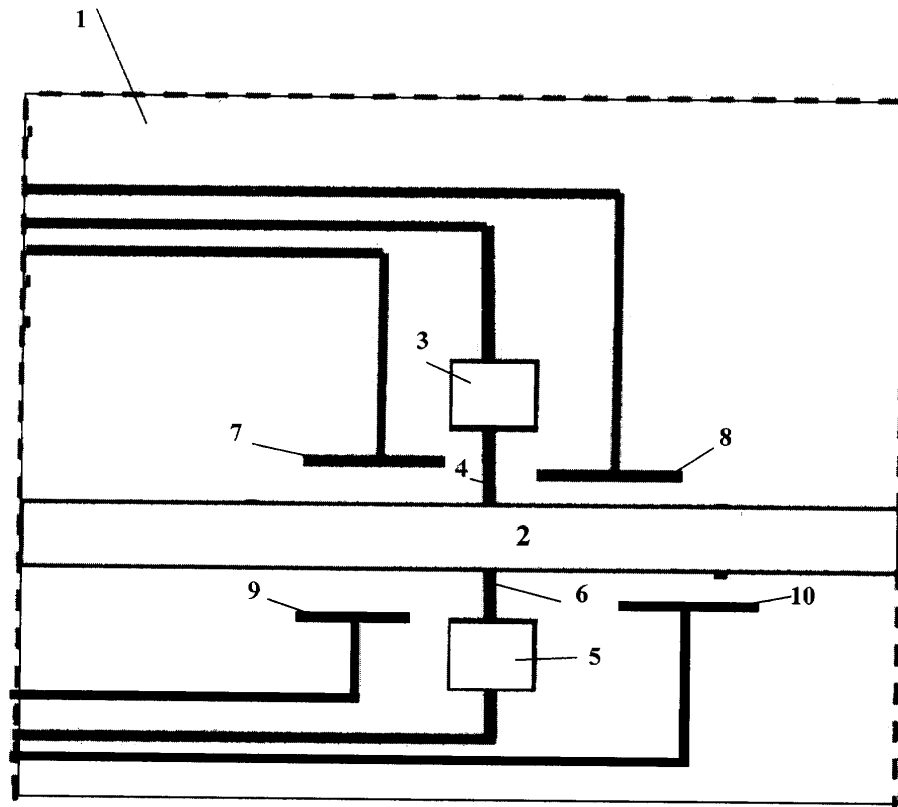
2. Биосенсор по п. 1, отличающийся тем, что осевое смещение латеральных электродов относительно друг друга составляет не больше ширины одного латерального электрода.

1

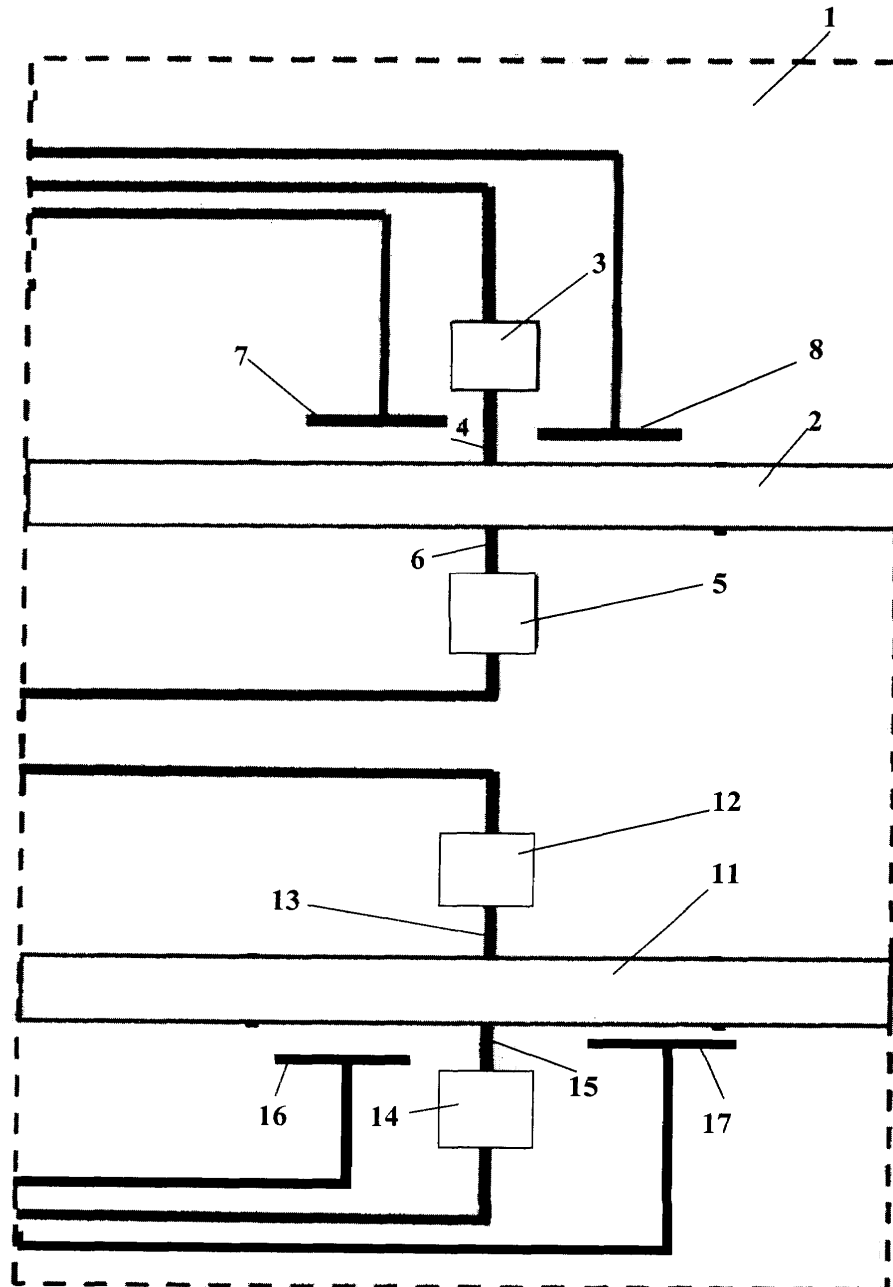


Фиг. 1

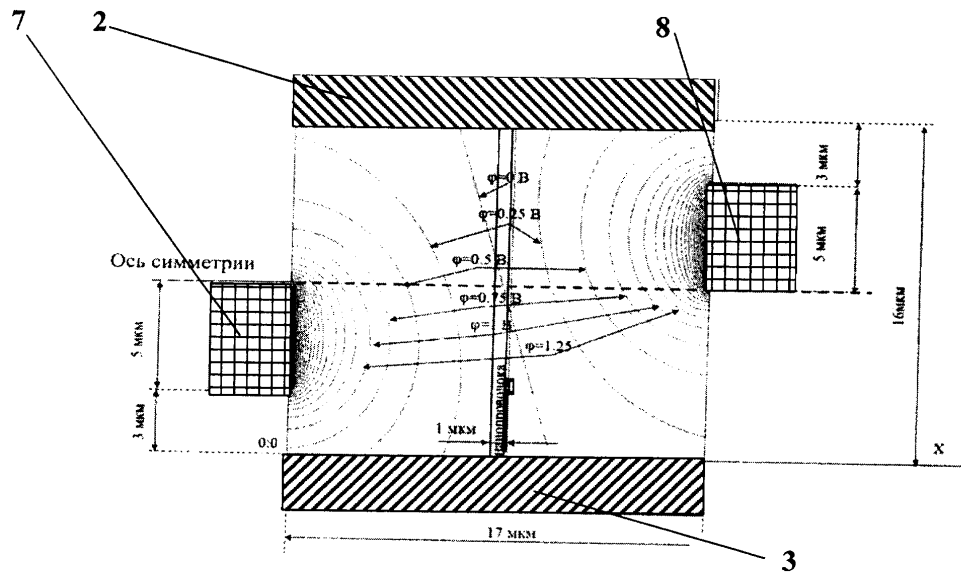
2



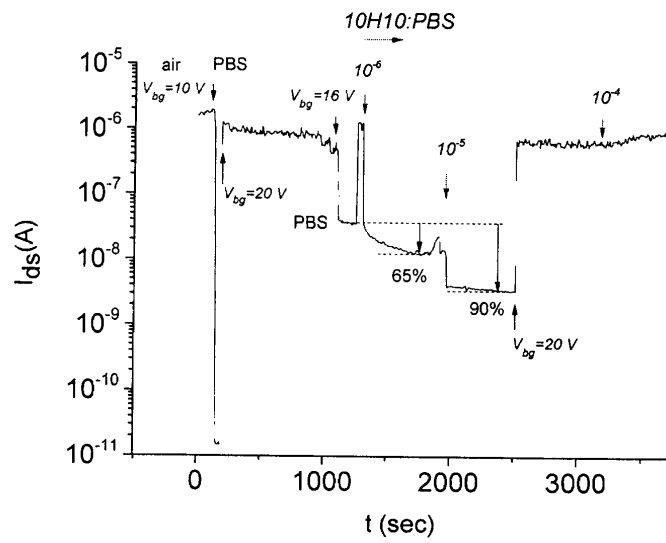
Фиг. 2



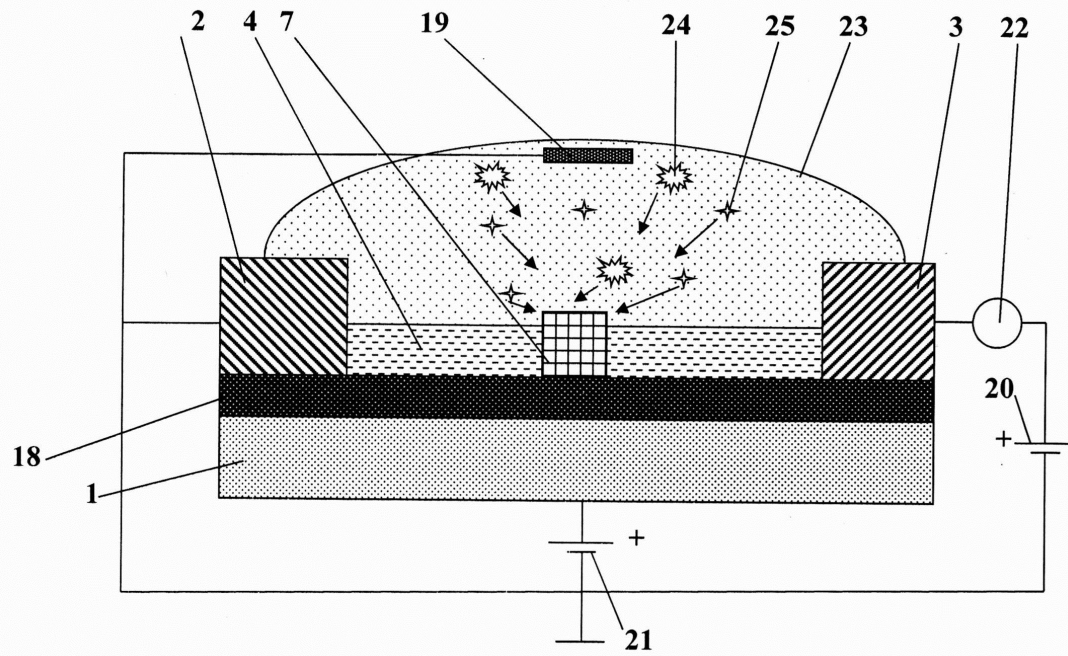
Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6