



Нанобиоаналитические системы: от молекулярного узнавания до биодетекции

Курочкин Илья Николаевич

д.х.н., профессор

Химический Факультет МГУ

ikur@genebee.msu.su

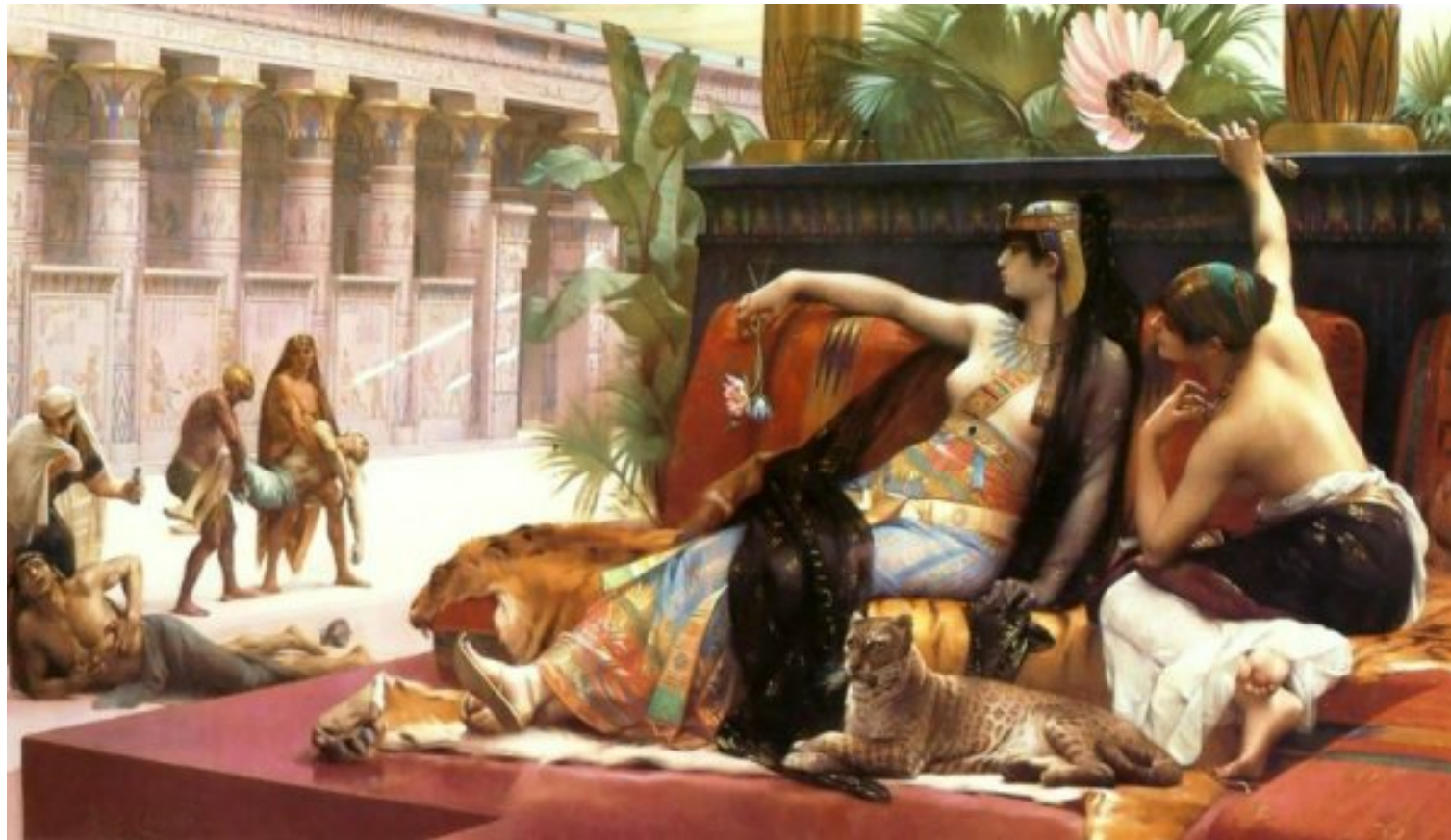
«Первые» биоаналитические системы



- Дегустатор (чашник, крайничий) – предотвращение отравления...

(...до нашей эры...)

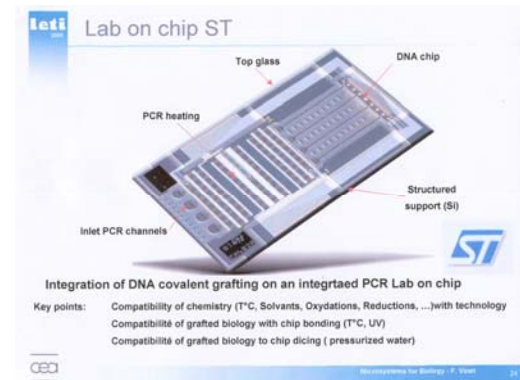
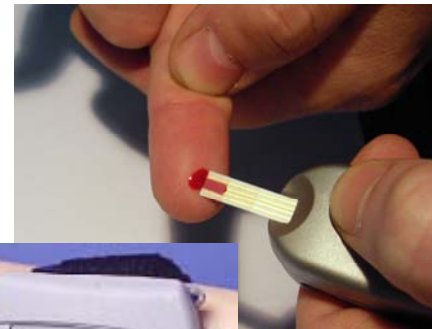
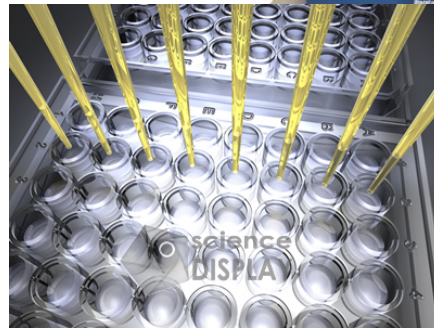
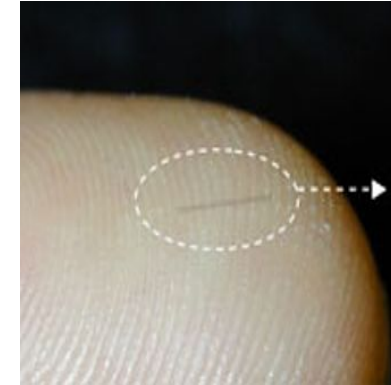
«Первые» биоаналитические системы



Александр Кабанель

*Клеопатра испытывает яды на
приговоренных заключенных*

Развитие биоаналитических методов

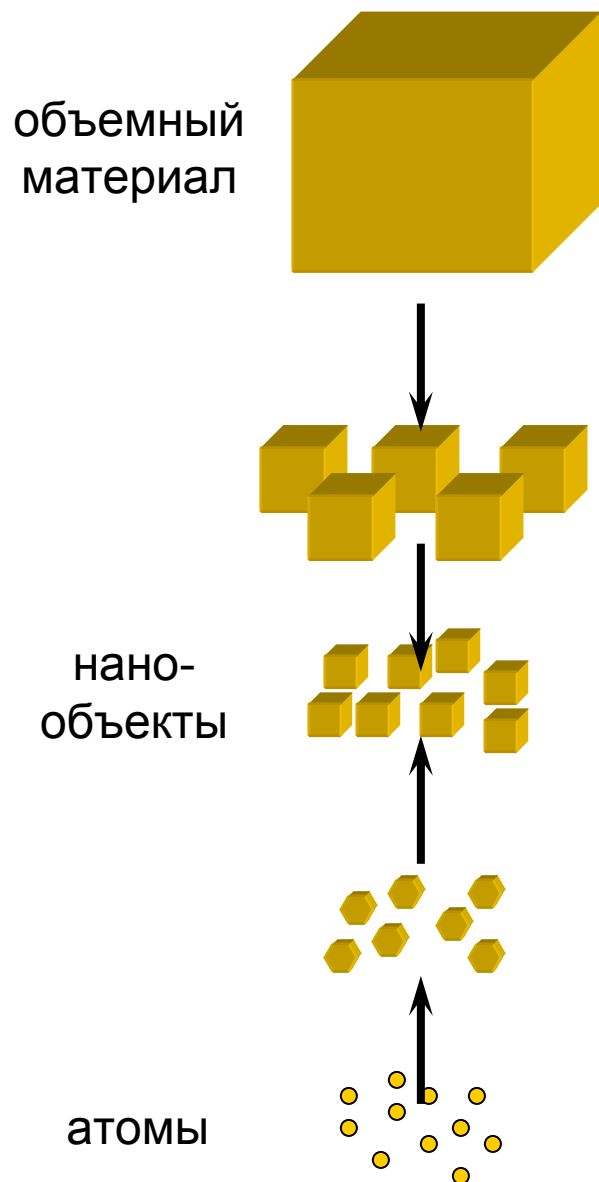


конец 19 века

конец 20 века

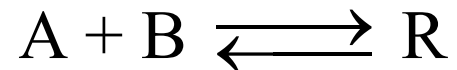
Лабораторные прототипы
2006-2009 года

Молекулярное узнавание



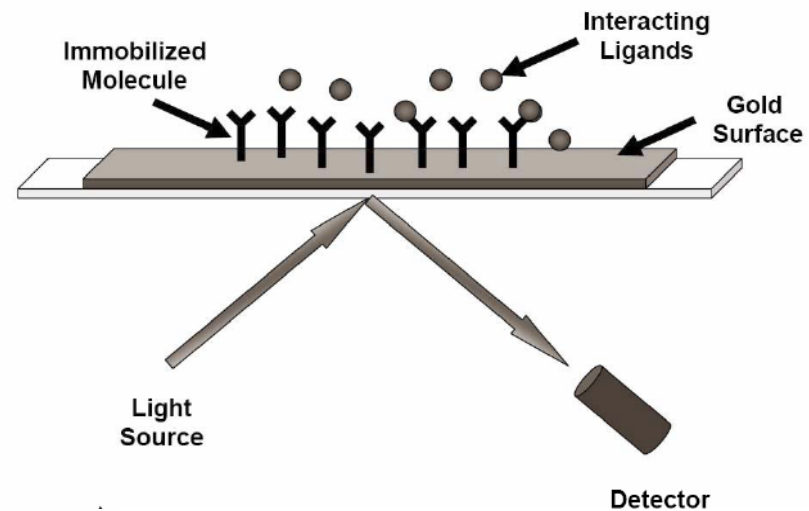
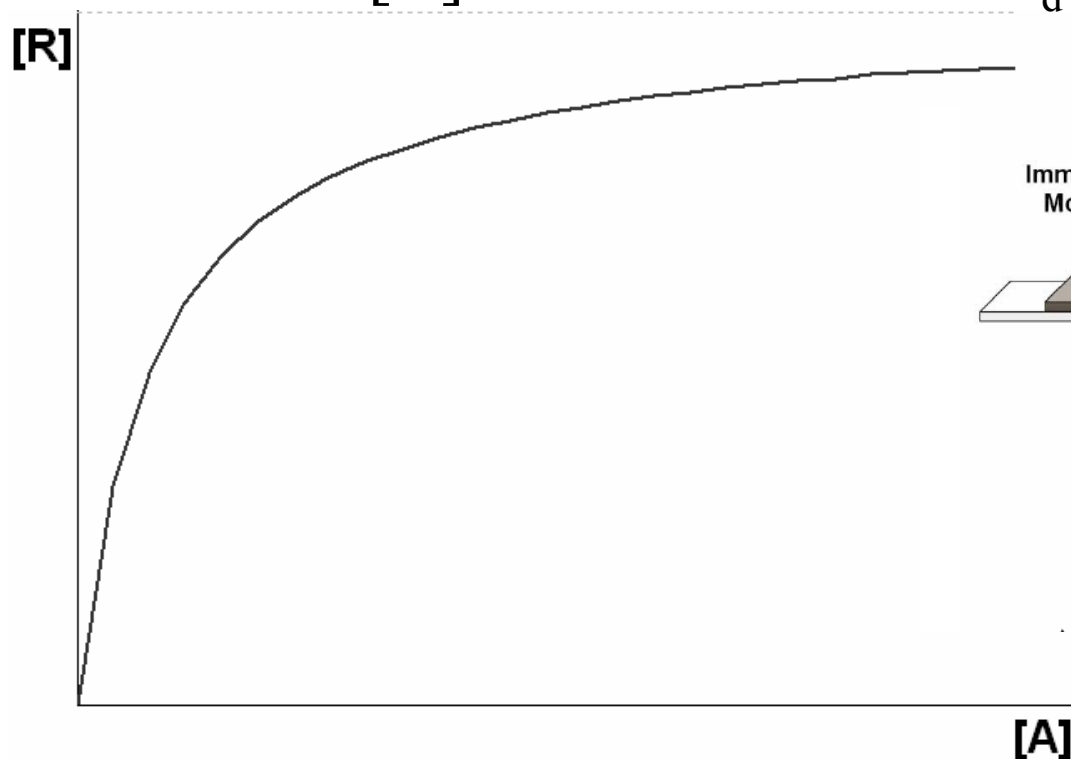
- «Молекулярное узнавание» описывает способность молекул взаимодействовать друг с другом с высокой аффинностью и специфичностью.
- Это один из краеугольных камней описания процессов самосборки.

Аффинность молекулярного узнавания



$$K_d = \frac{[A][B]}{[R]}$$

$$[R] = \frac{[B]_0 \times [A]}{K_d + [A]} \quad \text{при } [B] \ll [A]$$





Аффинность молекулярного узнавания

- Специфическим связыванием считают тогда, когда значение K_d – ниже 1 мкМ.
- Антиген-антитело - K_d – 10^{-9} – 10^{-12} М.
- Лиганд-рецептор - K_d – 10^{-6} – 10^{-10} М
- Фермент-ингибитор - K_d – 10^{-6} – 10^{-15} М

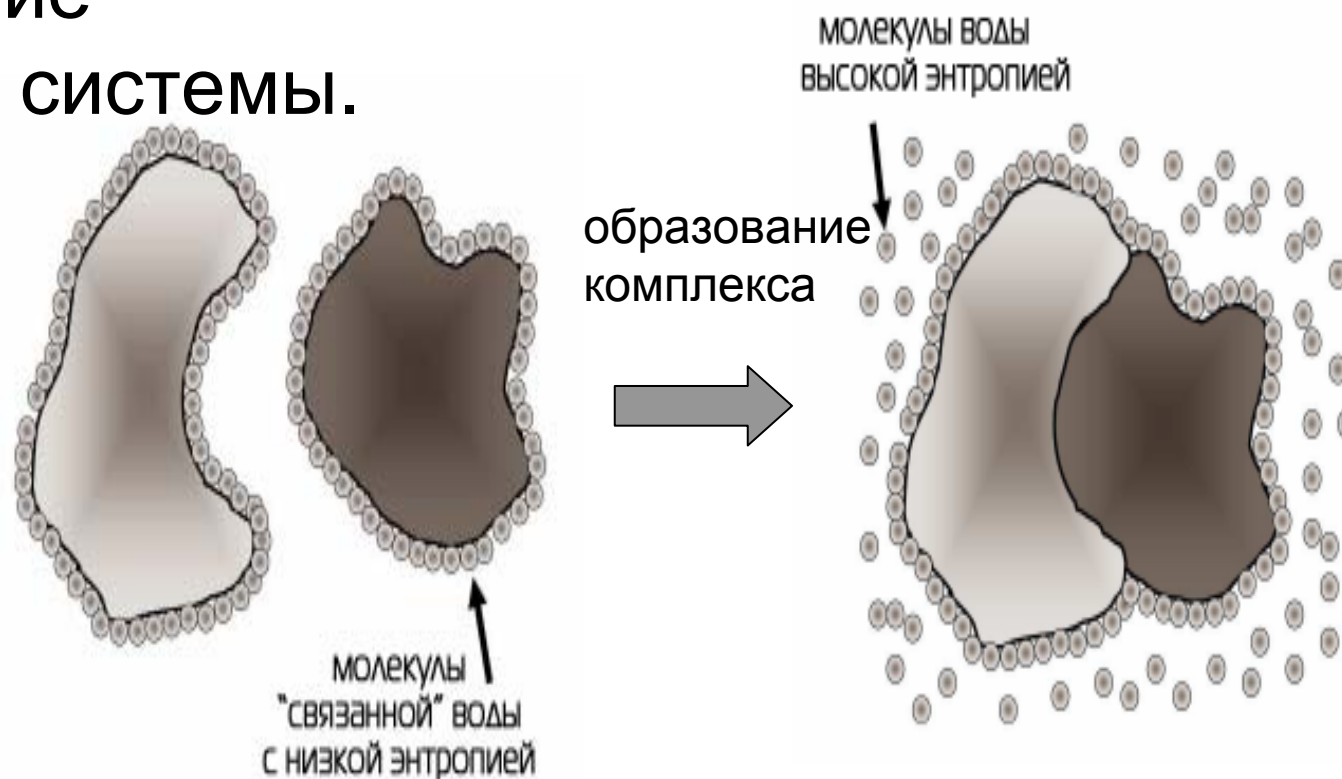
Термодинамика



молекулярного узнавания

- Чаще всего движущей силой является увеличение энтропии системы.

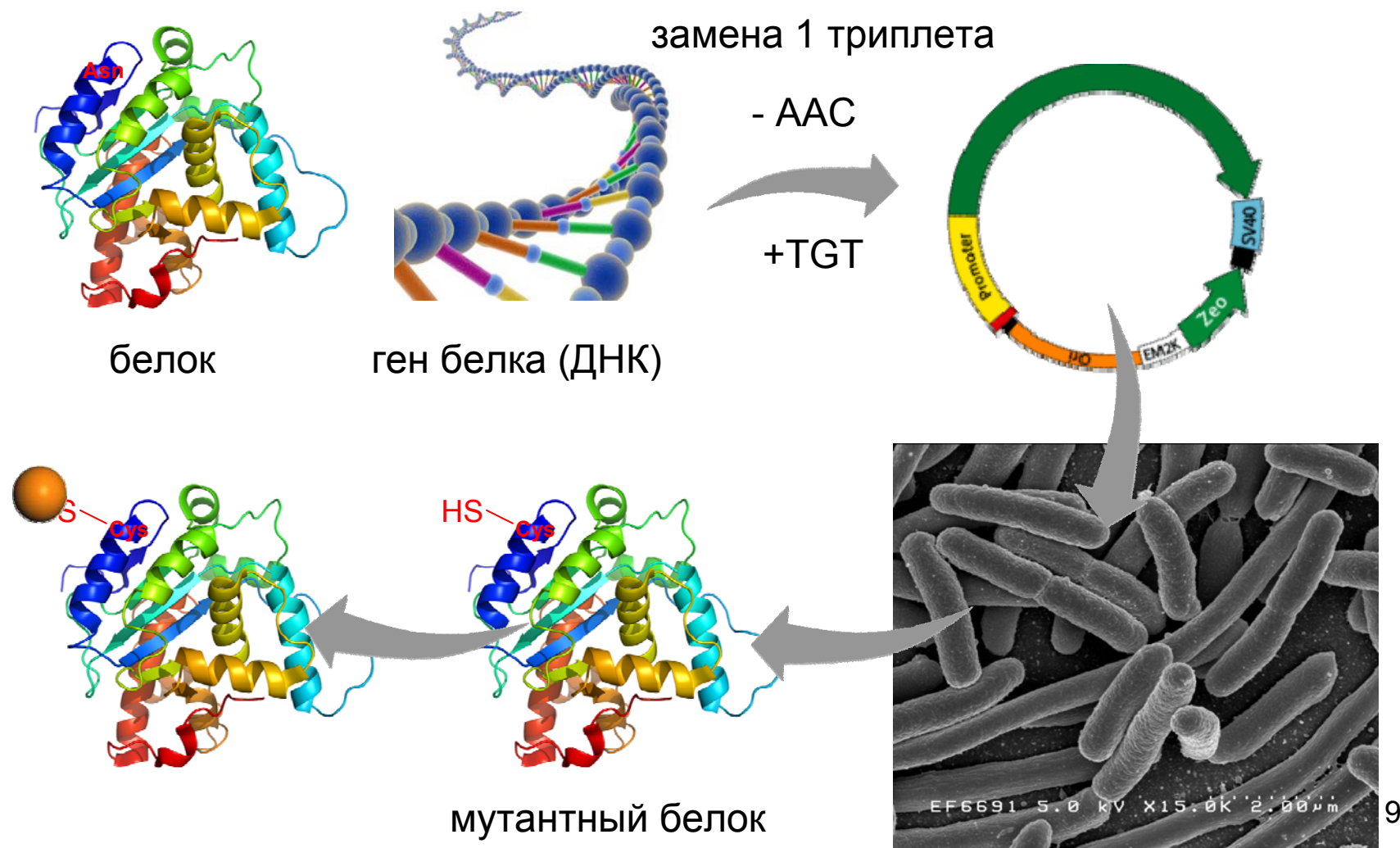
$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$



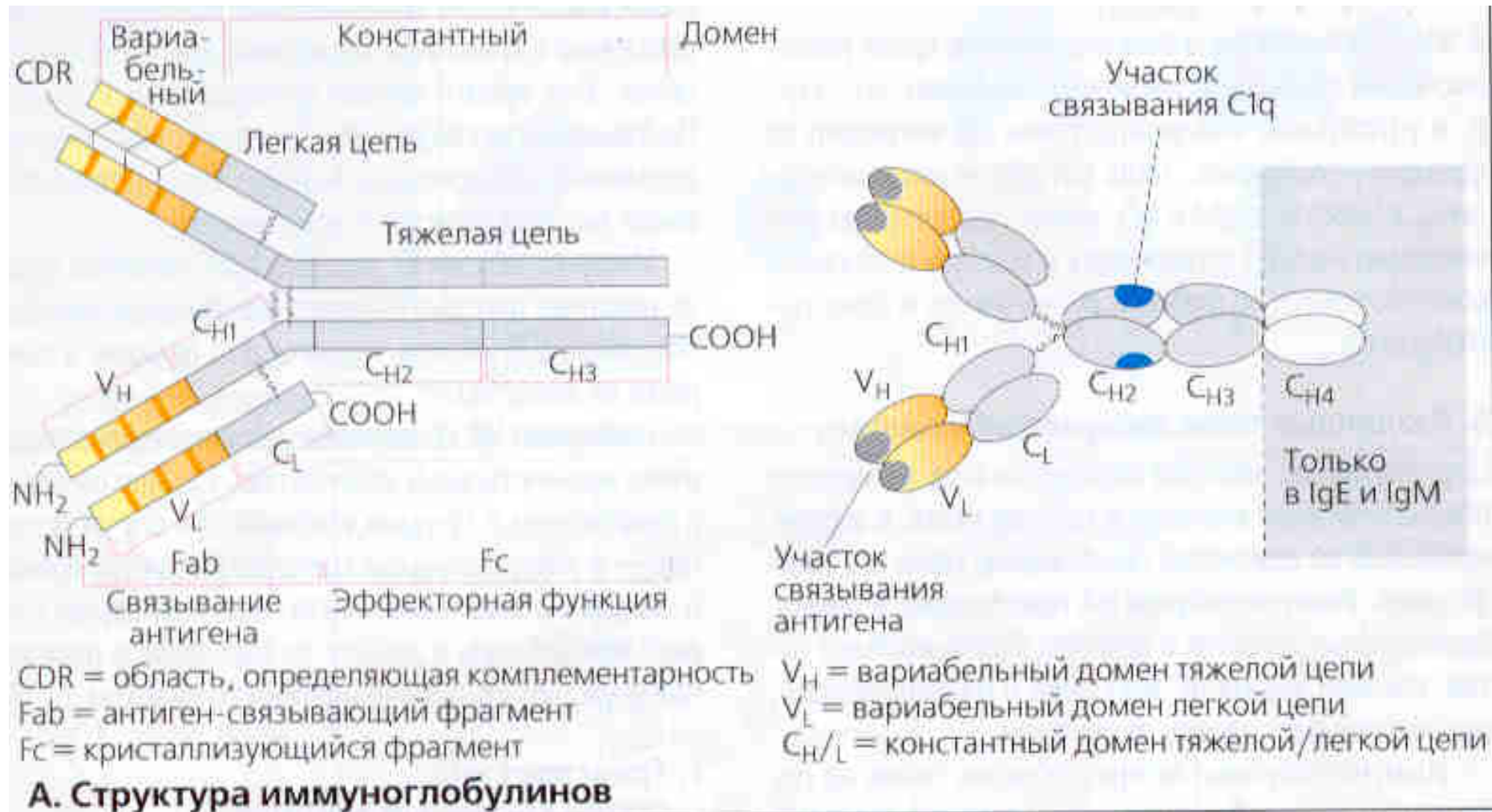
Аффинность белковых структур МОЖНО ИЗМЕНЯТЬ



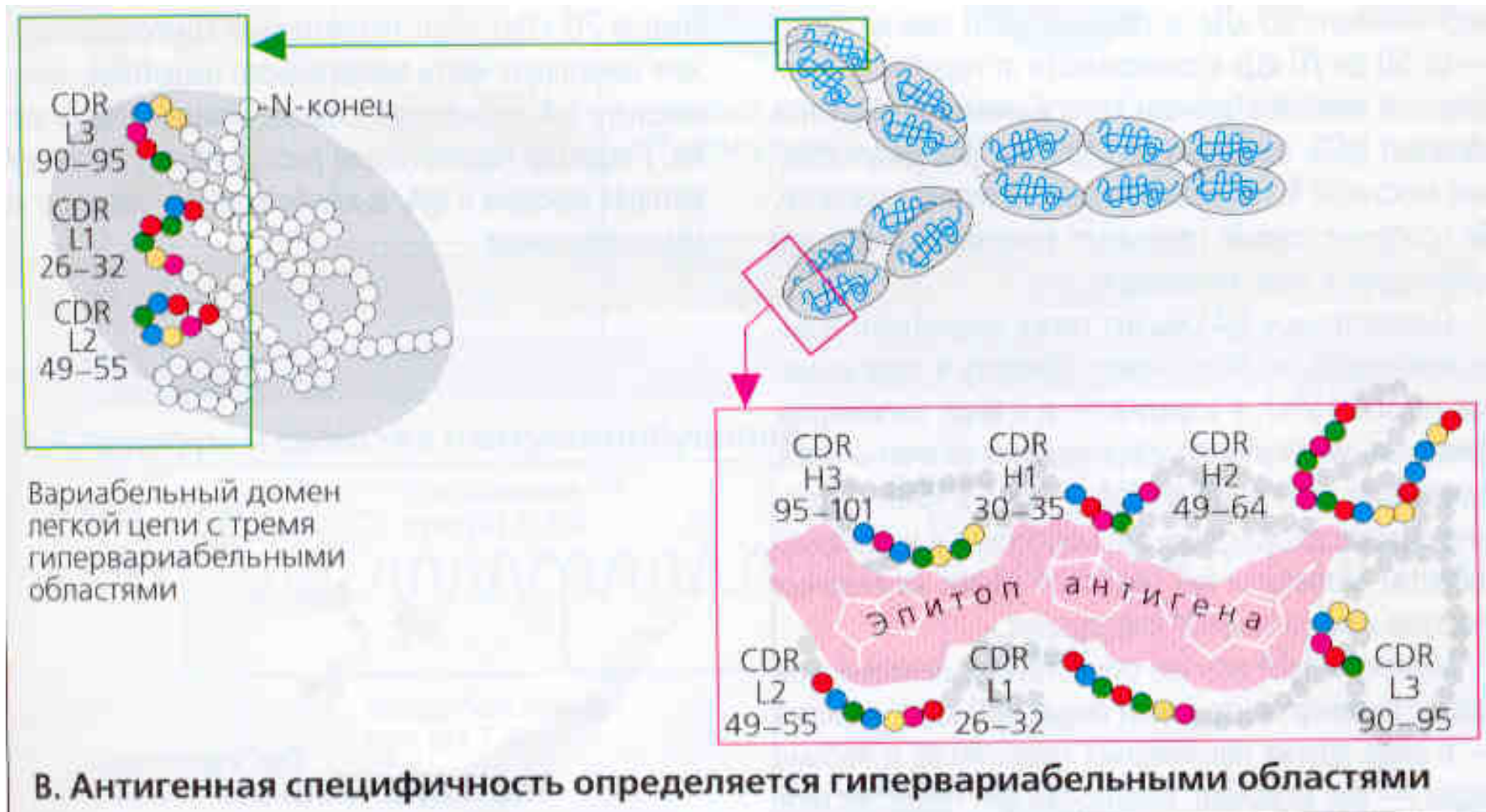
- Эволюция оптимизирует свойства белков под нужды организма
- Приемы генной инженерии для получения белков с заданными свойствами



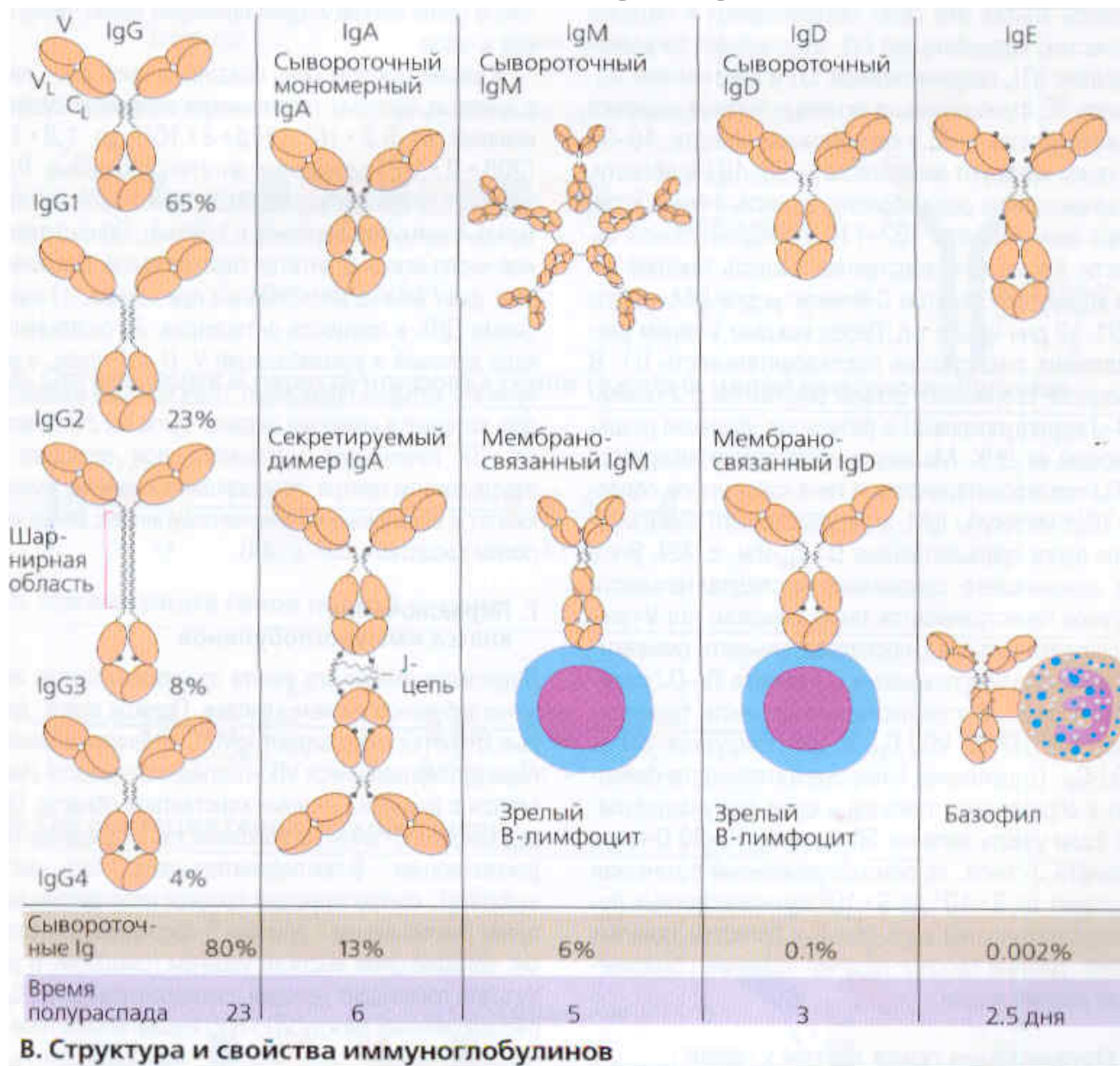
Антитела



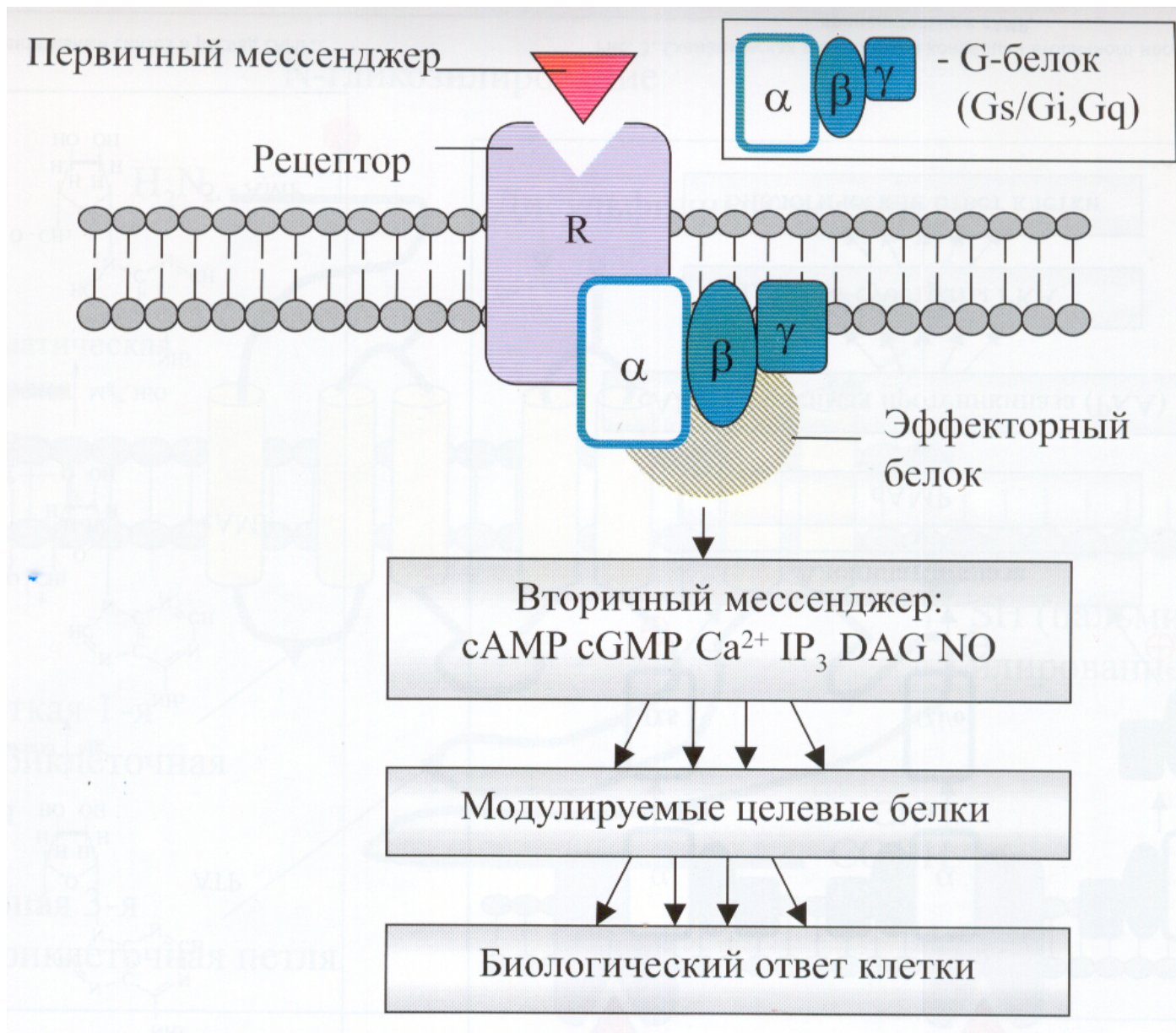
Антитела



Антитела



Рецепторы

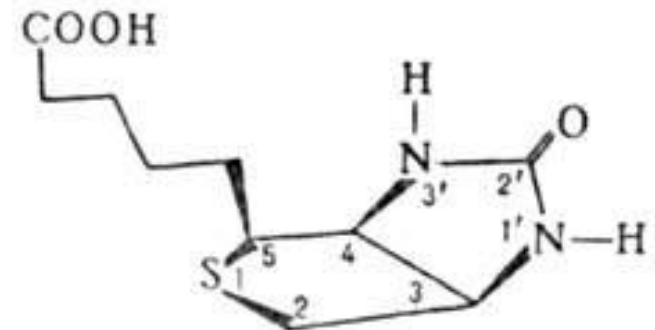


Аффинность молекулярного узнавания.

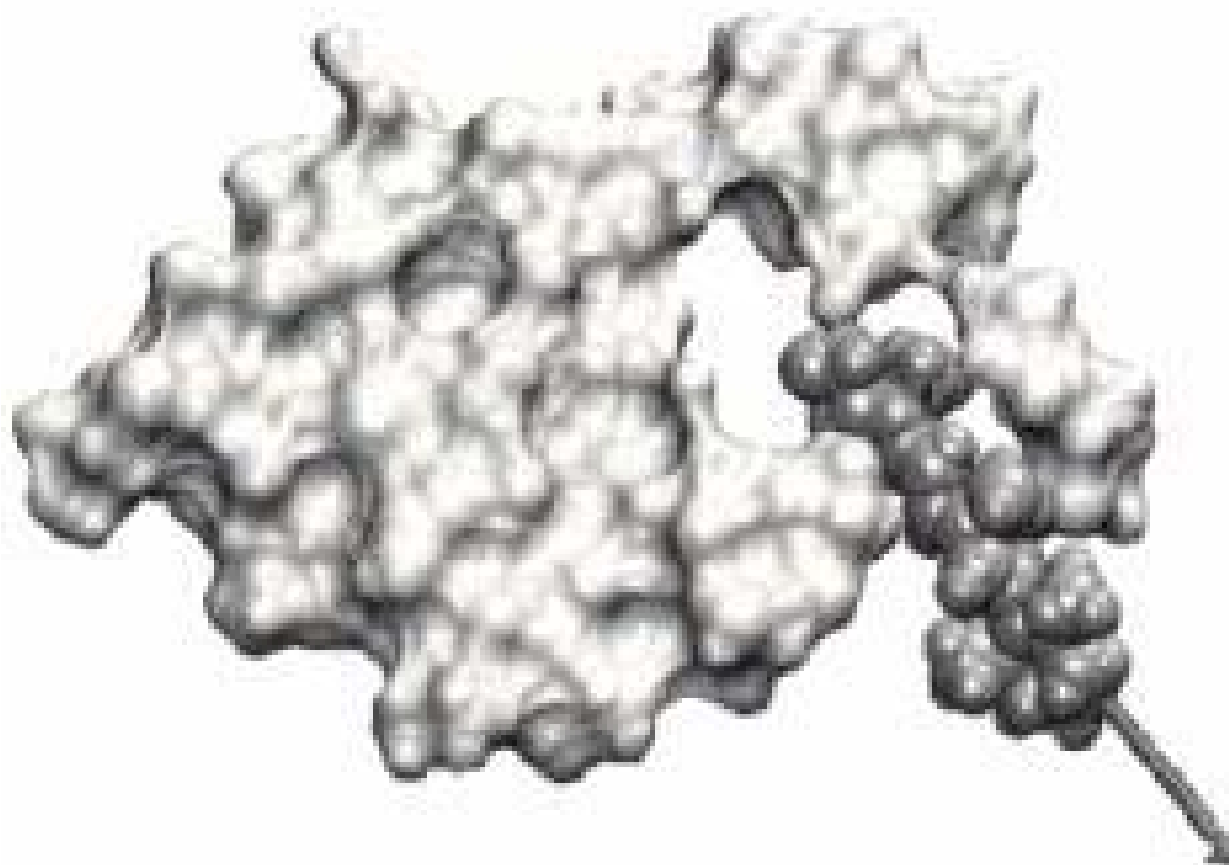


Авидин-биотин.

- **Авидин** - гликопротеид, содержащийся в яичном белке птиц и рептилий.
- **Биотин** (витамин Н, витамин В7, кофермент R) — водорастворимый витамин группы В. Молекула биотина состоит из тетрагидроимидазольного и тетрагидротиофенового кольца, в тетрагидротиофеновом кольце один из атомов водорода замещен на валериановую кислоту. Биотин является кофактором в метаболизме жирных кислот, лейцина и в процессе глюконеогенеза.



Авидин-биотин.

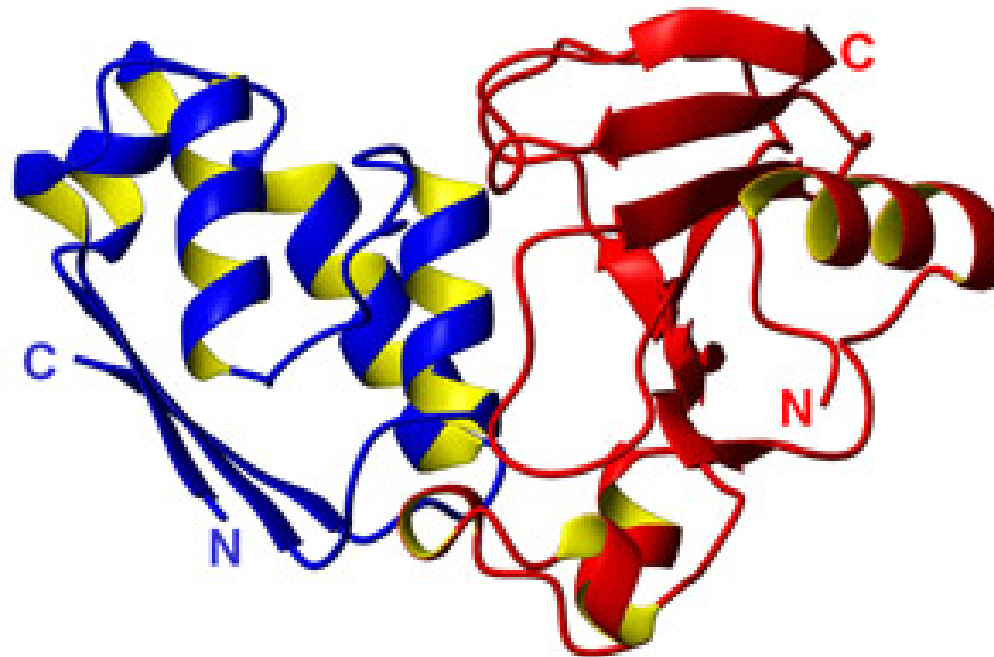


Экстракция лиганда биотина активным центром авидина

Фермент-ингибитор. Модуль барназа-барстар



- Барназа – бактериальная рибонуклеаза (12 КДа, рI - 9,3)
- Барстар – природный белковый ингибитор барназы (10,4 КДа, рI 4,6)



Универсальный модуль:
барназа - барстар

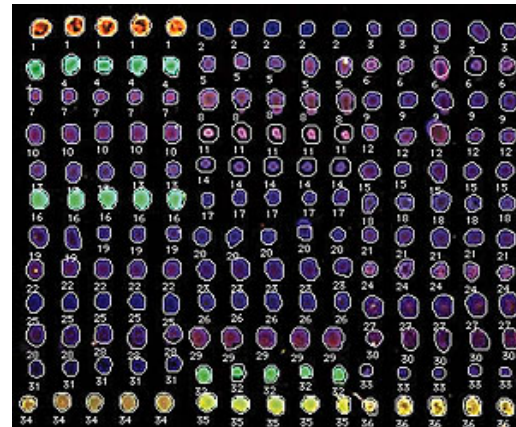
Развитие биоаналитических методов



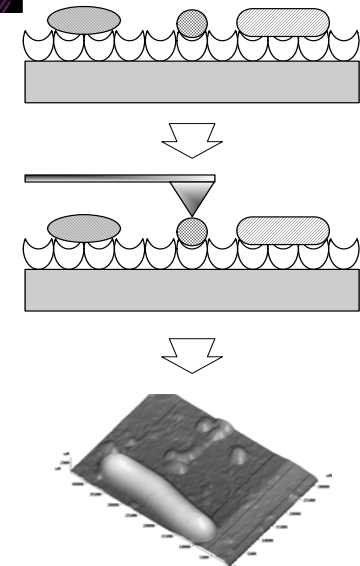
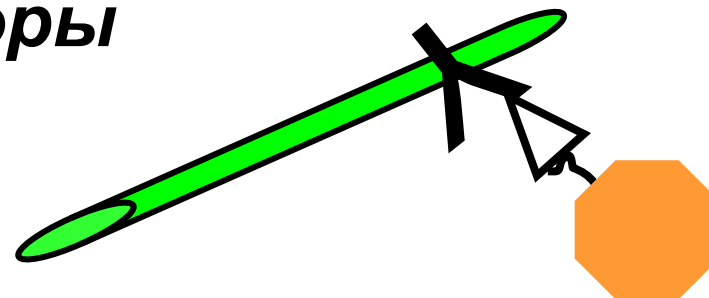
- **Биосенсоры**



- **Биочипы**



- **Наносенсоры**

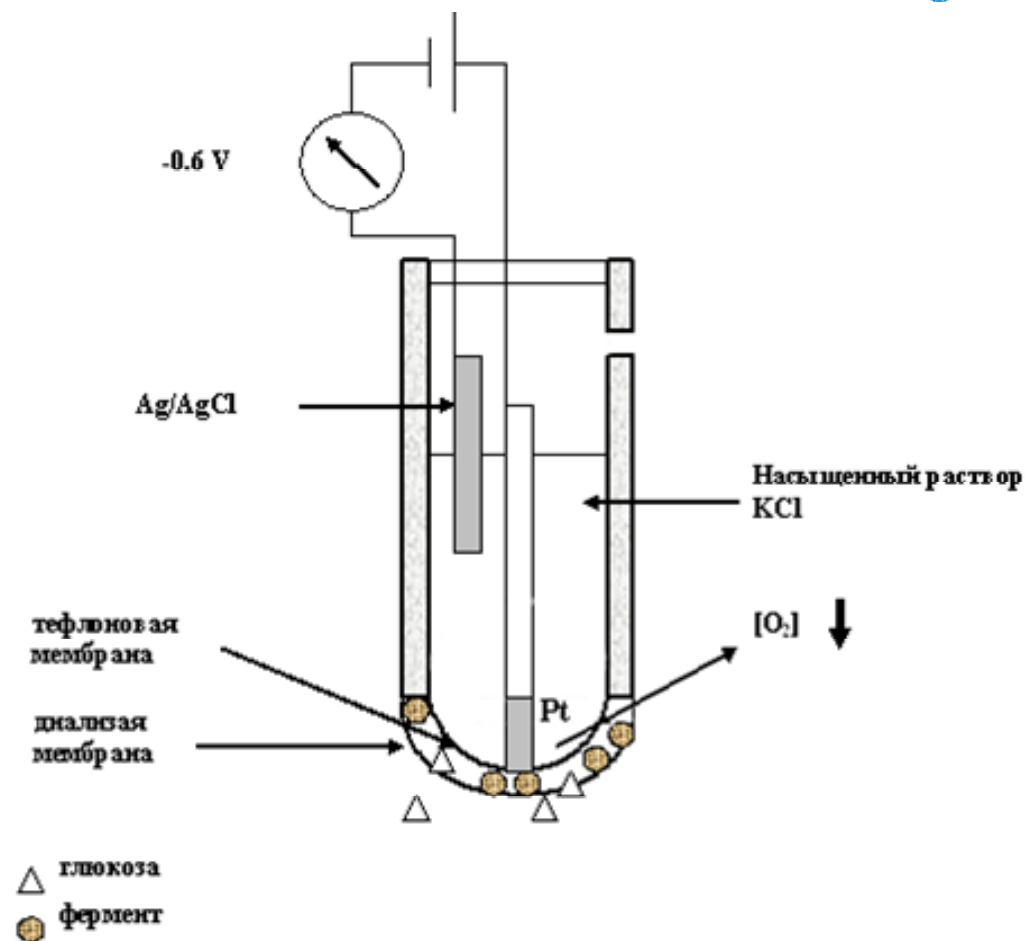
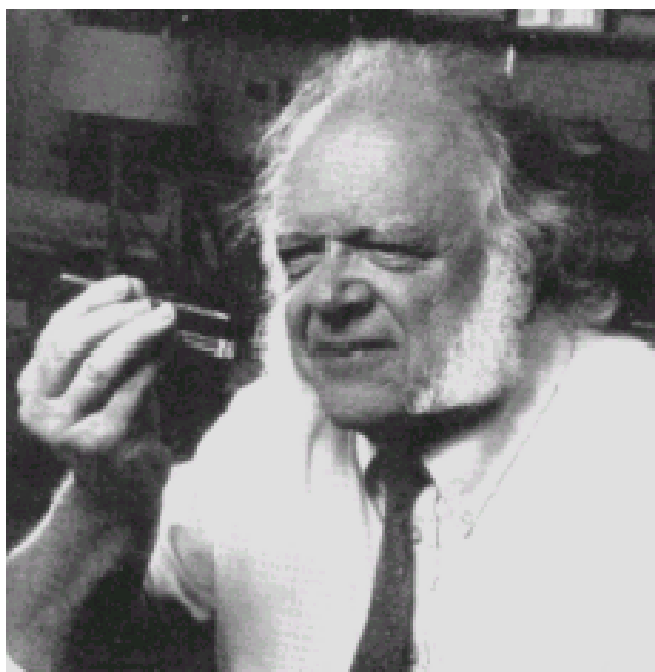


Биосенсоры



**Сенсоры, включающие в себя
биологический материал**

Первый биосенсор – ферментный электрод (Лиланд С. Кларк-младший, 1962 г.)



Ферментативный слой стал неотъемлемой частью датчика



Биосенсоры

- В 1969 году George Guilbault в JACS опубликовал описание потенциометрического электрода для определения *мочевины* с использованием *иммобилизованной уреазы* и рН-чувствительного сенсора.
- В 1973 году Mindt и Racine (Hoffmann la Roche) – первый биосенсор для определения *лактата*.
- В 1977 году Karl Camman ввёл термин **биосенсор**.
- В 1997 году IUPAC признал этот термин.

IURAC - биосенсоры



- Биосенсор это автономное комплексное устройство, которое способно обеспечить получение специфической количественной или полу-количественной аналитической информации с использованием биологического распознающего элемента (биохимического рецептора), находящегося в непосредственном пространственном контакте с детектирующим элементом.

IURAS - биосенсоры



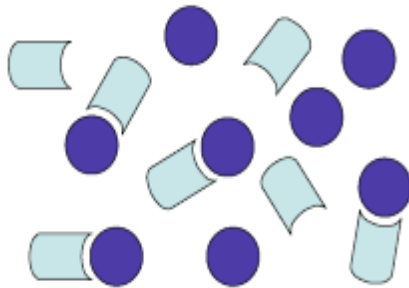
- Учитывая возможность повторной калибровки биосенсоров, мы рекомендуем чёткое разделение понятий биосенсор и биоаналитические системы, требующих для получения аналитической информации дополнительных технологических операций, таких как добавление реагентов или разделение компонентов.

Биоанализ и биосенсоры



Биоанализ

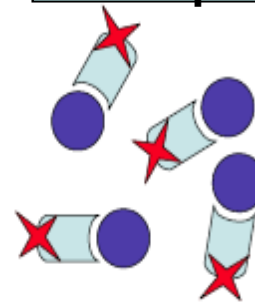
Взаимодействие



Разделение

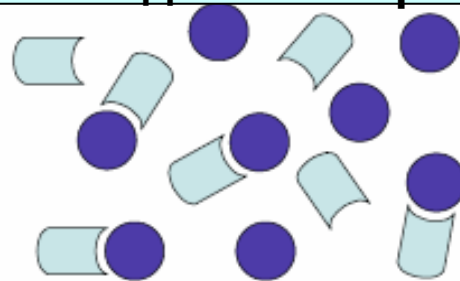


Регистрация



Биосенсор

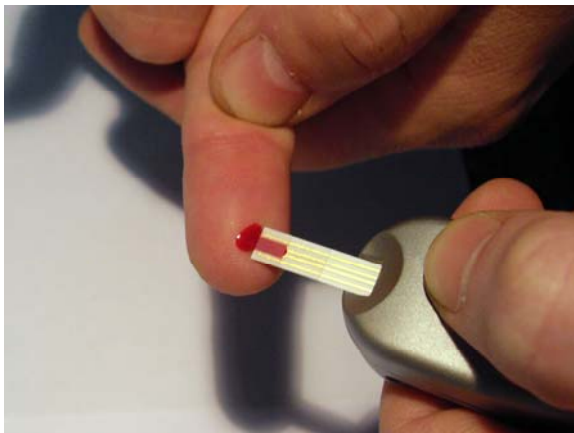
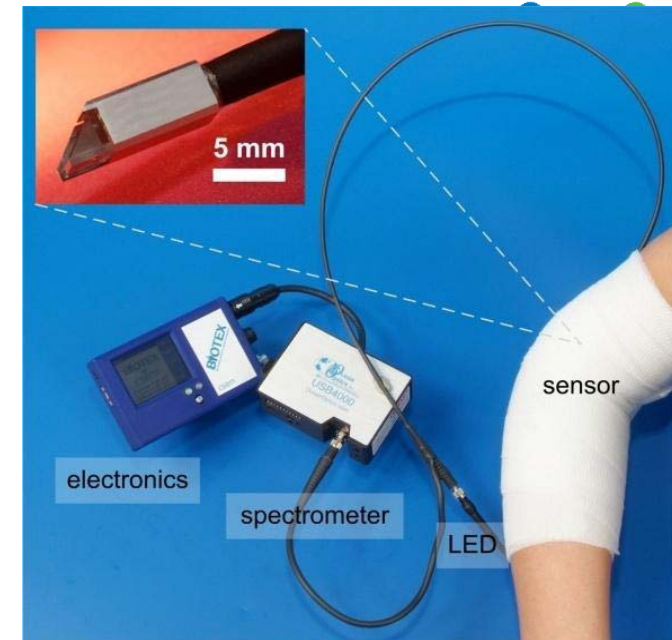
Взаимодействие=регистрация



ИУРАС - биосенсоры



- Устройства, которые должны быть заменены после одного измерения или не способные обеспечить быструю и воспроизводимую регенерацию, называются биосенсорами одноразового использования.



The concept of Diversity Textile Electrode Measurement (DTEM)



Function

Data transmission

ECG Read-out amplifier
for textile sensors

body temperature
sensors

SpO₂ sensors

Respiration sensors below

Power Consumption

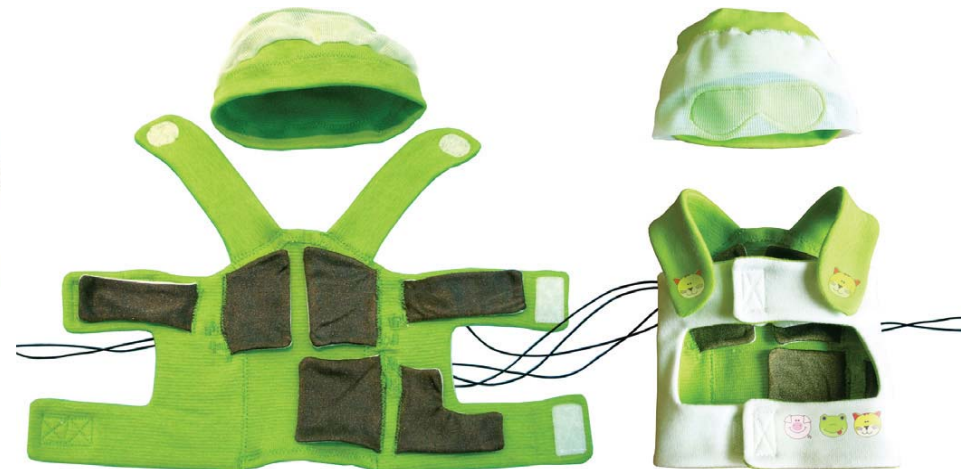
about 50 mW

about 1 mW

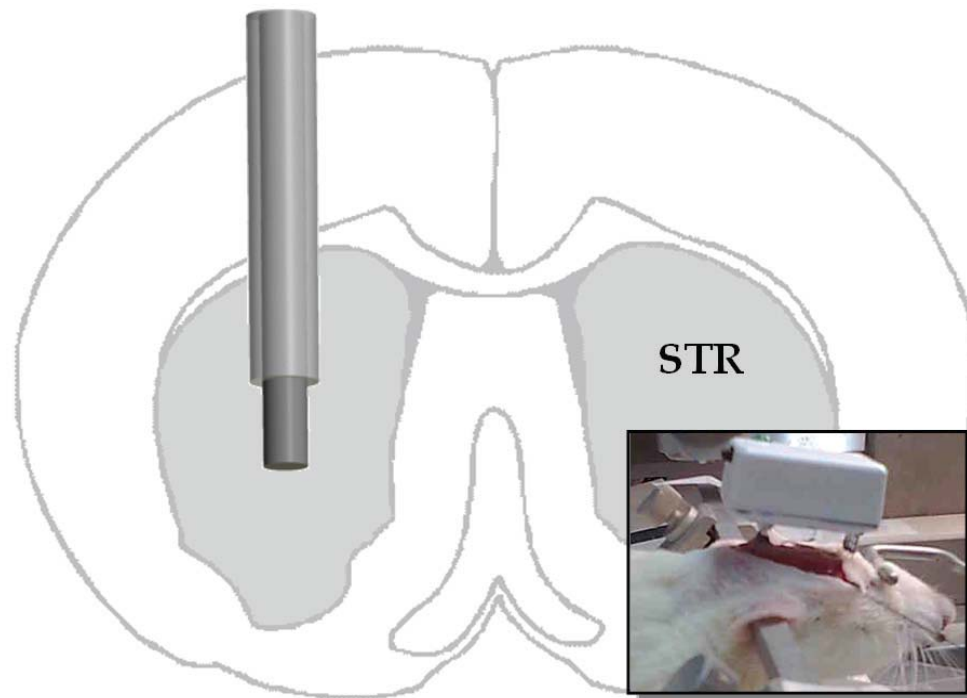
50 mW

45 mW

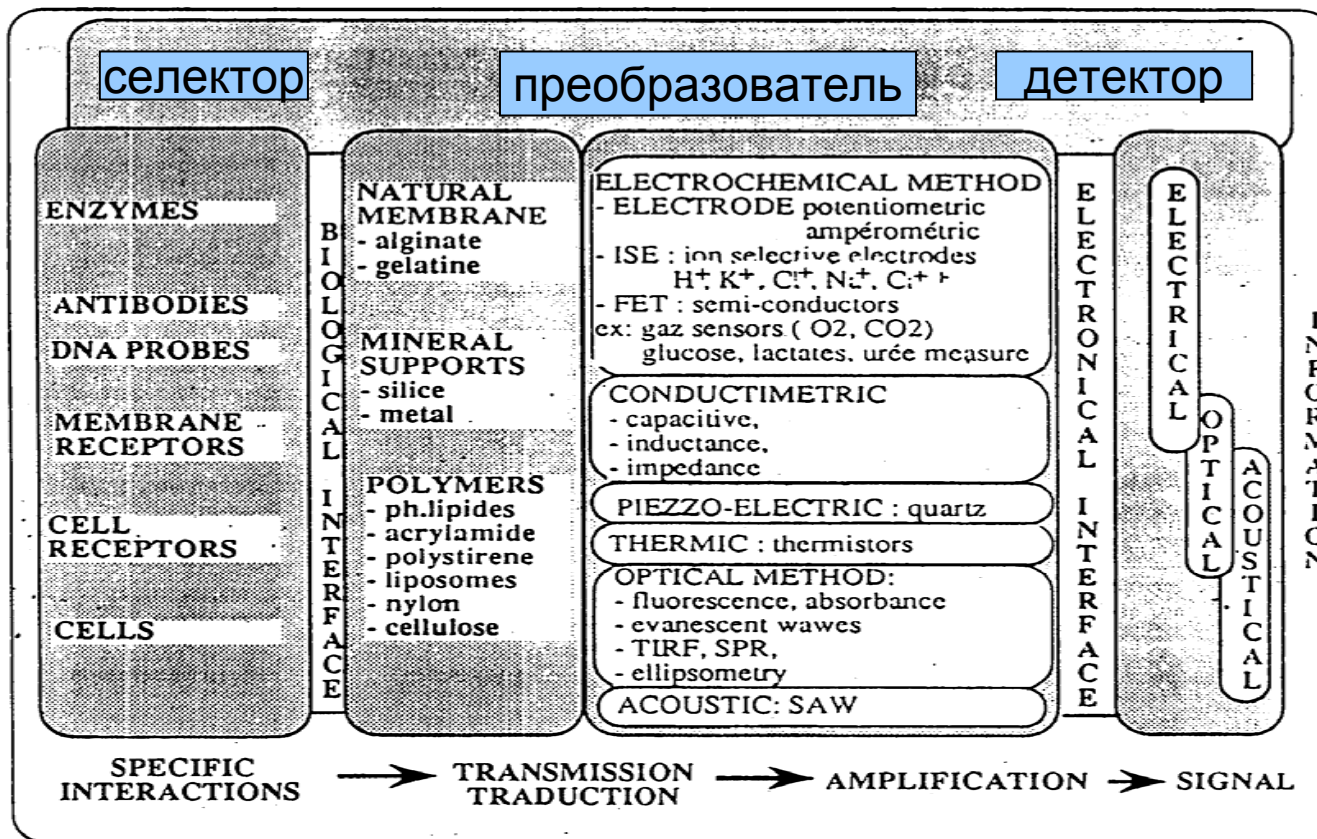
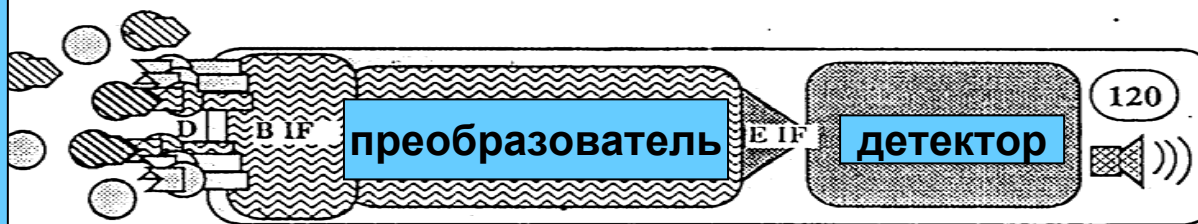
1mW



Кислородный, АК, глюкозный и лактатный сенсоры имплантированные в правый стриатум крысы



А
Н
А
Л
И
Т

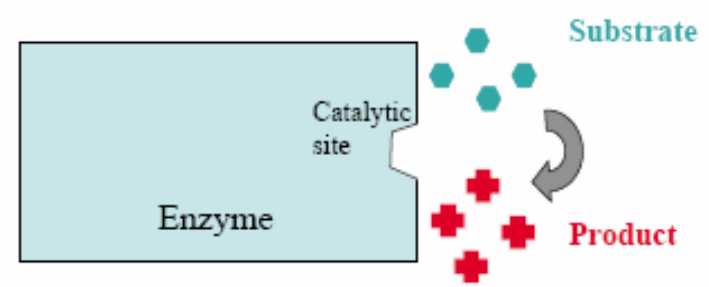


**Биосенсоры:
основные компоненты и функции**

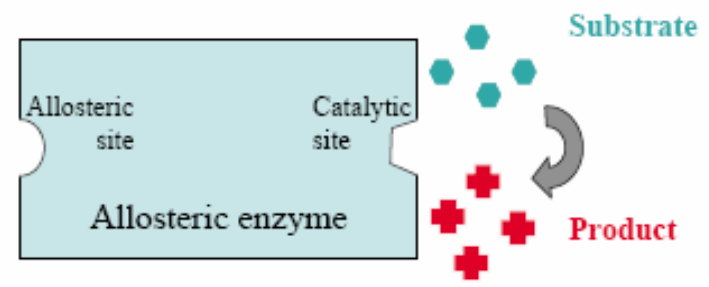


Биосенсоры нано и микромолярные концентрации

Каталитические
сенсоры

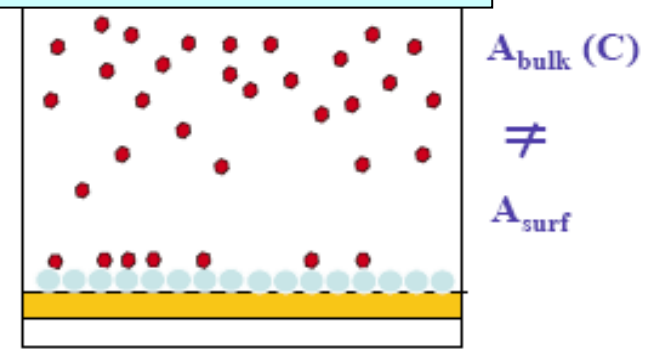


эффектор

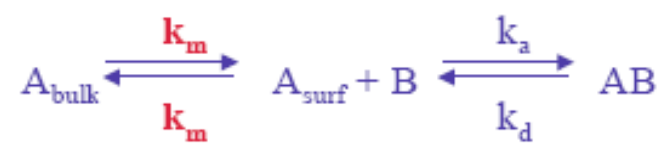


Аффинные сенсоры

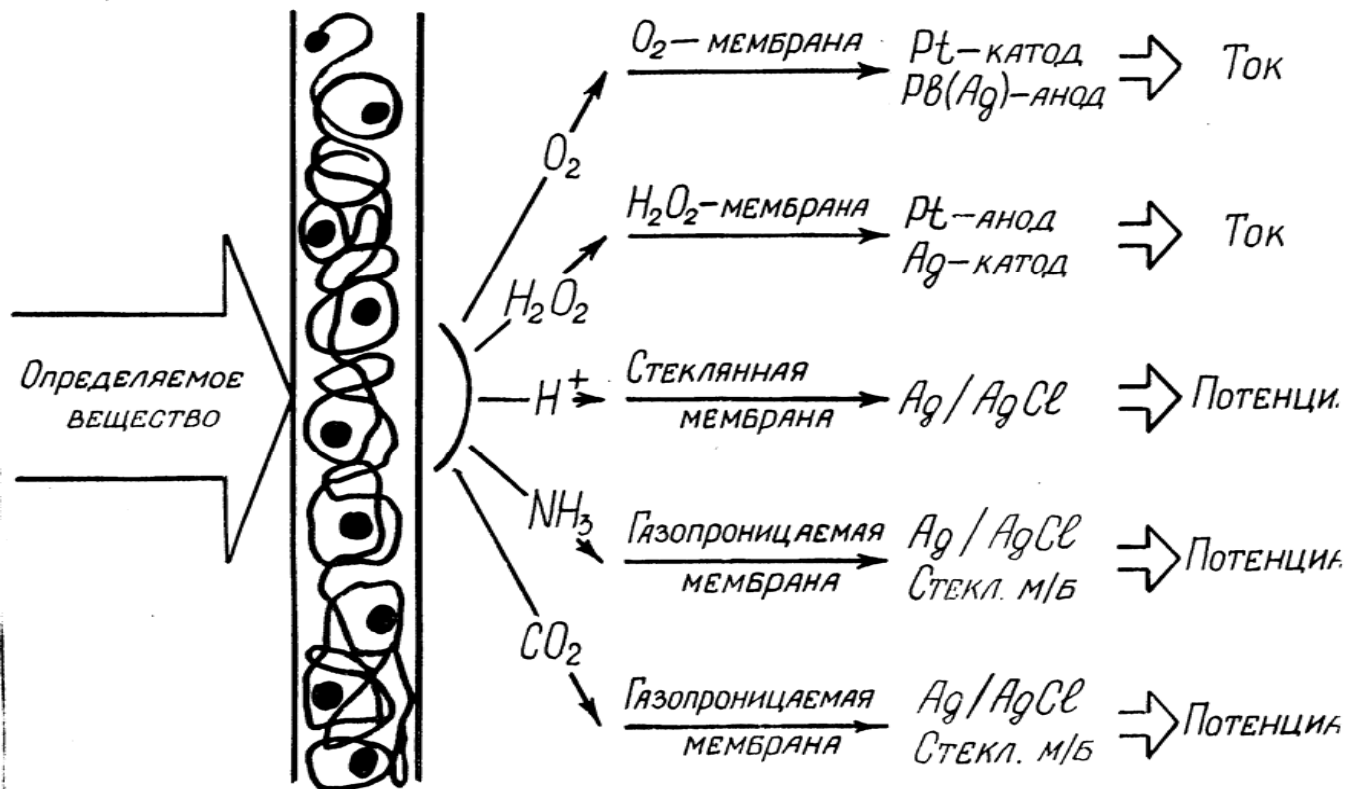
Массоперенос



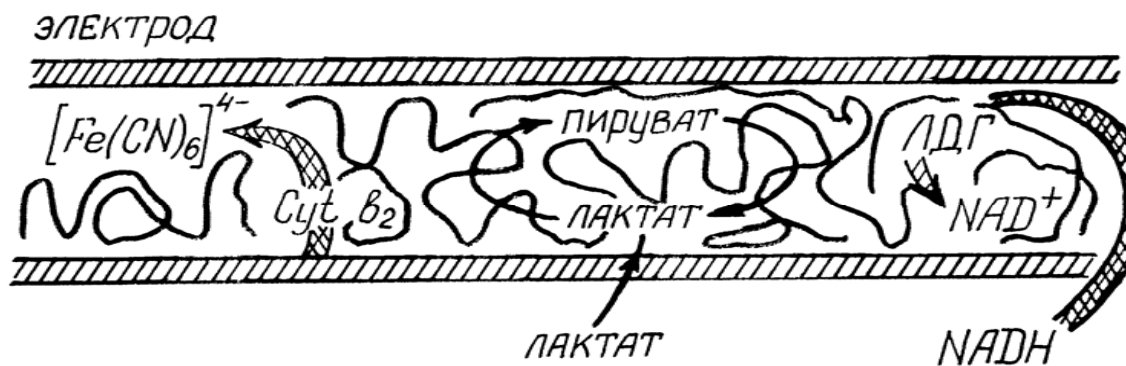
Количественный
анализ



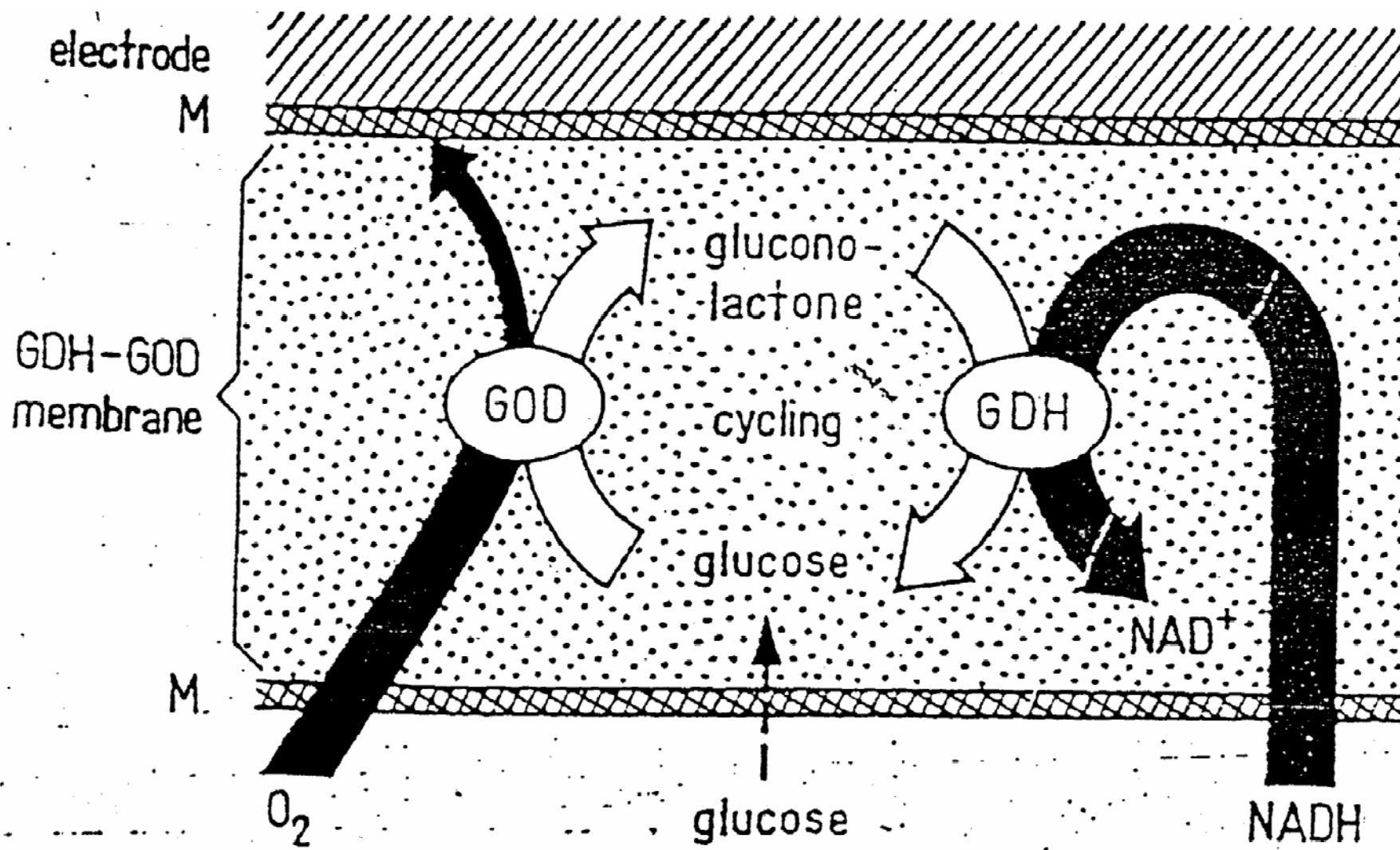
ФЕРМЕНТНЫЕ СЕНСОРЫ



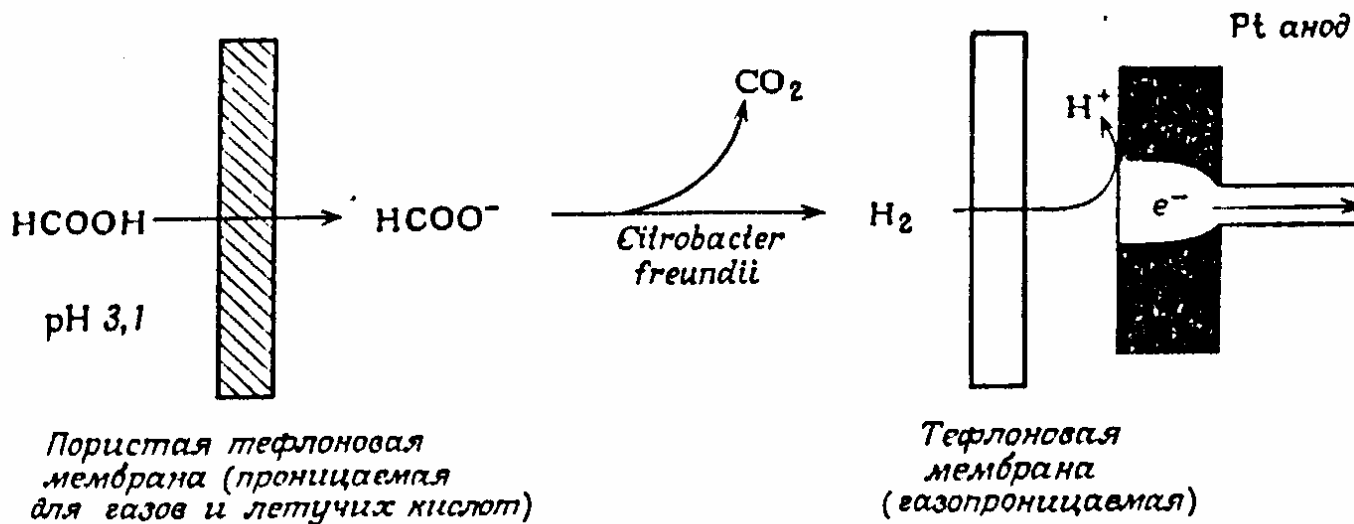
СУБСТРАТНОЕ УСИЛЕНИЕ



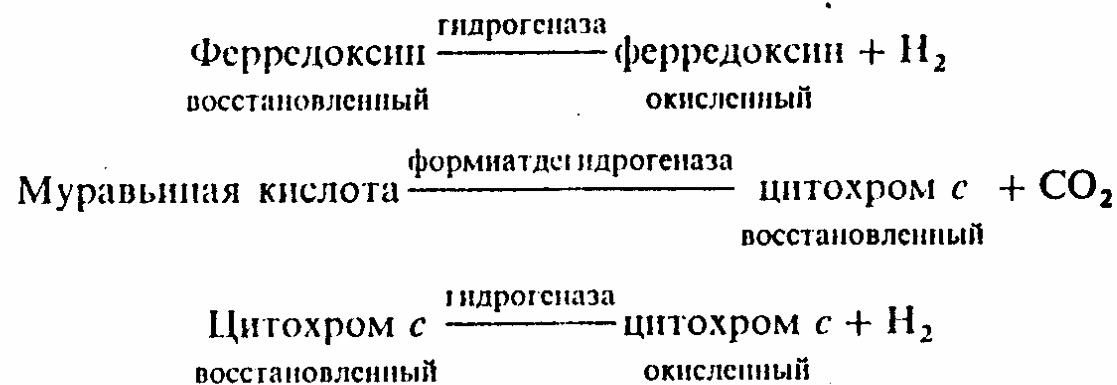
Субстратное усиление



Микробные биосенсоры



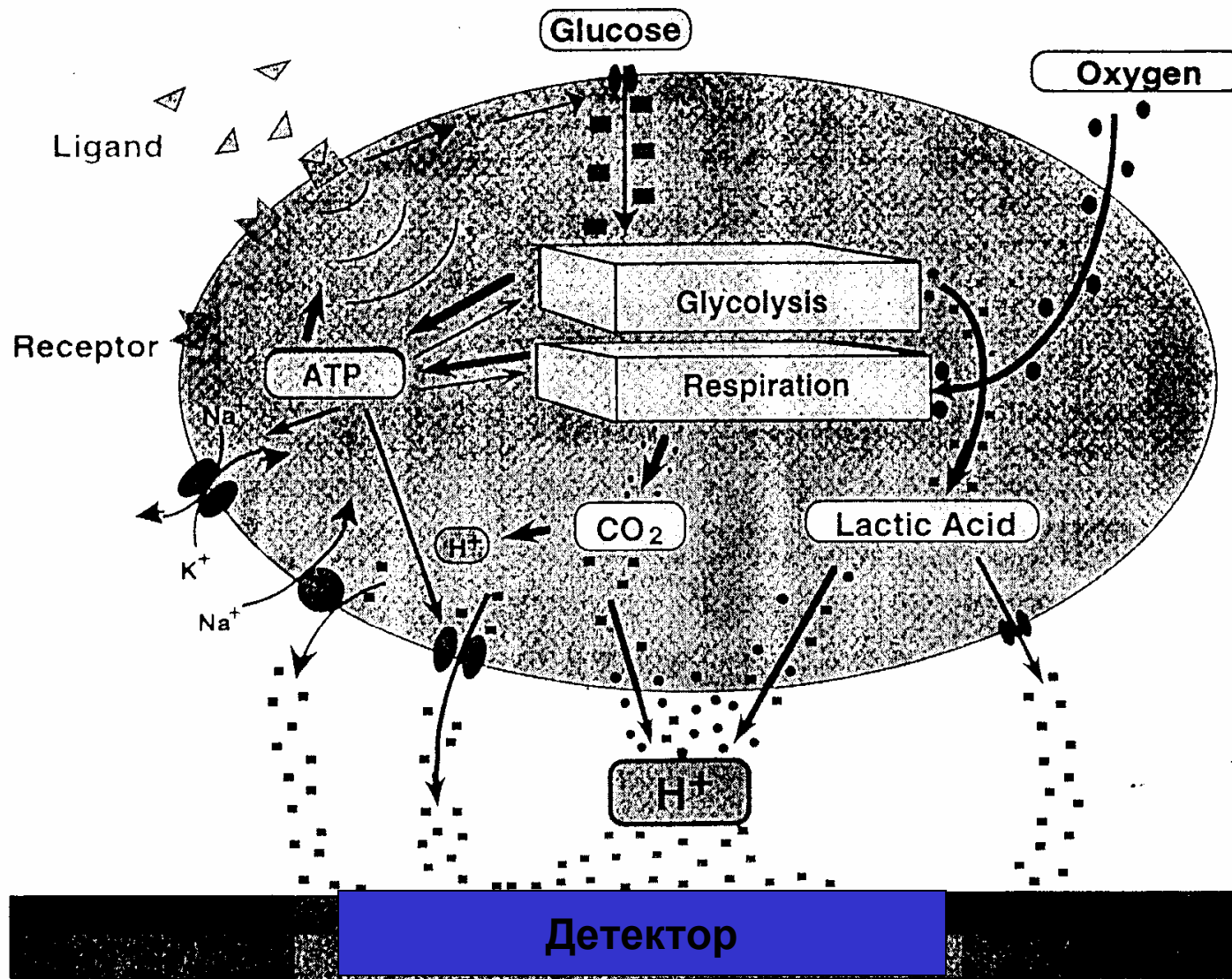
Принцип действия микробного биосенсора



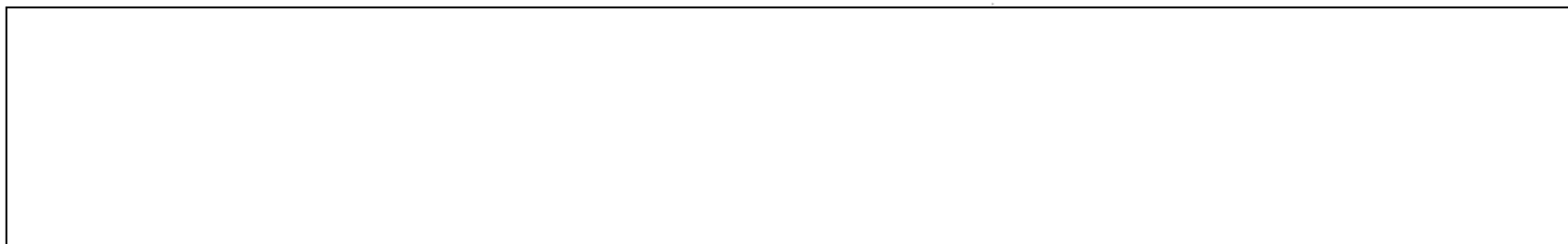
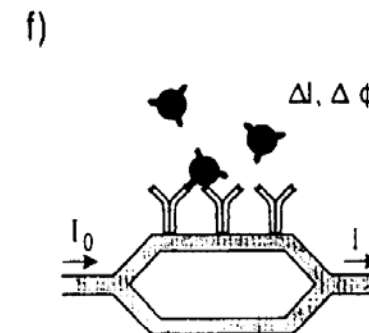
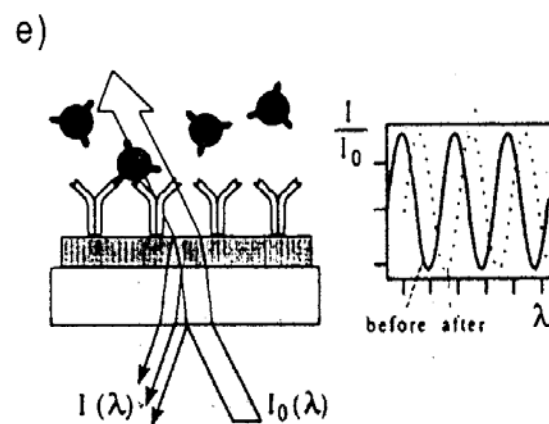
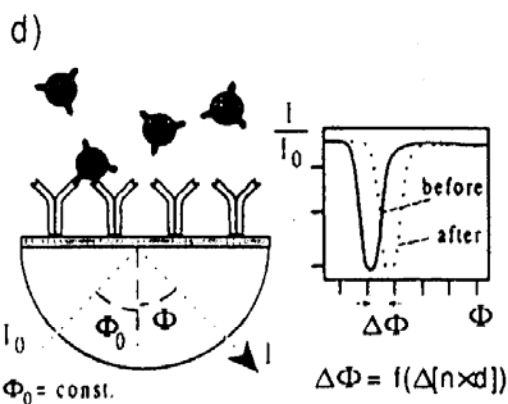
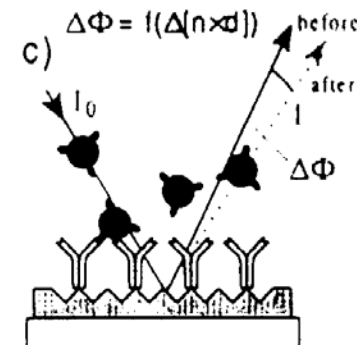
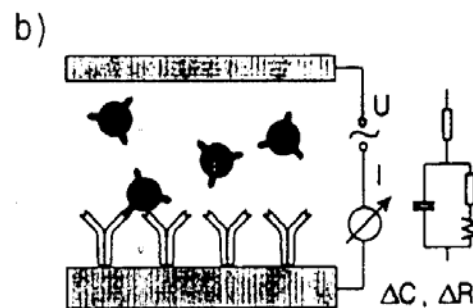
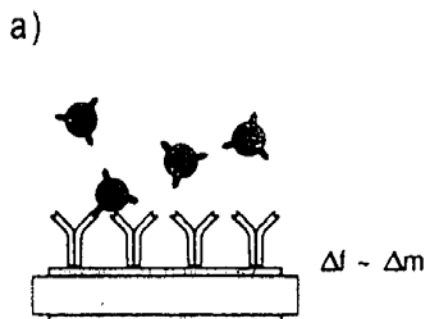
Клеточные биосенсоры



Рецепторы



Основные типы иммуносенсоров



Тканевые биосенсоры



- **Субстрат**

Глутамин

Аденозин

Аденозин-5-монофосфат

Гуанин

Пероксид водорода

Глутамат

Пируват

Мочевина

Фосфат/фторид-ионы

Допамин

Тирозин

Цистеин

Глутамин

- **Биокаталитический материал**

Клетки почки свиньи

Клетки слизистой мыши

Мышца кролика

Печень кролика

Печень быка

Жёлтая тыква

Кукурузное зерно

Мука из бобов

Клубень картофеля

Мякоть банана

Сахарная свёкла

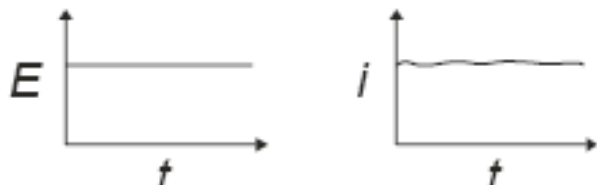
Лист огурца

Митохондрии почки свиньи

Электрохимические методы

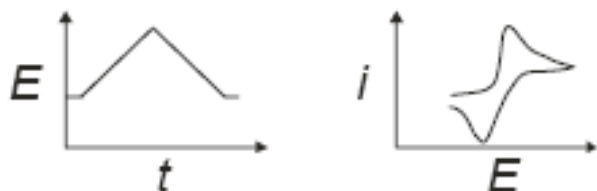


Амперометрия (стац.)



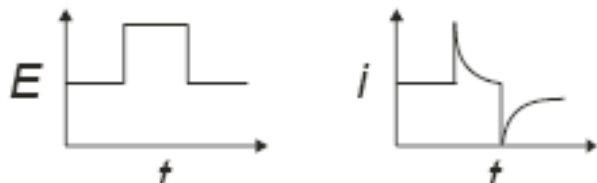
- + разрешение по току
- + разрешение во времени
- селективность
- потенциал приложен постоянно

Быстрая сканирующая вольтамперометрия



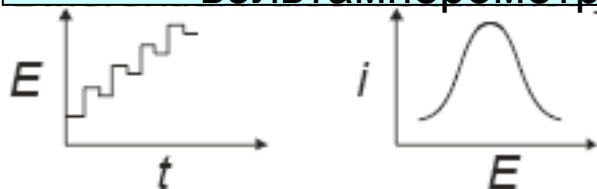
- + селективность
- + разрешение во времени
- + потенциал не приложен постоянно
- разрешение по току
- емкостные токи

Хроноамперометрия



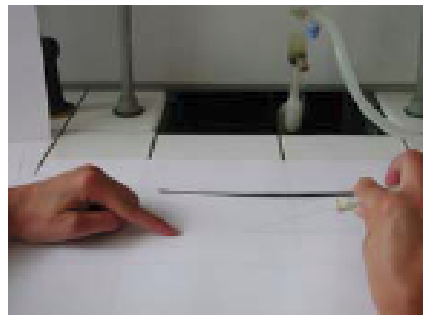
- + разрешение во времени
- + потенциал не приложен постоянно
- Средняя селективность
- разрешение по току
- емкостные токи

Дифференциальная импульсная вольтамперометрия

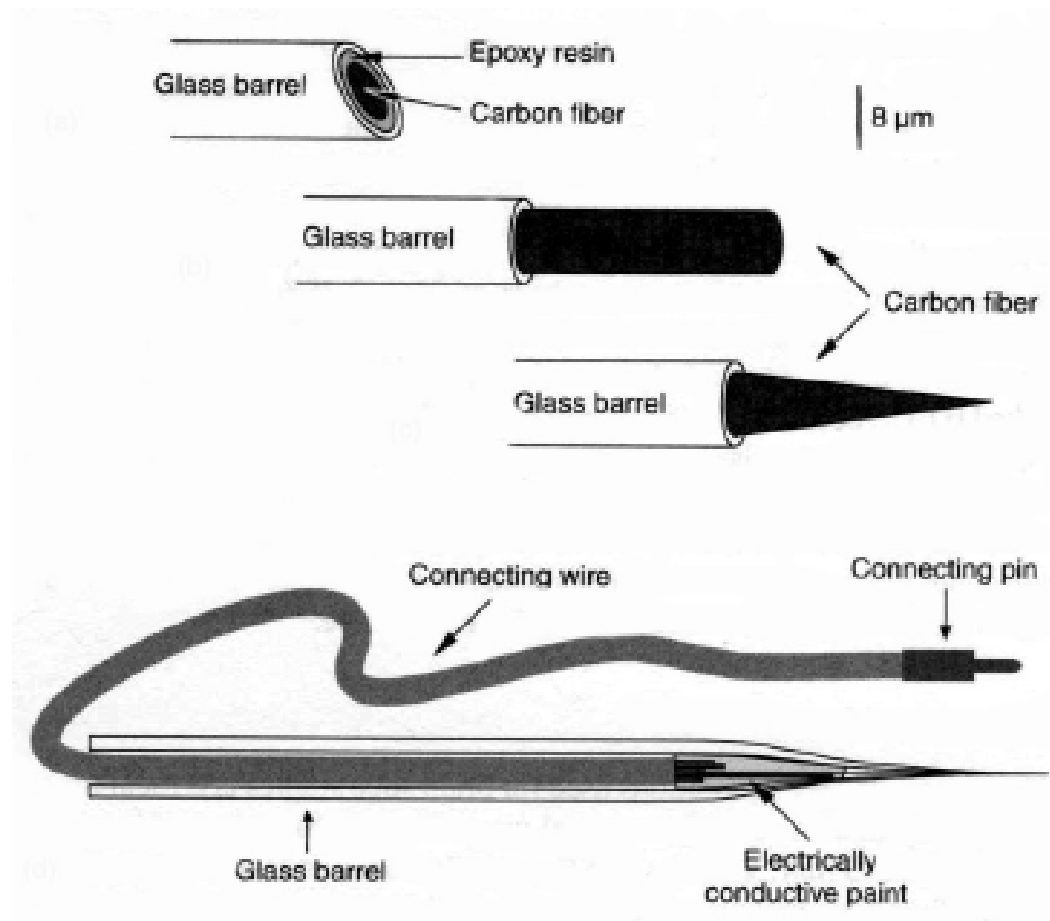


- + селективность
- + разрешение по току
- разрешение во времени
- потенциал приложен постоянно

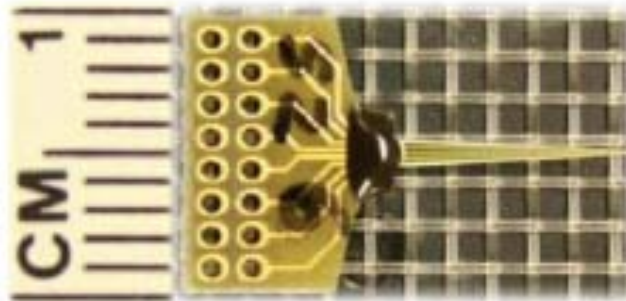
Микроэлектроды из углеродного волокна



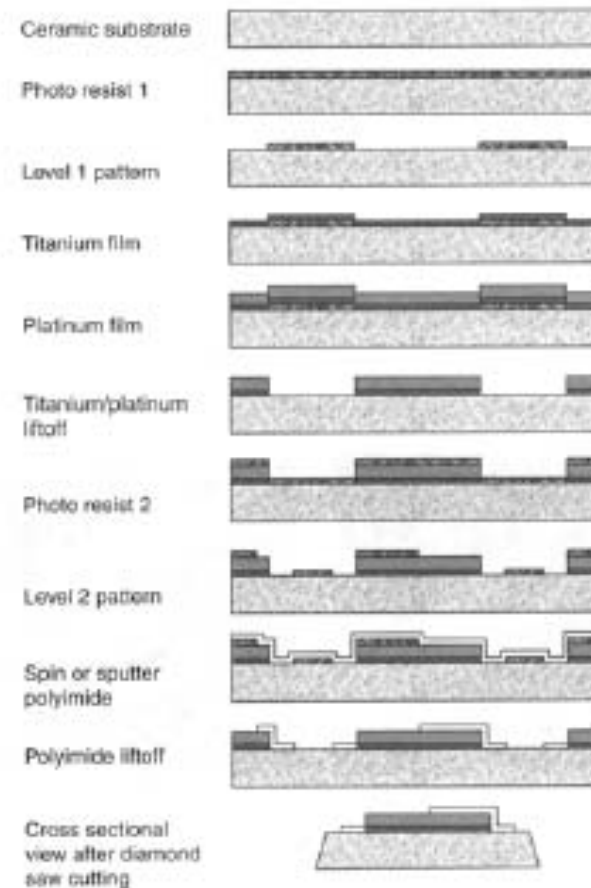
Different shapes and sizes

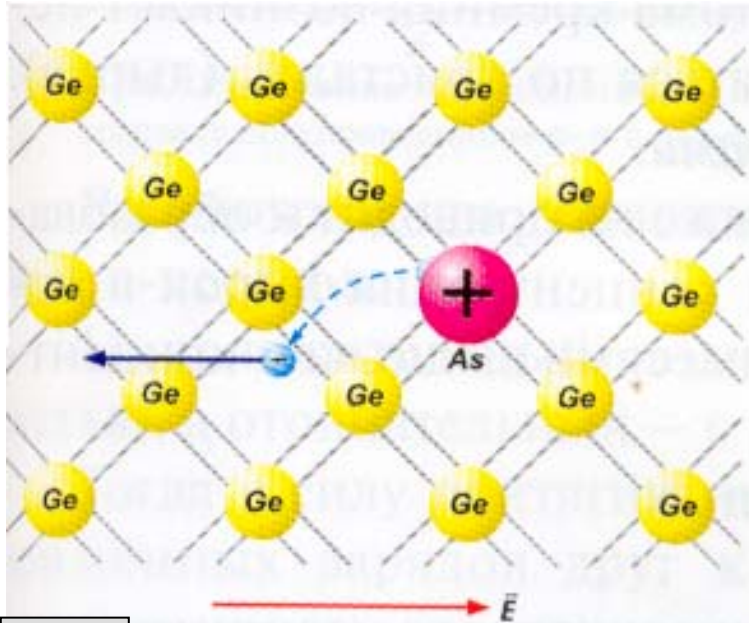


Планарные микроэлектроды на керамической подложке

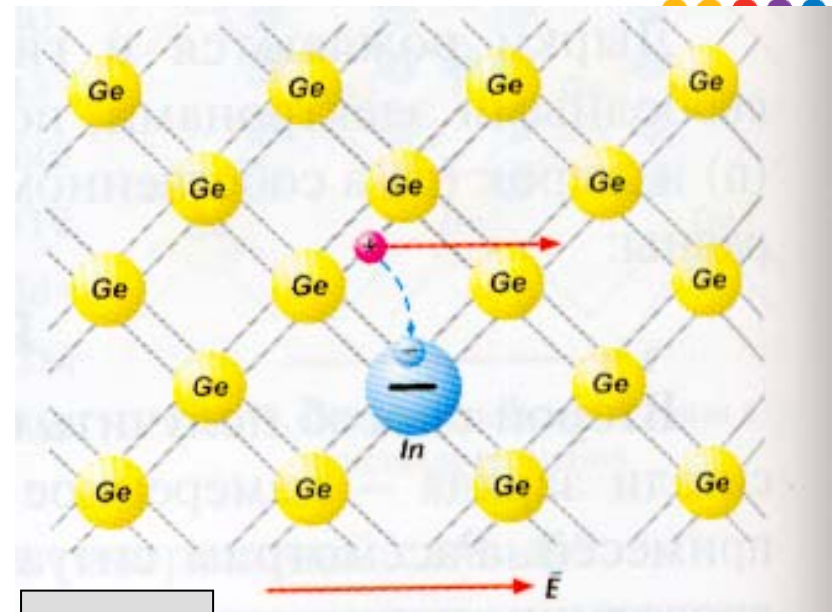


G.A. Gerhardt 's lab:
<http://www.mc.uky.edu/cenmet/>

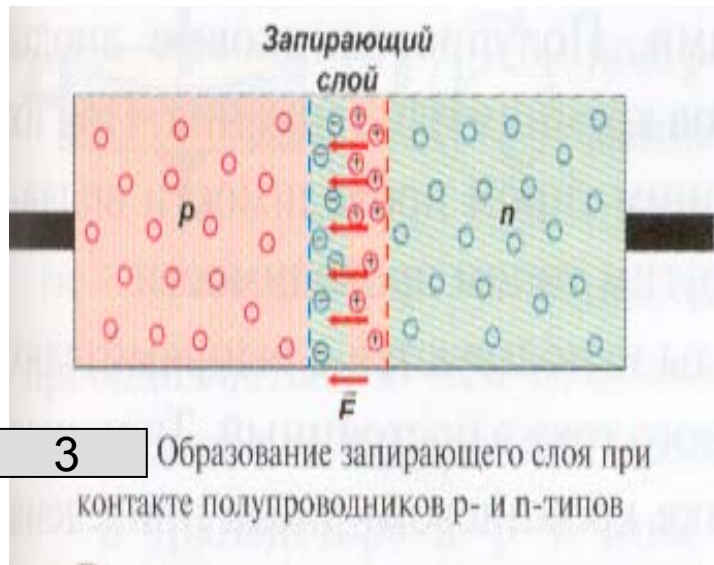




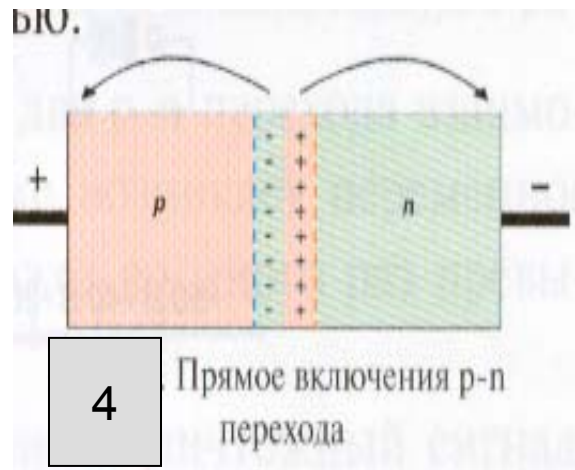
1 Атом мышьяка в решетке германия. Полупроводник n-типа



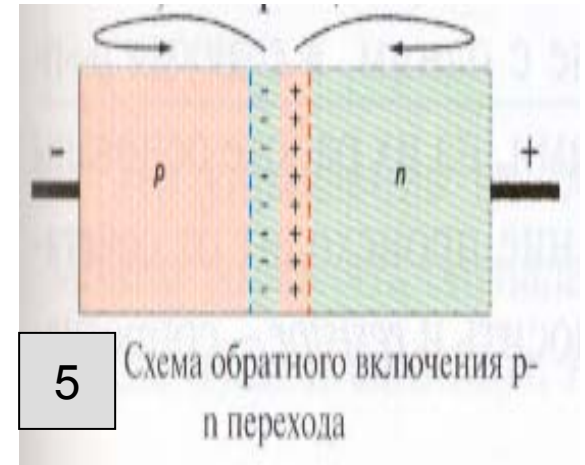
2 Атом индия в решетке германия. Полупроводник p-типа



3 Образование запирающего слоя при контакте полупроводников p- и n-типов



4 Прямое включения p-n перехода



5 Схема обратного включения p-n перехода

Химически чувствительные полевые транзисторы

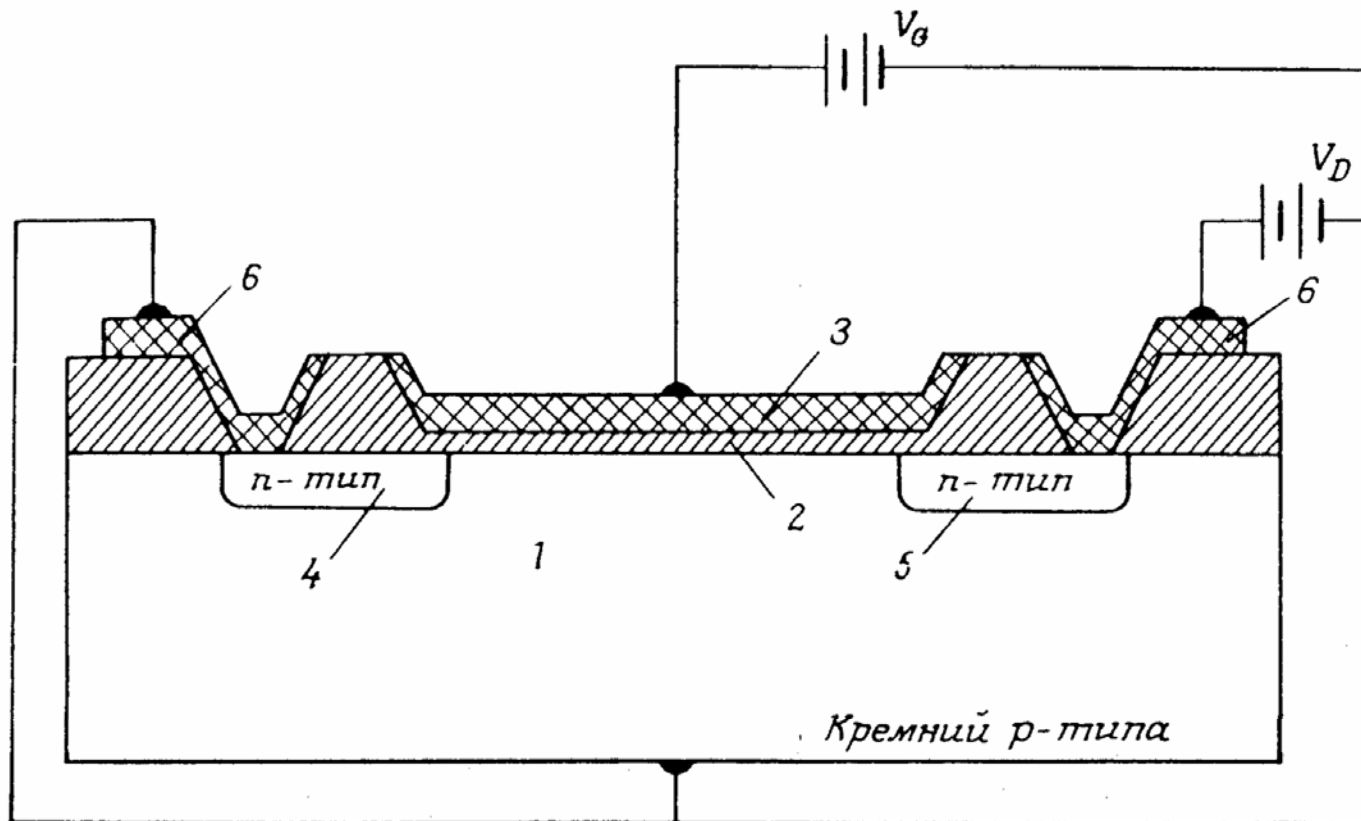
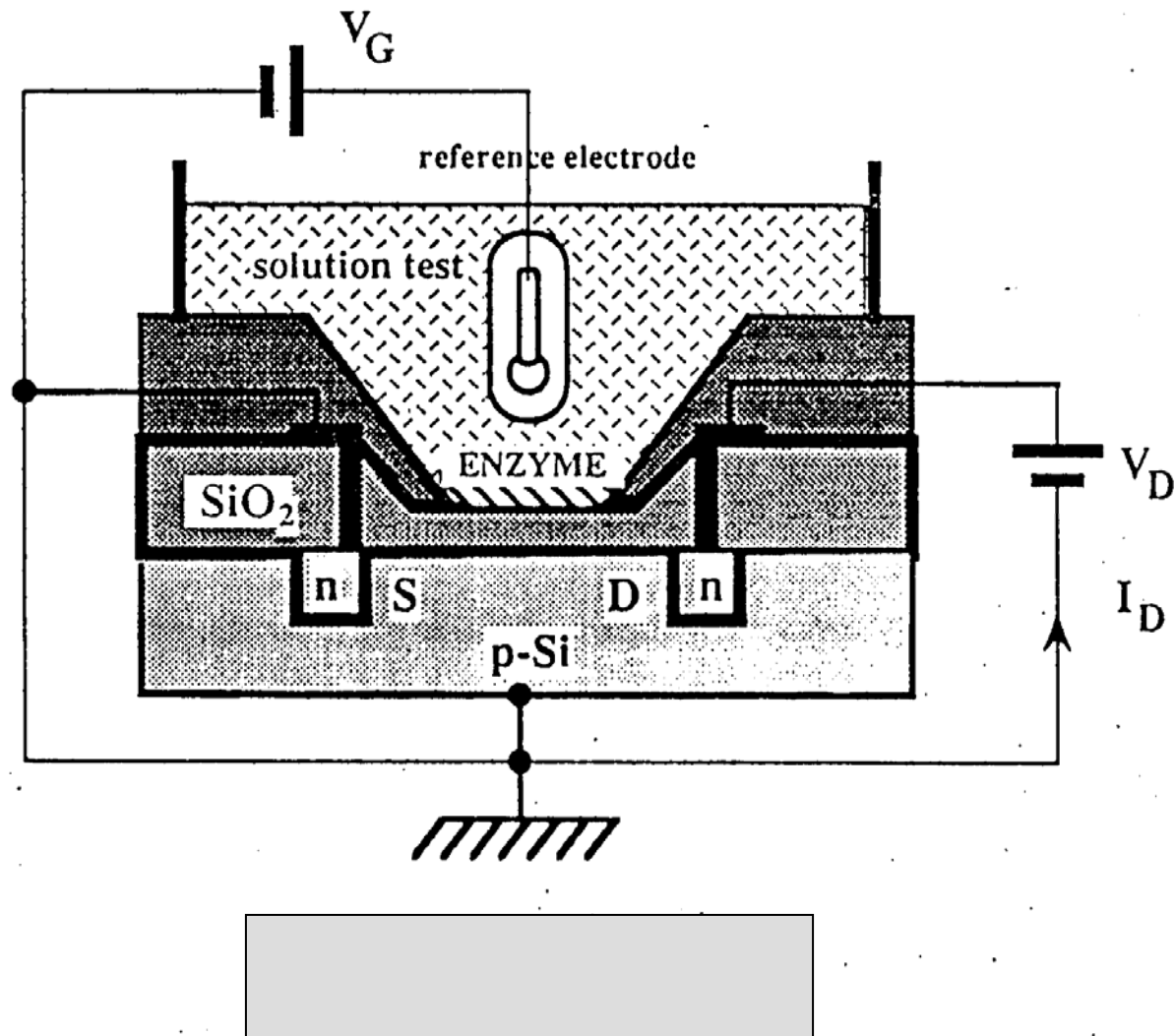


Схема ПТ

1 – кремниевая подложка n-типа; 2 – диэлектрик; 3 – металлический затвор; 4 – исток n-типа; 5 – сток n-типа; 6 – металлический контакт со стоком и истоком.

Химически чувствительные полевые транзисторы



Пьезоэлектрические материалы



- Природные – кварц, турмалин, сегнетова соль



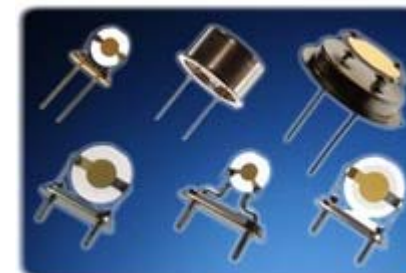
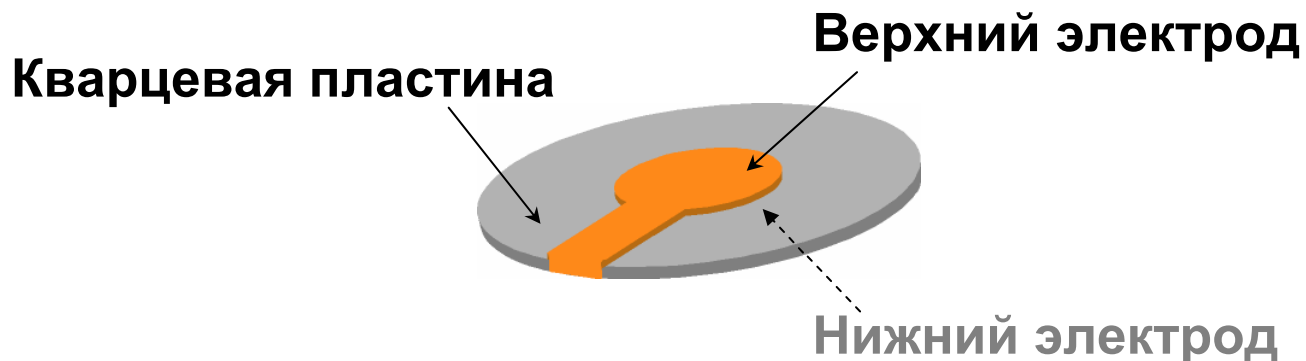
- Искусственные – кварц, керамика (титанат бария, цирконат-титонаты свинца), полимеры (поливинлденфторид)



Quartz crystal microbalance (QCM)

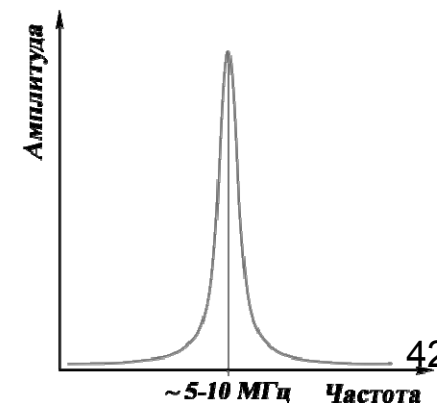
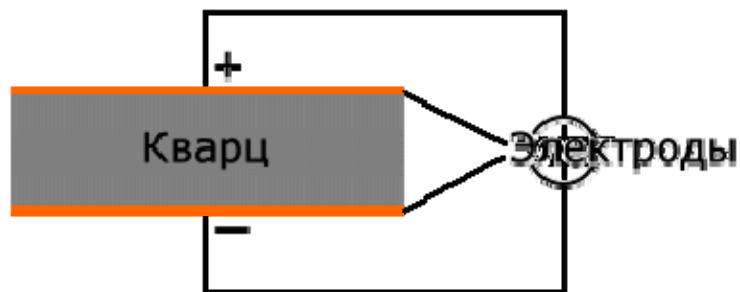


Кварцевые микровесы



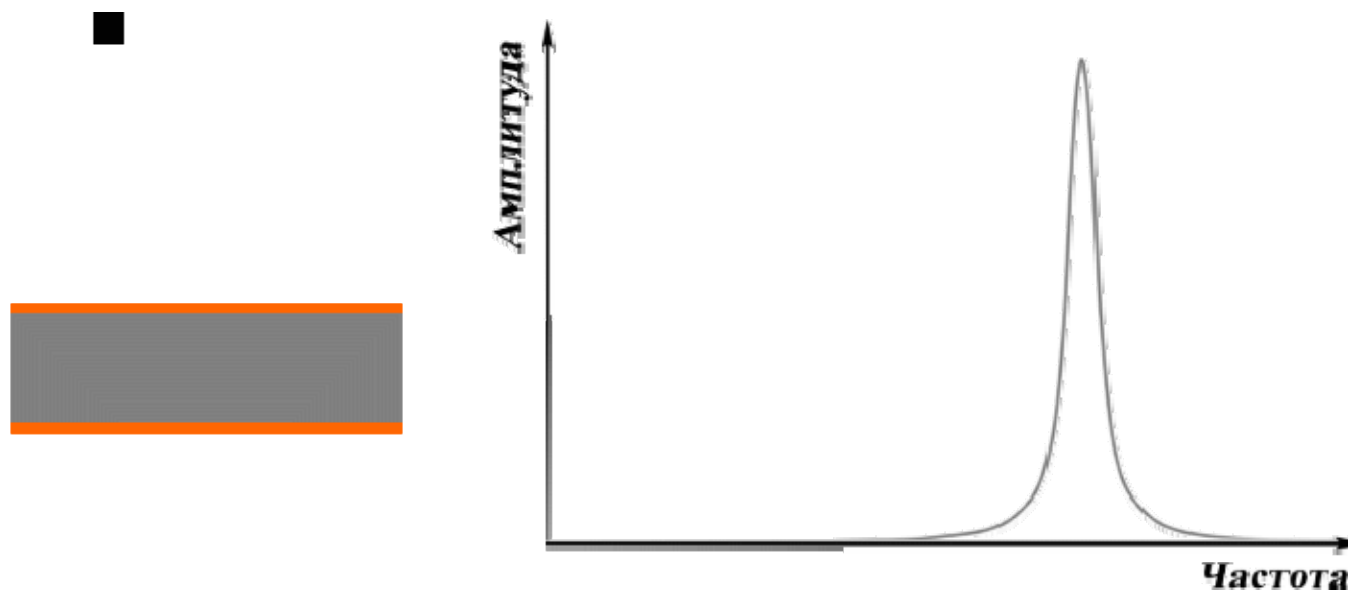
Деформации пластины под действием разности потенциалов
(обратный пьезоэффект)

Генерация горизонтальных сдвиговых колебаний





Кварцевые микровесы (QCM): принцип



Для жестких тонких пленок $\Delta f \sim \Delta m$

Уравнение Сауэрбрея:

$$\Delta f = \frac{-2f_0^2}{(\rho_q \mu_q)^{1/2}} \Delta m$$

Δf : измеряемый сдвиг частоты резонанса

Δm : изменение массы на единицу площади (г/см²)

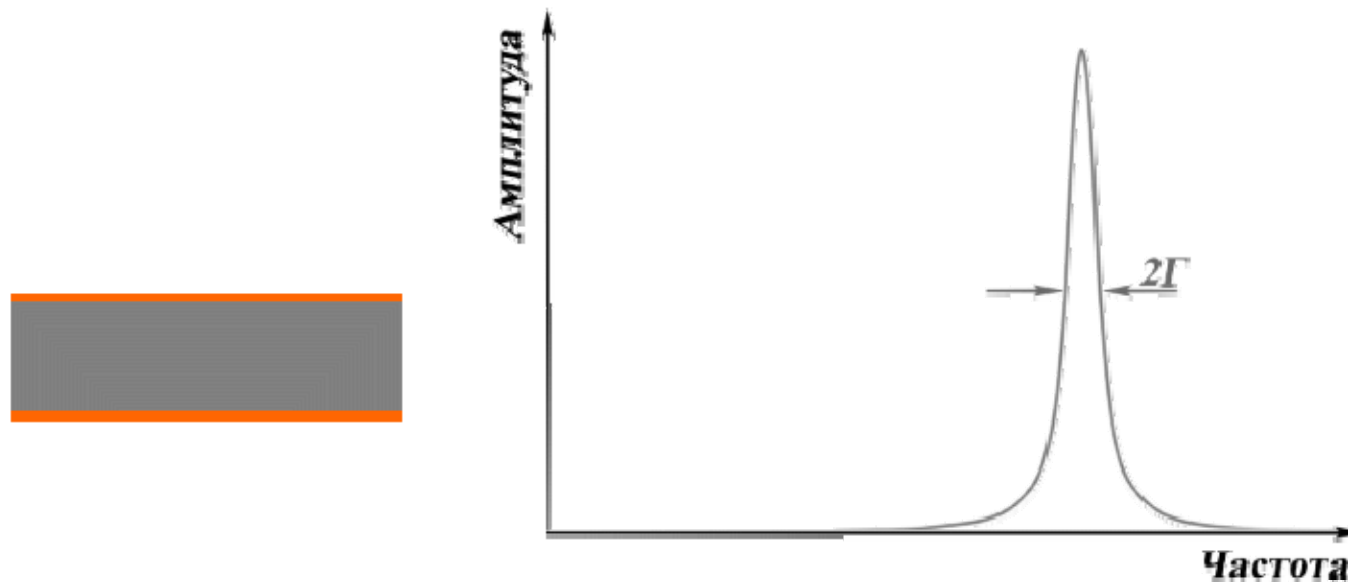
f_0 : резонансная частота колебаний пьезокристалла

ρ_q : плотность кварца, 2.648 г/см³.

μ_q : модуль упругости кварца (сдвиговый),
2.947·10¹¹ г/(см×с²)

Для 5 МГц-кристалла с тепловым дрейфом резонанса ± 0.1 Гц $\Delta m \approx 2 \text{ нг/см}^2$

Кварцевые микровесы с контролем диссипации энергии (QCM-D)



$$D = \frac{2\Gamma}{f} = \frac{1}{Q} = \frac{\text{Диссипация энергии за период}}{2\pi \text{ Полная энергия осциллятора}}$$

Для **вязко-упругих** тонких пленок Δf и ΔD связаны как с массой пленки ($d_{\text{пл}}$, $\rho_{\text{пл}}$), так и ее вязко-упругими характеристиками ($\eta_{\text{пл}}$, $\mu_{\text{пл}}$). Интерпретация данных осуществляется на основании модели, предложенной Войновой.

Основные характеристики



Измеряемая масса

D-фактор

in air (1 bar)

~1 ng/cm²

~2×10⁻⁸

in water (25 °C)

~5 ng/cm²

~3×10⁻⁷

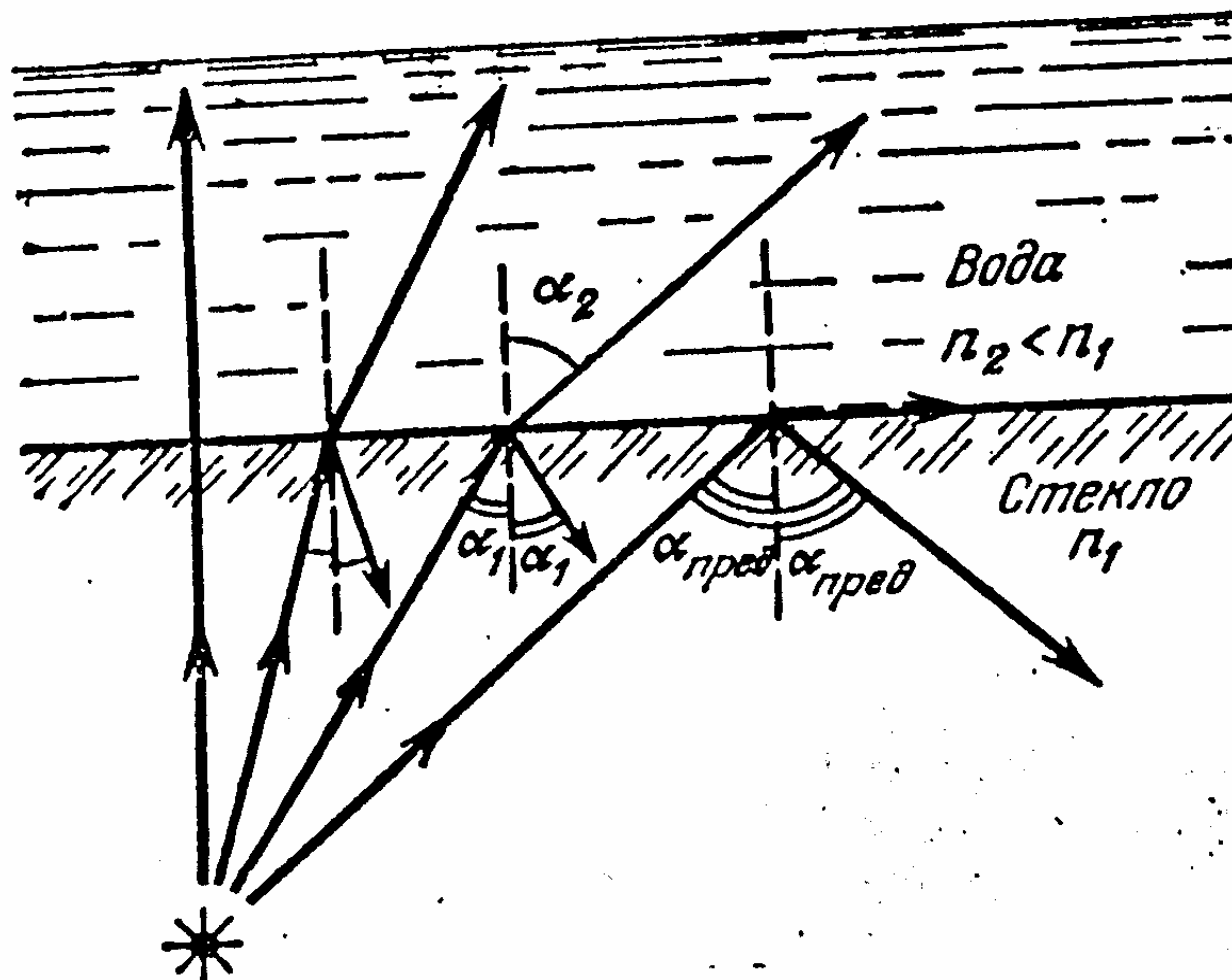
– Активная область: ~0.2
cm²



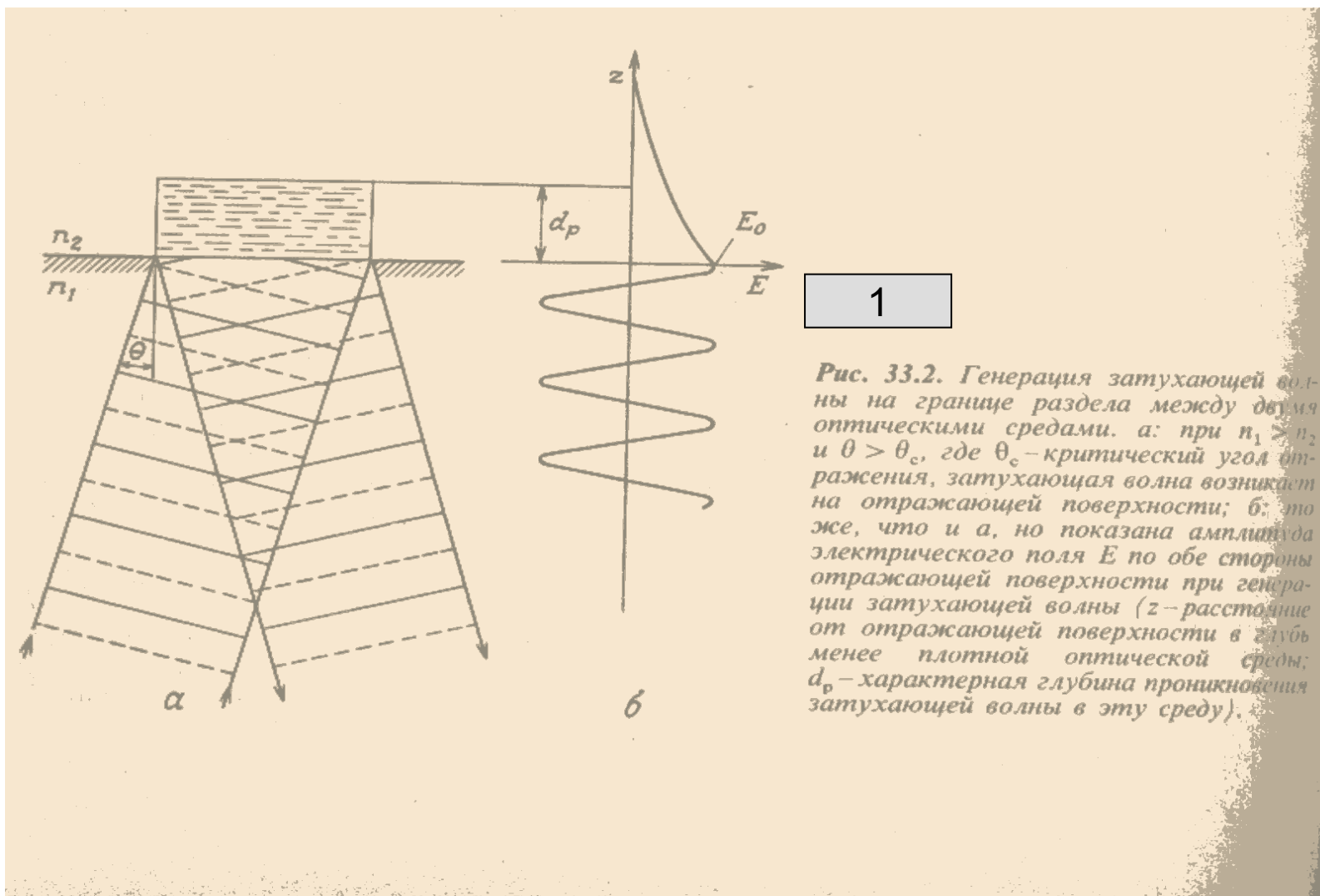
Диапазон толщин вязко-упругих плёнок: nm - μm

A monolayer (<100% surface coverage) of Myoglobin (17800 Da) corresponds to 10 Hz.
Detection limit is approximately 0.2 Hz

Спектроскопия внутреннего отражения (СВО)



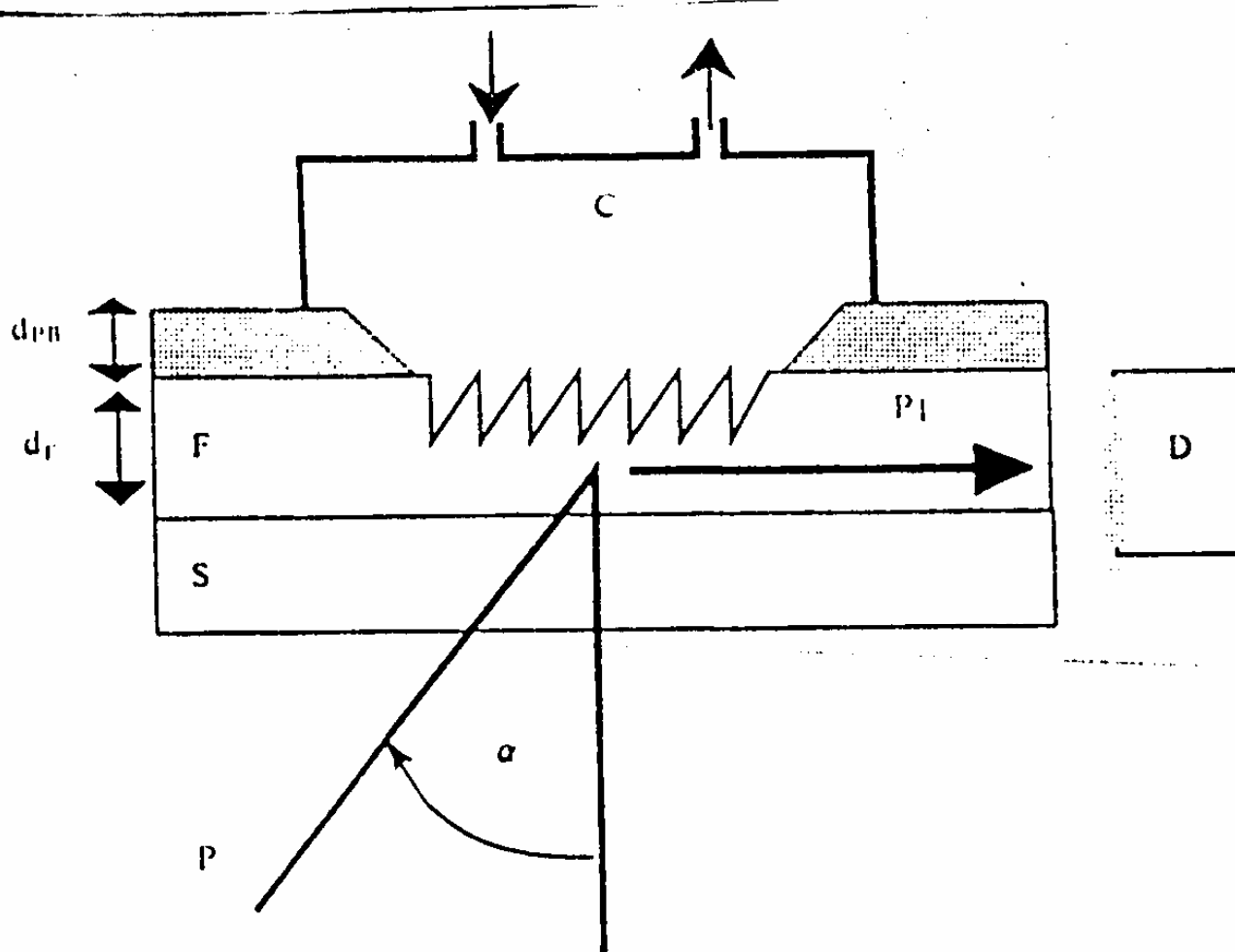
Спектроскопия внутреннего отражения (СВО)



Нарушенное полное внутреннее отражение (НПВО) и НПВО с флуоресценцией (НПВОФ)



- В методе НПВО измеряют ослабление отражённого света как функцию его длины волны.
- В спектроскопии НПВОФ используют флуоресцирующие вещества и, таким образом, поглощенная энергия частично вновь излучается в виде флуоресцентного света, который и детектируется.



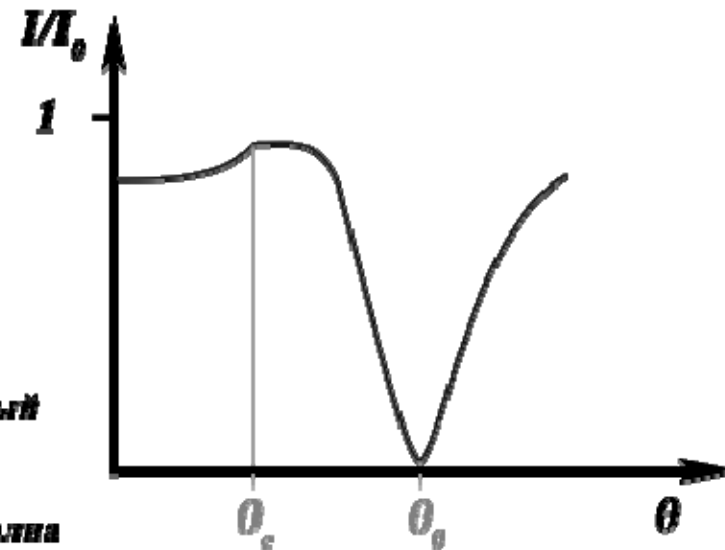
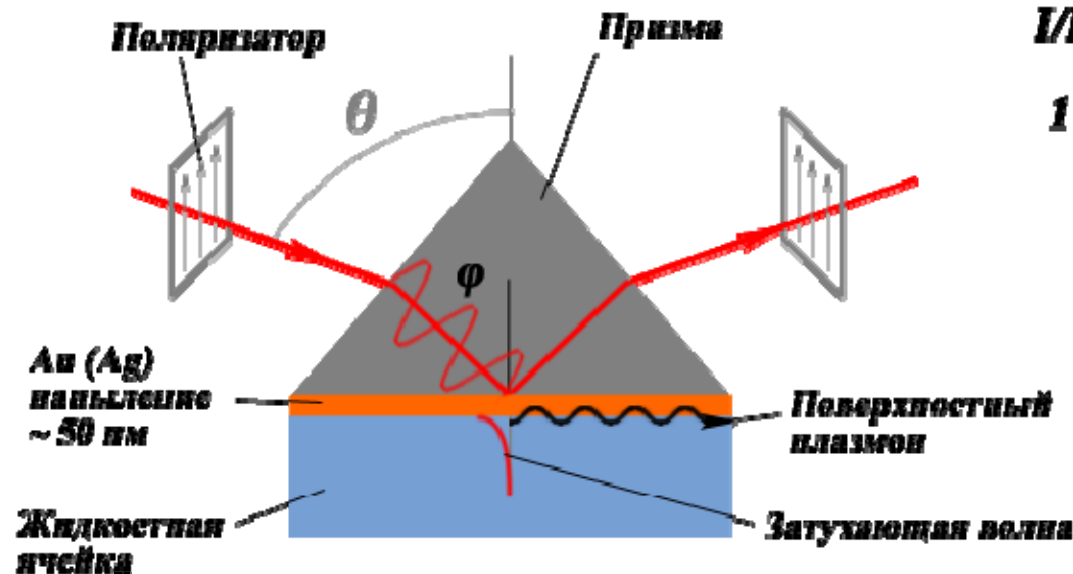
НПВО ячейка

Поверхностный плазмонный резонанс



Surface Plasmon Resonance (SPR)

Поверхностный плазмон - коллективные колебания свободного электронного газа на границе металла с диэлектриком



Волновой вектор поверхностного плазмона:

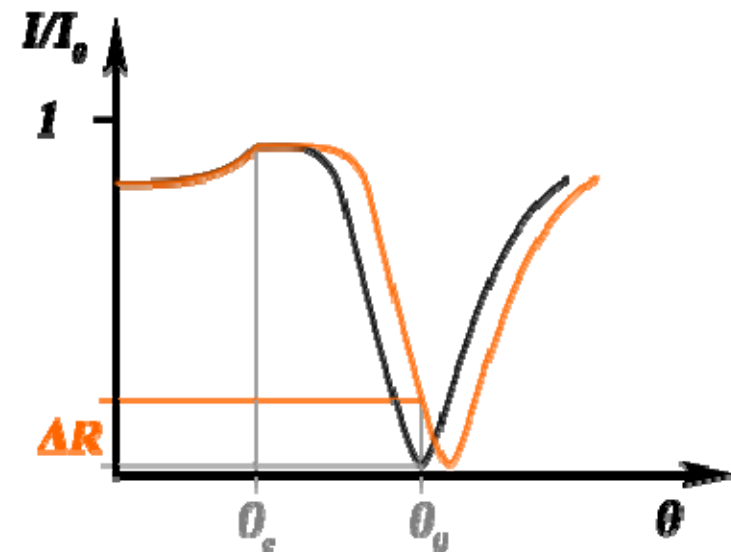
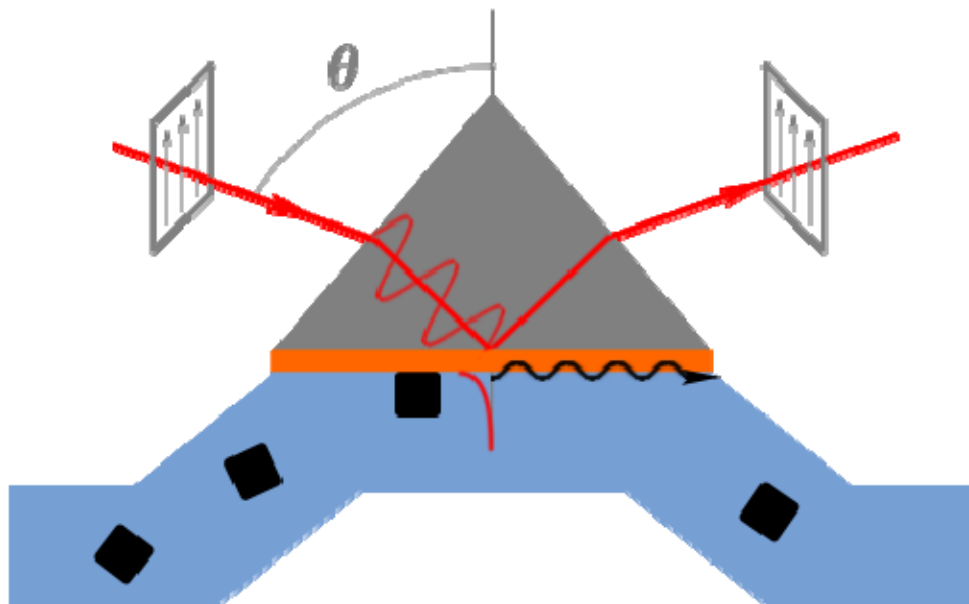
$$k_{sp} = \frac{2\pi}{\lambda} \sqrt{\frac{\epsilon_{Au} \epsilon_{p-ra}}{\epsilon_{Au} + \epsilon_{p-ra}}}$$

Условие резонанса: $k_{sp}^0 = k_{ph}^0 = \frac{2\pi}{\lambda} n_{призмы} \sin \varphi$

Поверхностный плазмонный резонанс



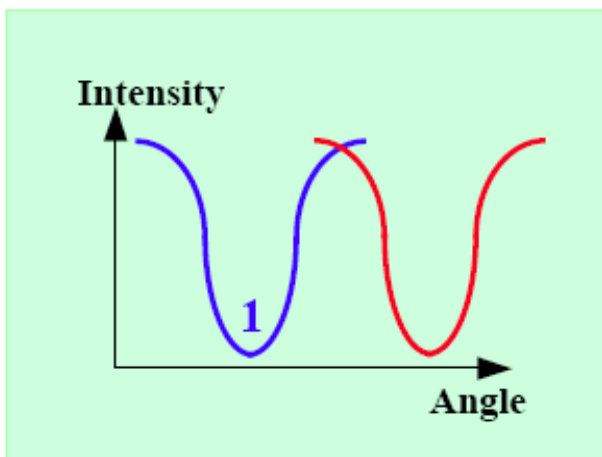
Изменение локальной диэлектрической проницаемости вблизи поверхности вследствие, например, взаимодействия свободного лиганда с иммобилизованным рецептором вызывает сдвиг положения резонанса



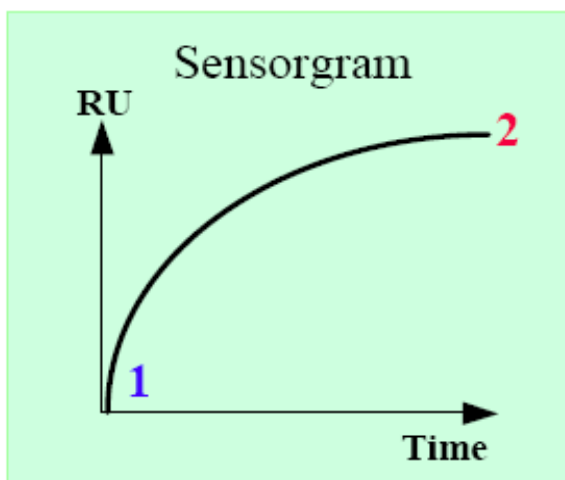
Чувствительность метода SPR составляет около 0.1 - 1 пг/мм²



Сенсограмма



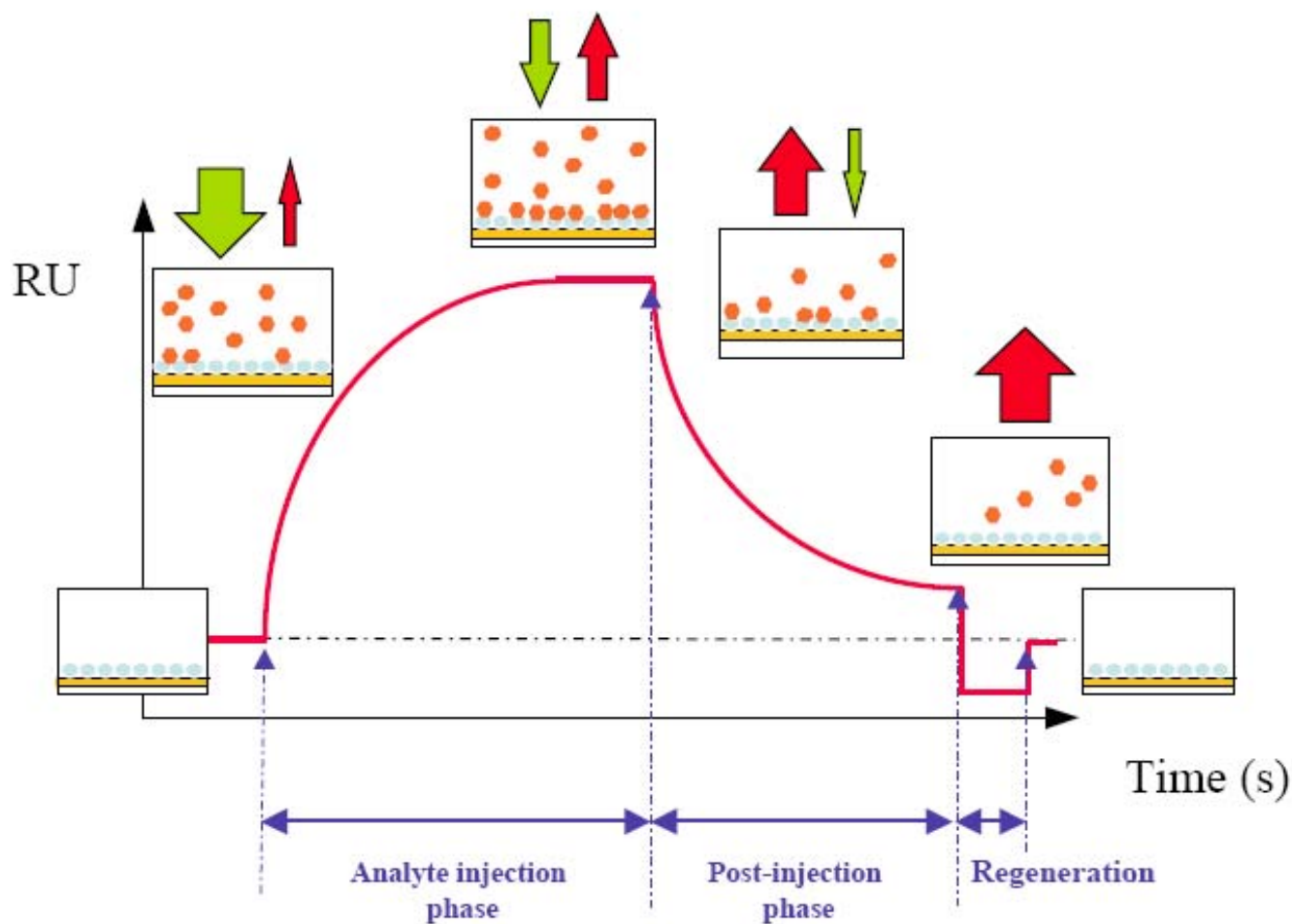
2



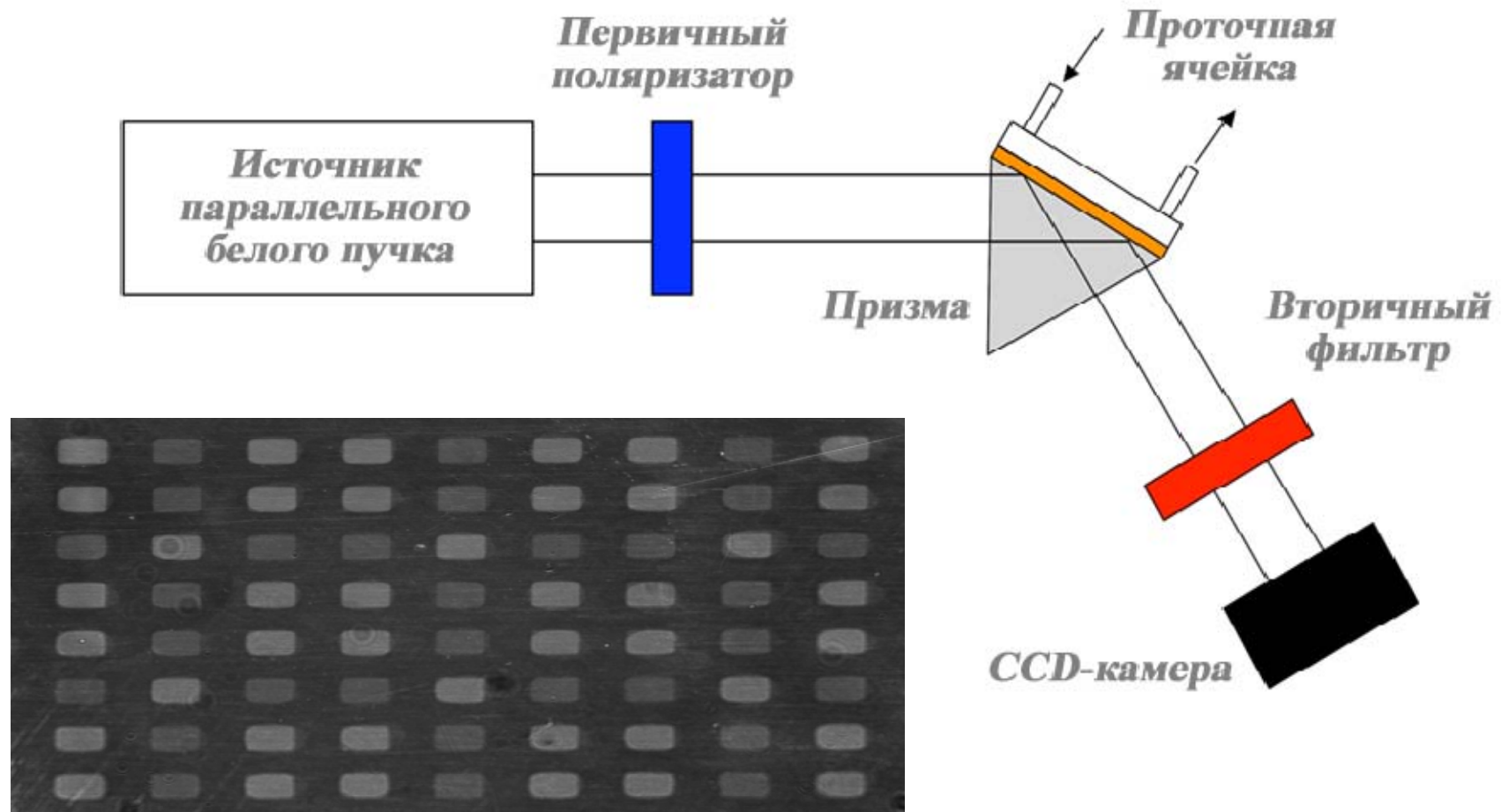
* RU – resonance units. Единица измерения, активно используемая компанией **ViaCore®**.
1000 RU = 0.1° сдвига положения резонанса.
1 RU приблизительно соответствует связыванию 1 пг белка на мм² сенсора.



Фазы сенсограммы



SPR Imaging



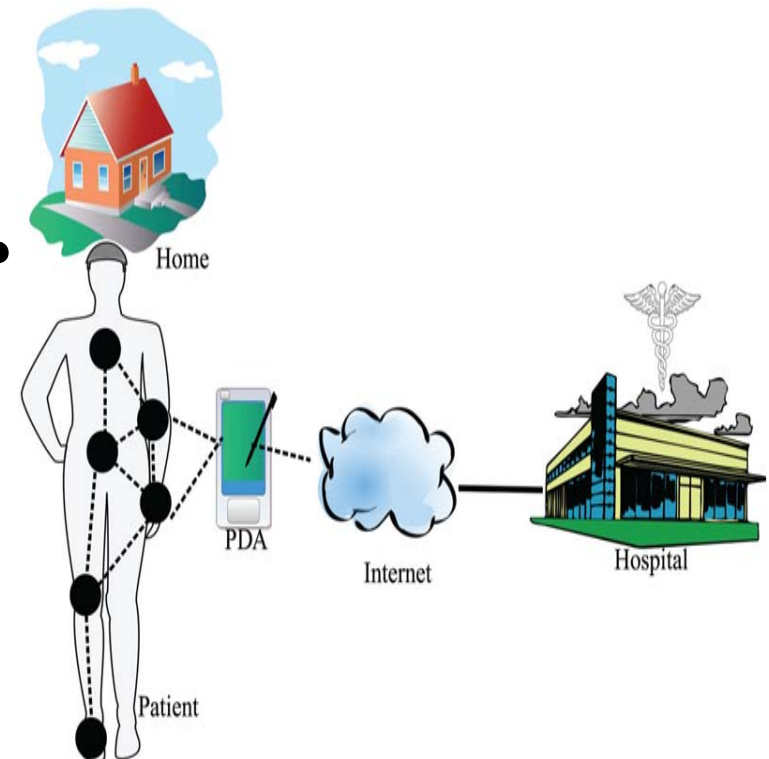
Изображение на CCD-камере. Белые участки соответствуют зонам с низким уровнем связывания, темные – с высоким. Усреднение сигнала по площади зоны дает количественную характеристику степени связывания

Тенденции развития



- Мультимодальность
- Скорость проведения анализа
- Миниатюризация
- Получение информации о пространственном распределении сигнала на уровне отдельных клеток
- Стоимость

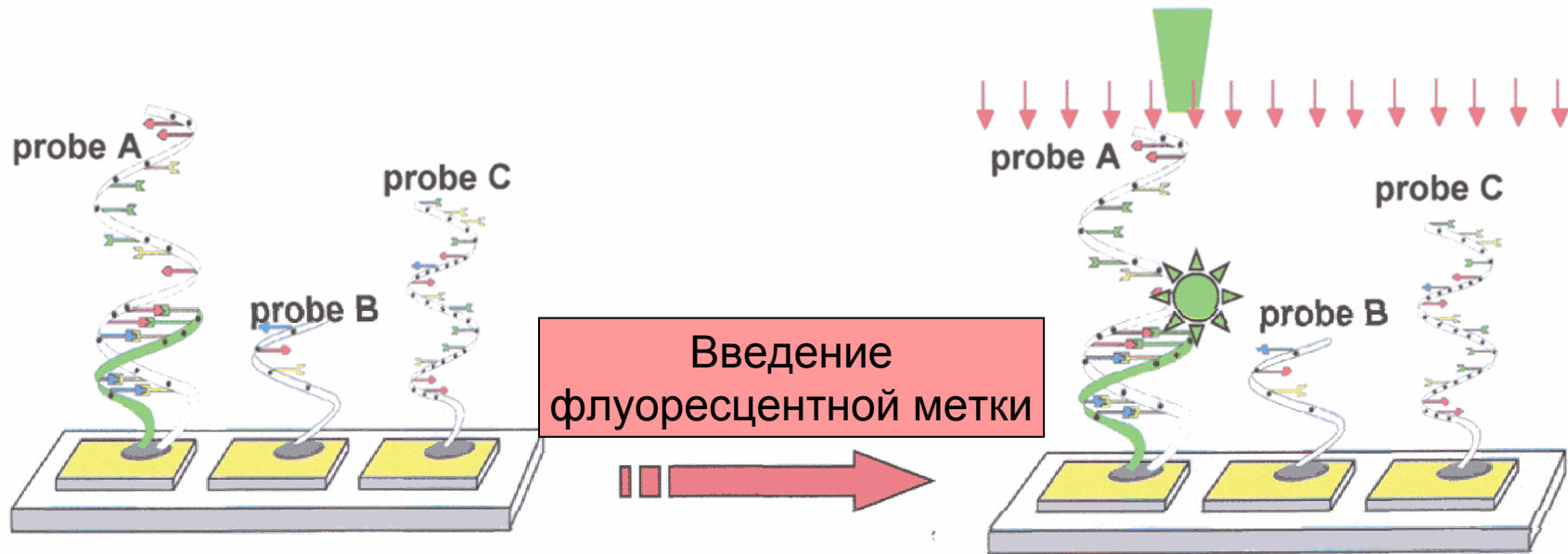
Всё это вместе – возможность создания сенсорных сетей (BSN)



ДНК -чипы

Гибридизация образцов

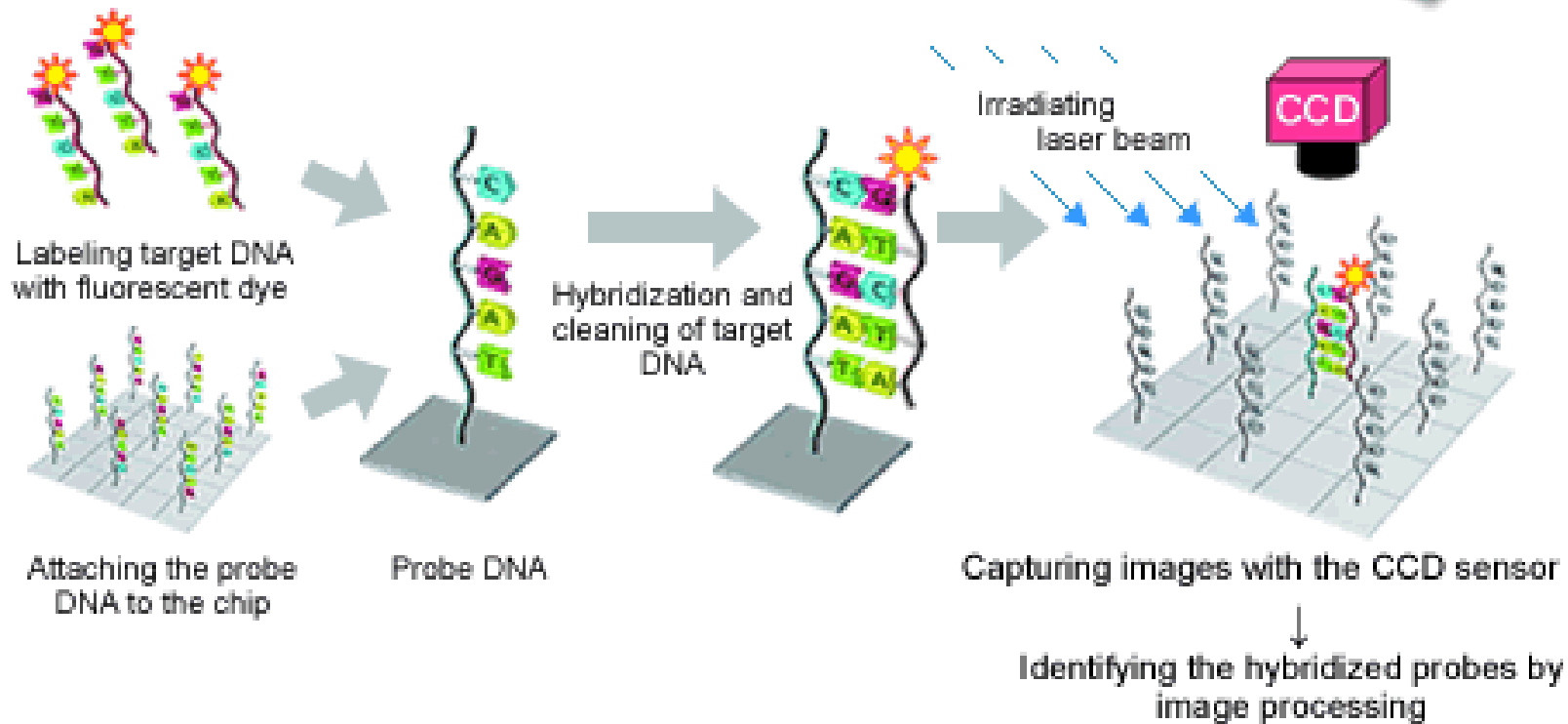
Детекция образовавшихся комплексов



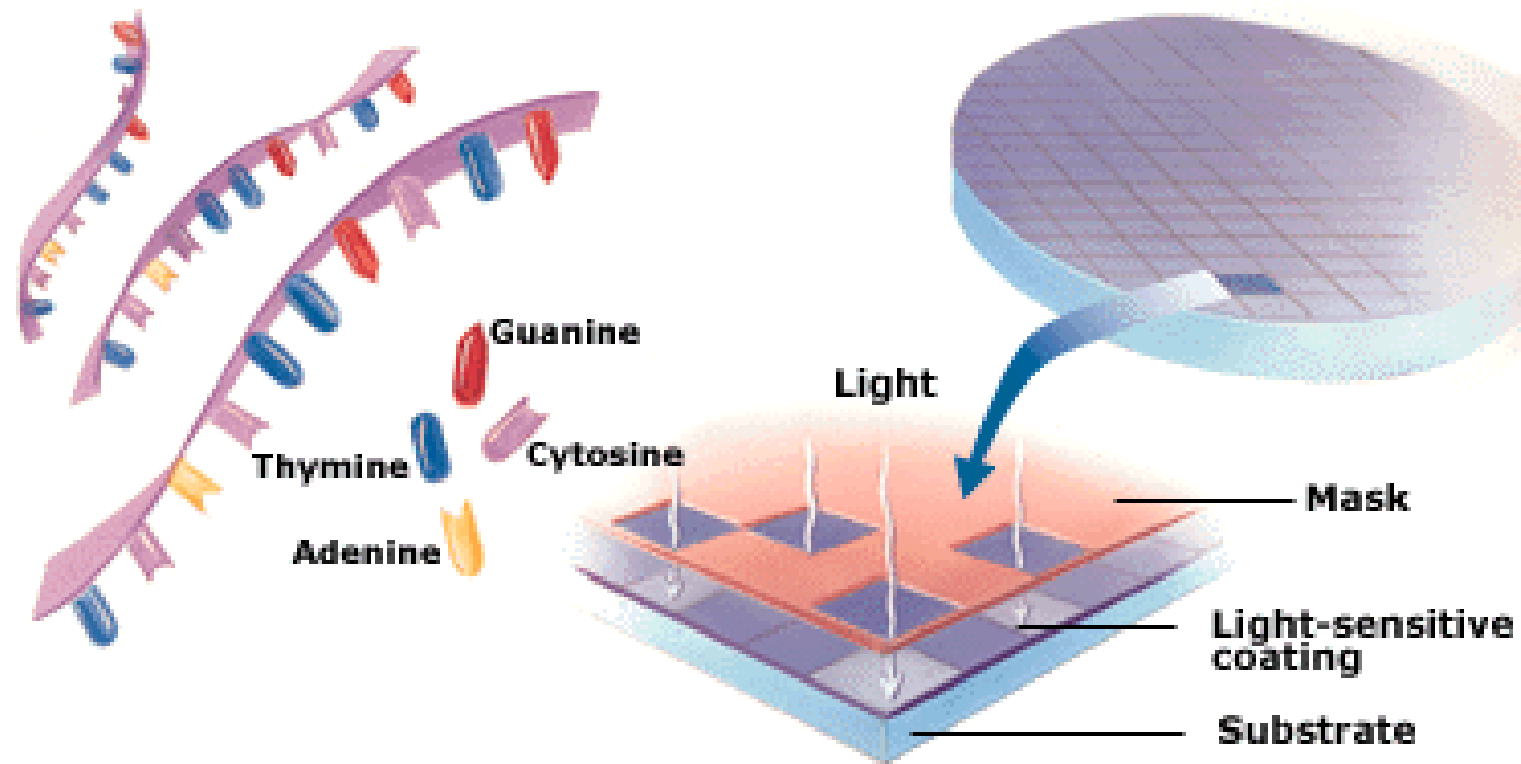


Предварительное введение флуоресцентной метки

The four bases A, T, G, and C bind A to T or G to C. A target DNA sequence is analyzed by checking which bases the target DNA bases bind.



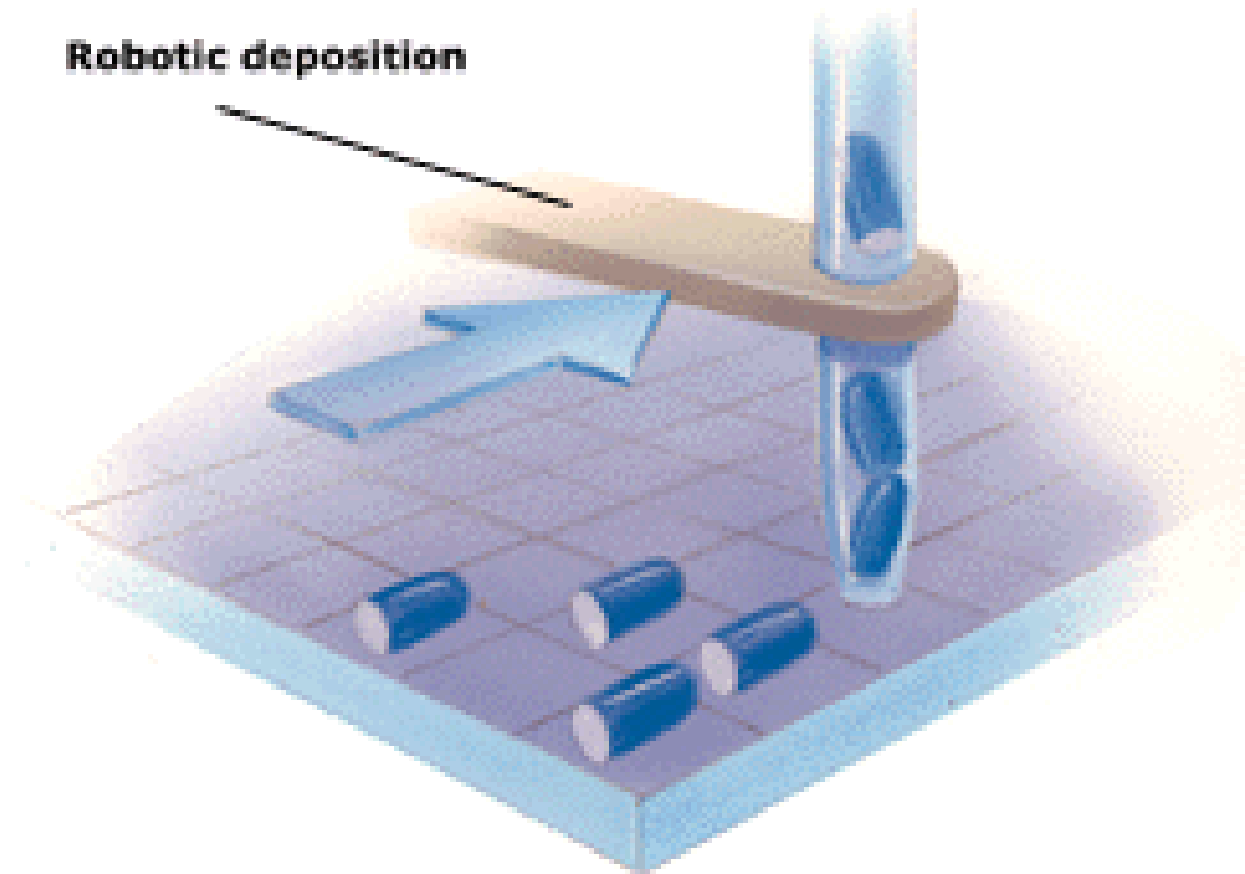
Изготовление ДНК-чипов



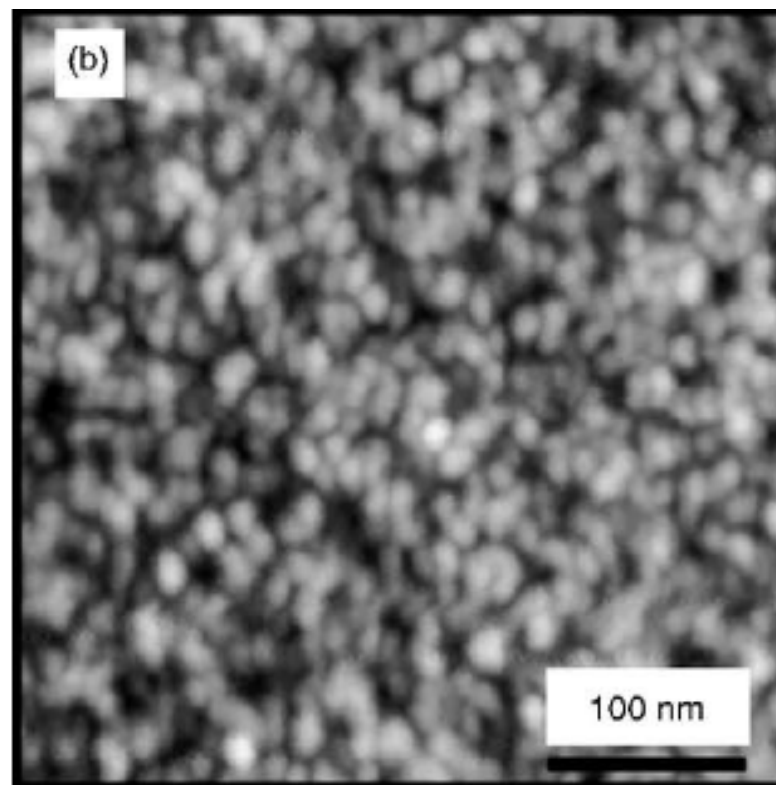
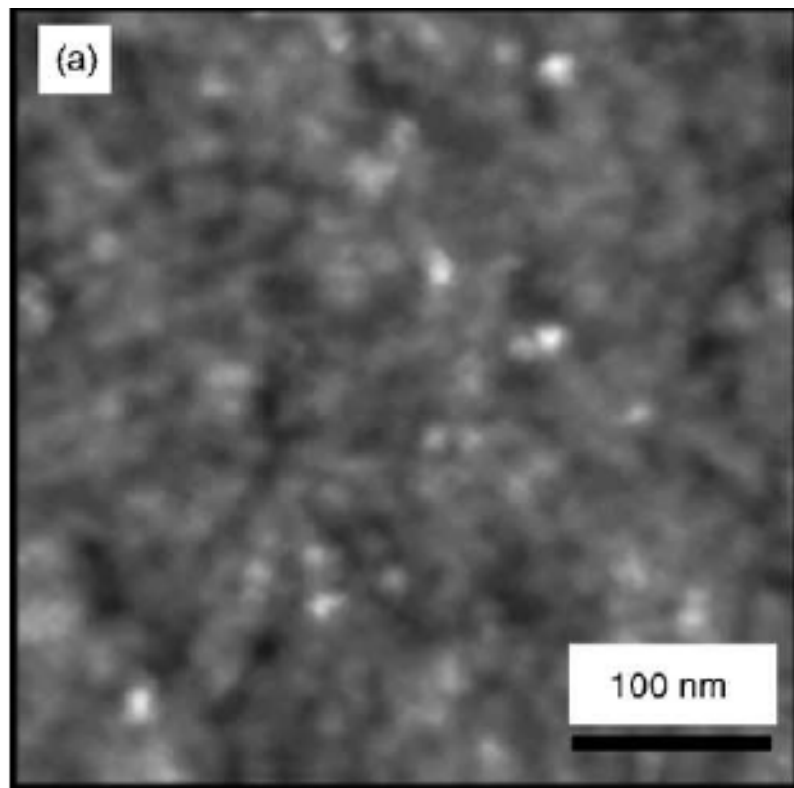
Нанесение генетического материала



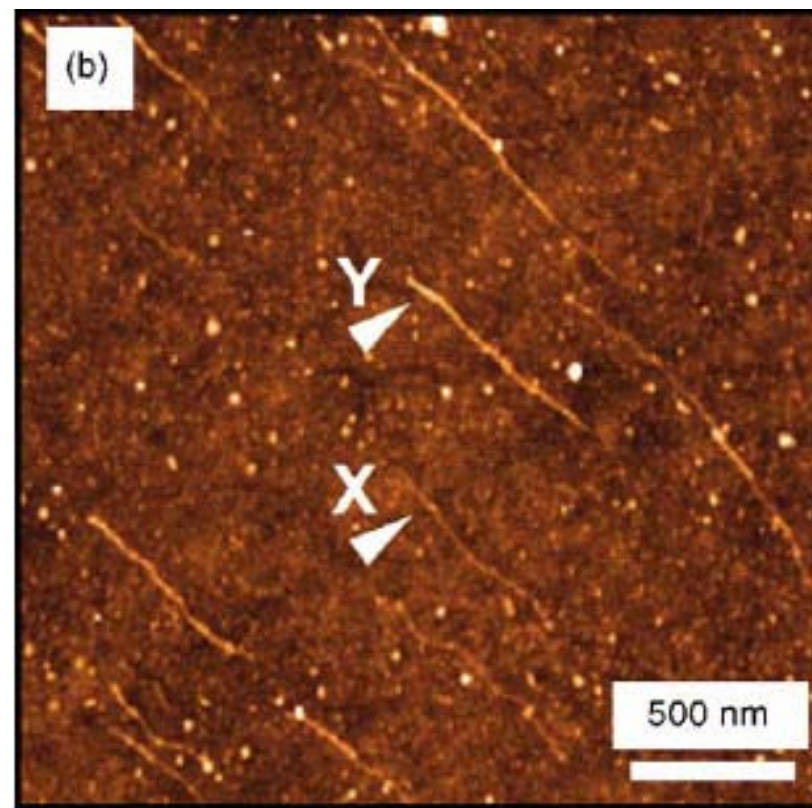
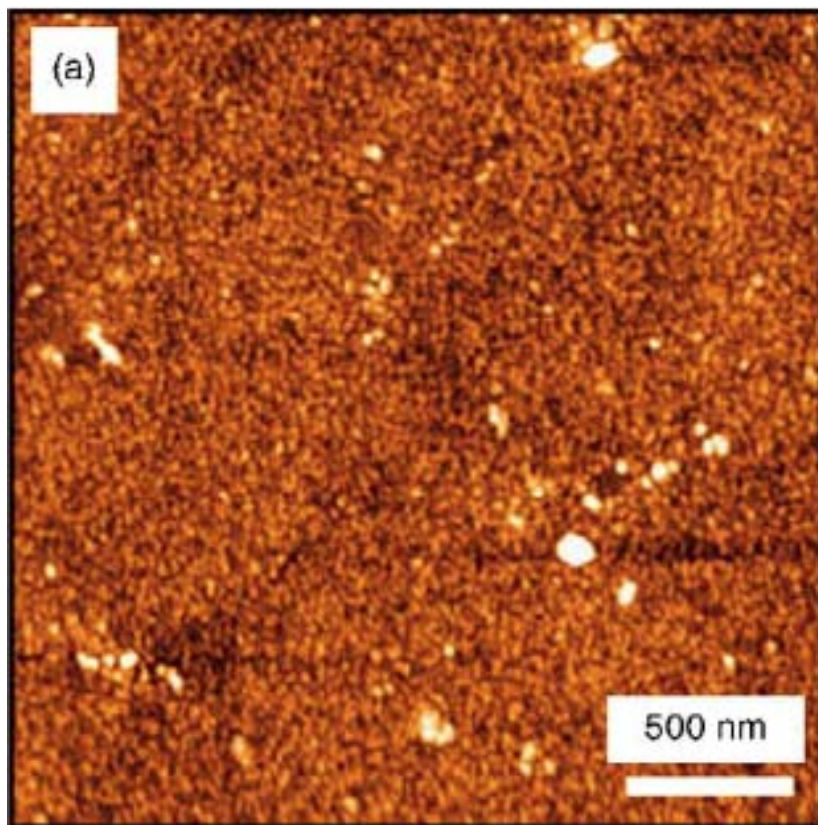
Robotic deposition



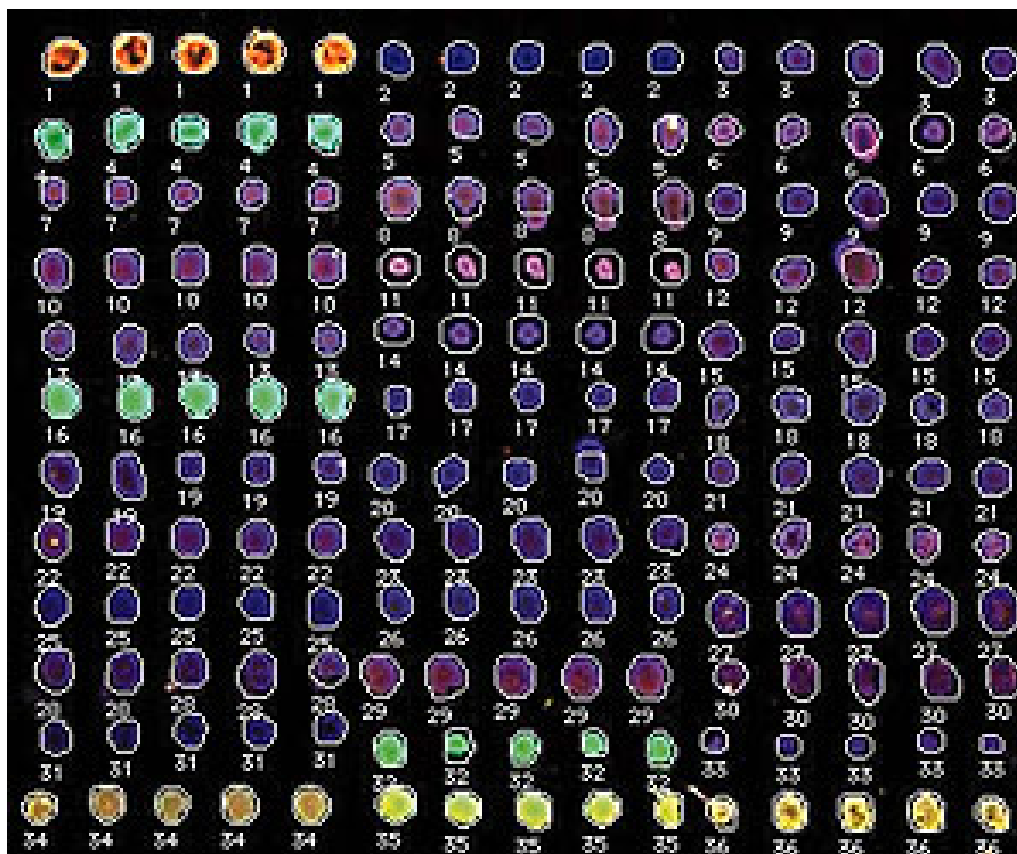
АСМ-изображение поверхности ДНК-чипа до и после иммобилизации зонда



АСМ-изображение поверхности ДНК-чипа до и после гибридизации



Типичный вид ДНК-чипа после анализа



Форматы ДНК-чип технологий



- **Формат 1:** кДНК (500 ~ 5000 оснований) иммобилизуется на твердой поверхности (например стекло) с использованием роботизированных систем разнесения жидкости и далее инкубируется с анализируемой смесью. Метод «традиционно» называют DNA microarray или к-ДНК-чипы, развит в Stanford University.
- **Формат 2:** массив олигонуклеотидов (20~80 осн.) или peptide nucleic acid (PNA) зондов синтезируют непосредственно на чипе. Далее инкубируют с анализируемой смесью. Этот метод «исторически» называют DNA chips развит компаниями Affymetrix, GeneChip и др.. На сегодня, многие компании изготавливают такие олигонуклеотидные чипы с применением разнообразных методов синтеза in-situ и методов разнесения жидкости в различные точки пространства.

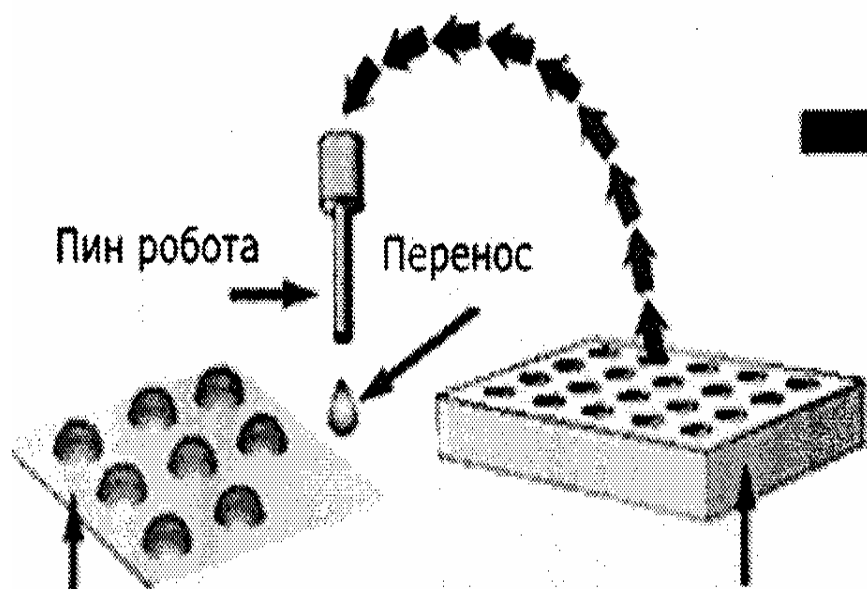


Биологические микрочипы, содержащие
иммобилизованные в гидрогеле
нуклеиновые кислоты, белки и другие
соединения и частицы

- **МАГИК – чип (Матрица Гель-Иммобилизованных Компонентов на микрочипе)**



Робот переносит растворы зондов
из планшета на подложку



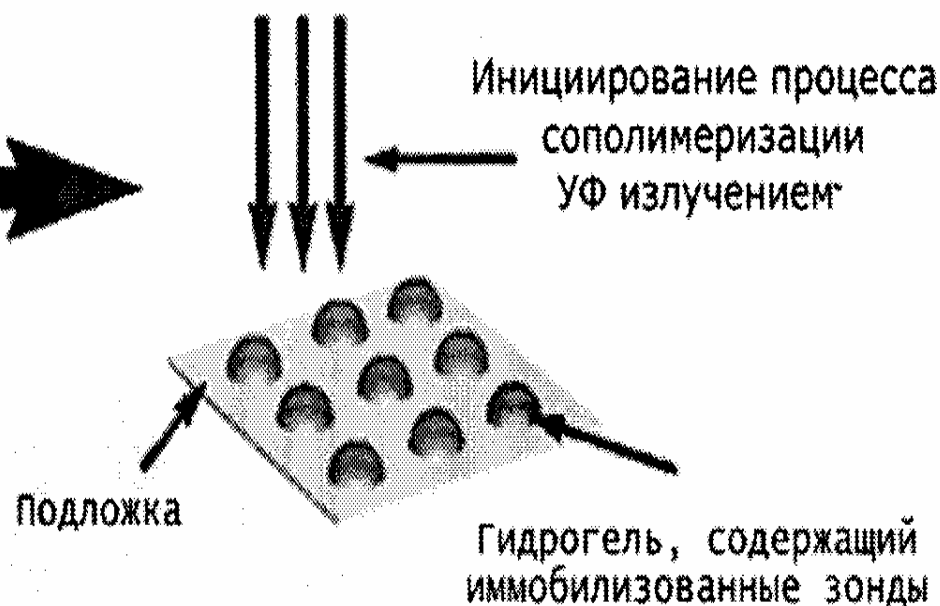
Пин робота

Перенос

Активированная
подложка

Микротитровальный планшет
с растворами зондов

УФ излучение



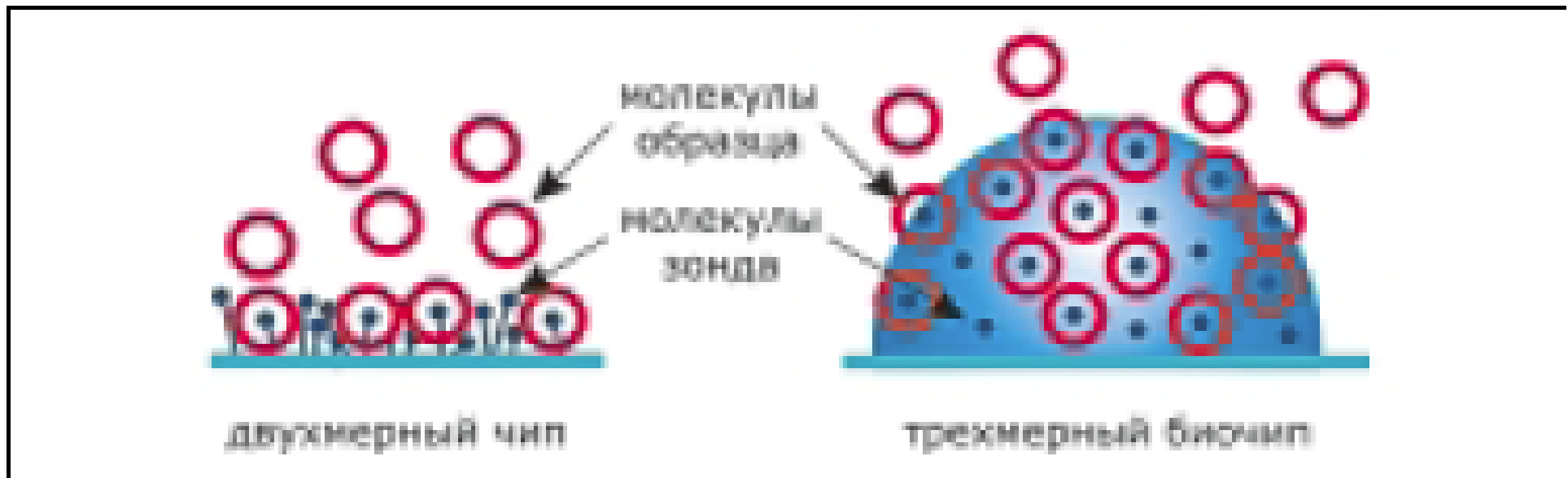
Инициирование процесса
сополимеризации
УФ излучением

Подложка

Гидрогель, содержащий
иммобилизованные зонды

Диаметр капли-150 мкм,
период-350 мкм

Молекулярные взаимодействия на поверхностных и МАГИК-микрочипах



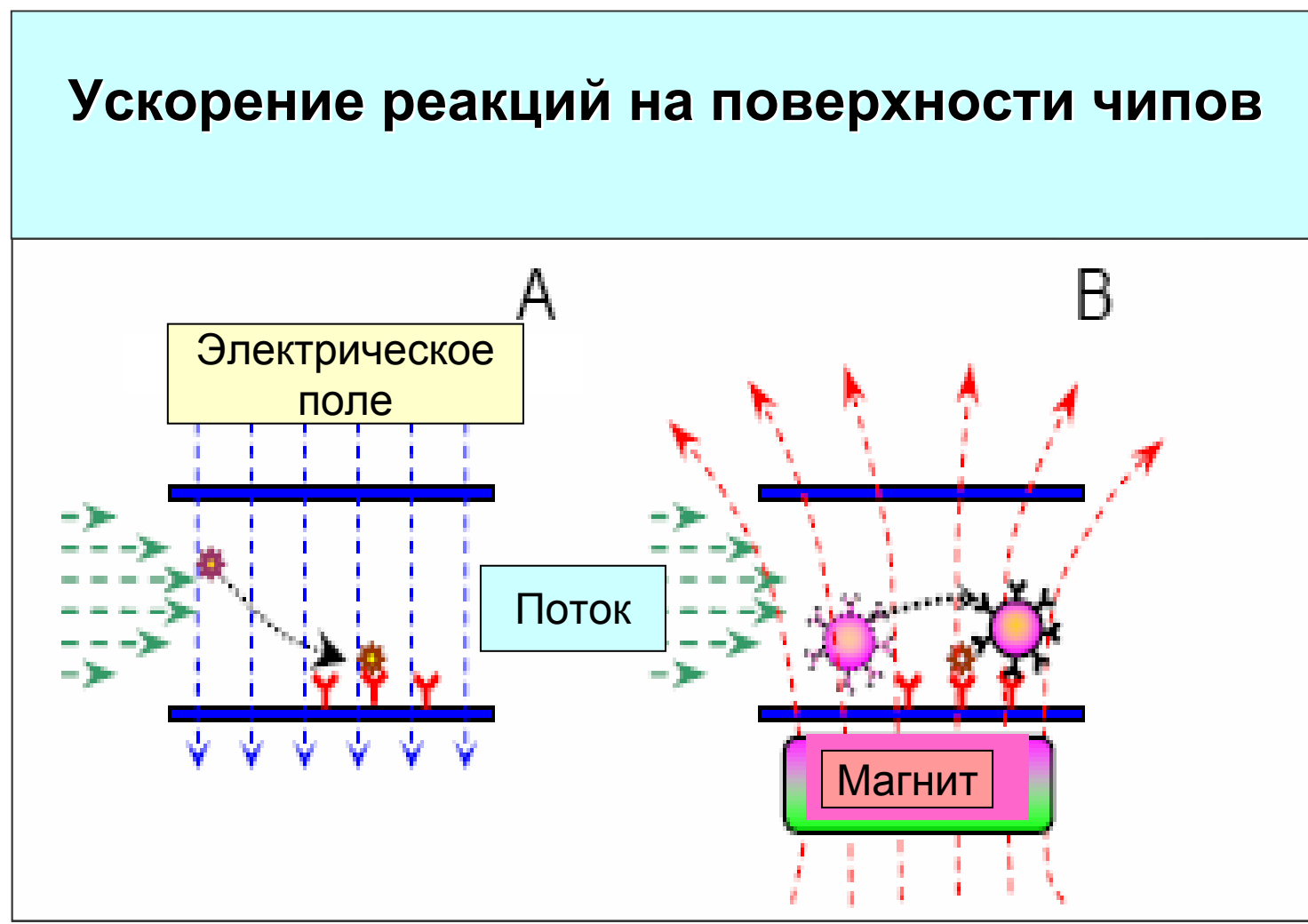
Анализатор биочипов с портативным флуоресцентным микроскопом, разработанный в ИМБ РАН





Ускорение иммунореакций за счёт электрического и магнитных полей

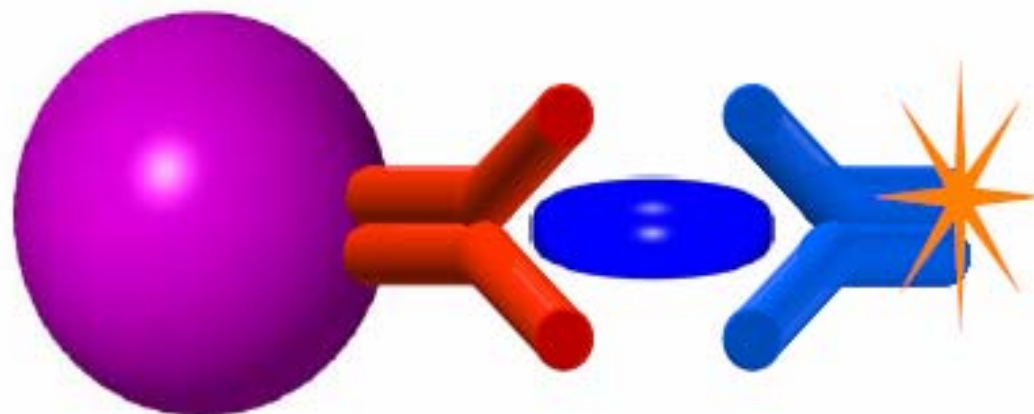
Ускорение реакций на поверхности чипов





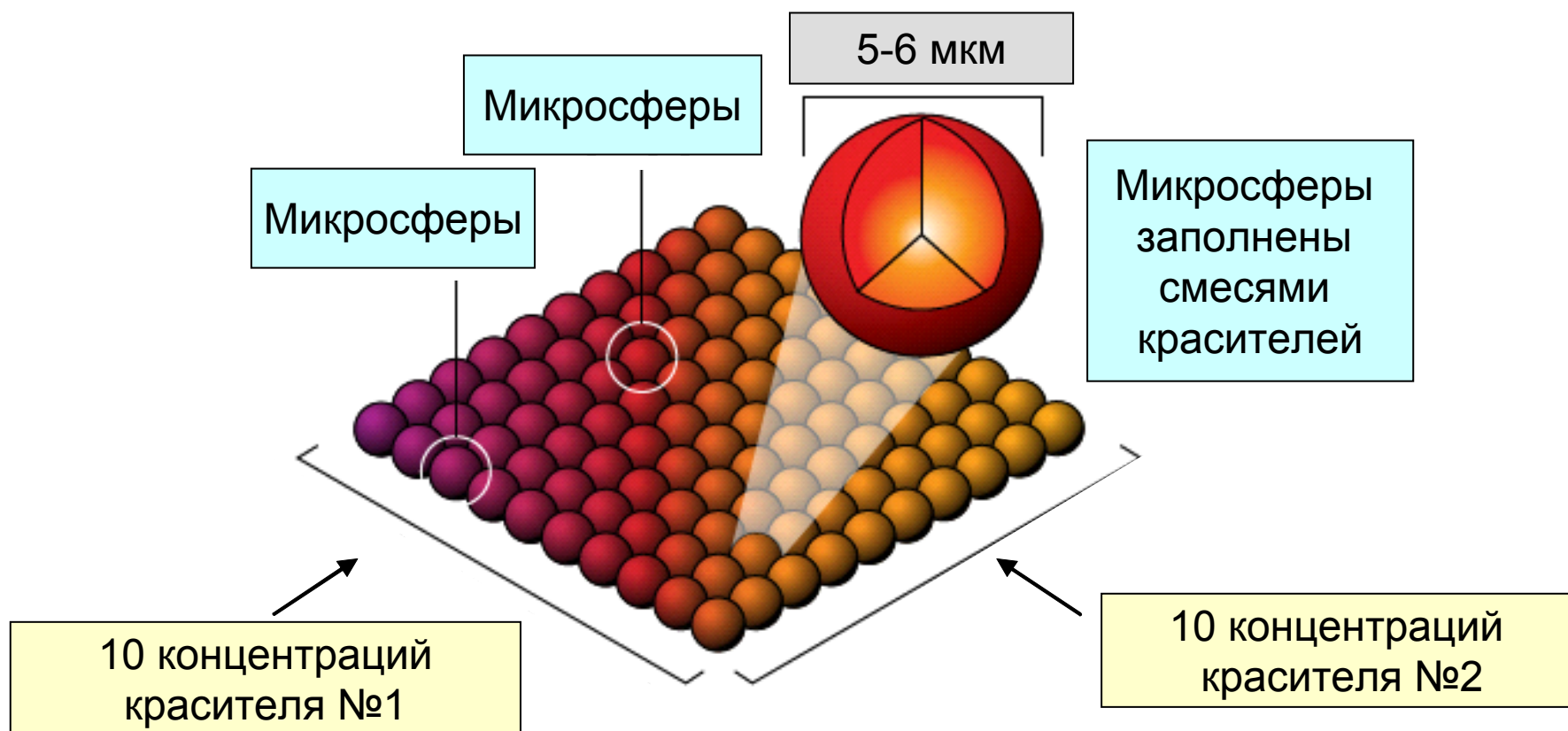
Микросферы

Иммуноанализ с использованием
микросфер

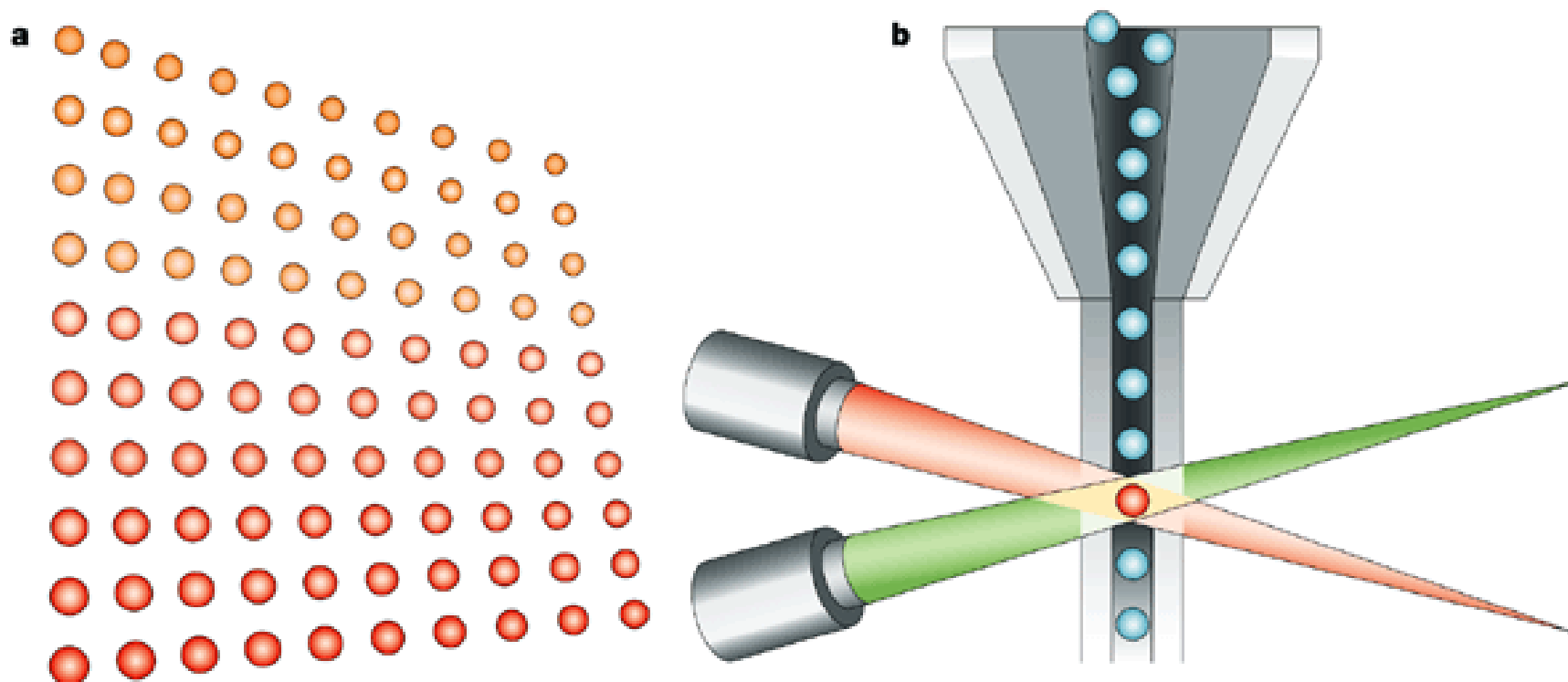




Микросферы



Регистрация сигналов от микросфер



Типы ДНК чипов



- Специализированные чипы для изучения полиморфизма (поиск мутаций): полный перебор замен в центре l -мерных олигонуклеотидов, $l=17-25$ и минисеквенирование.
- Экспрессионные чипы – определение концентрации соответствующих м-РНК.
- Чипы для распознавания: генов, вирусов и микроорганизмов.
- Микрочипы с полным комбинаторным перебором l -мерных олигонуклеотидов – неизвестна референсная последовательность. Универсальные олигонуклеотидные чипы (УЧ) или (*generic microchips*)



Наночастицы и «наносенсоры»



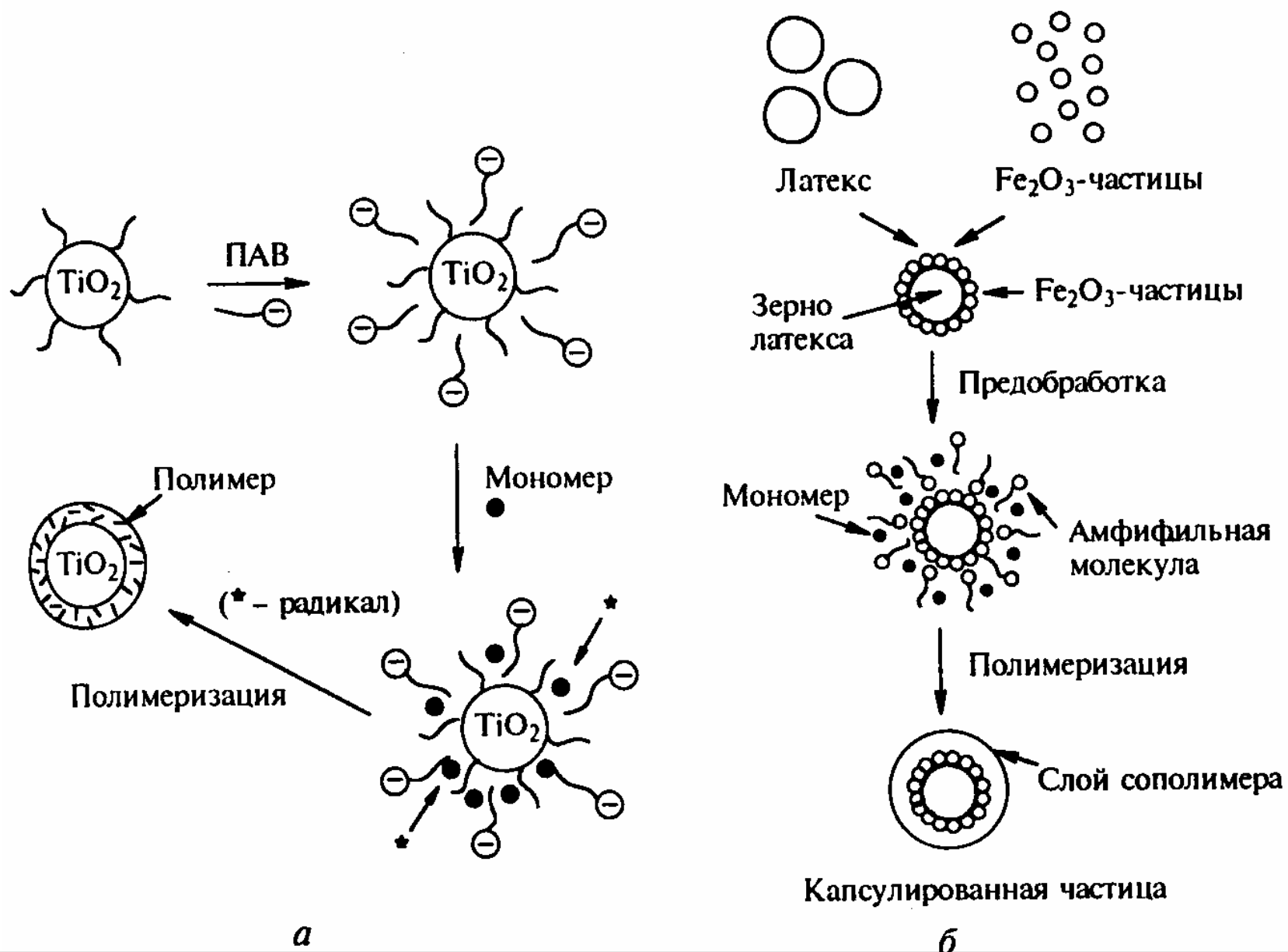
Размерные эффекты в биоаналитике

- Снижение пределов обнаружения веществ.
- Снижение объёмов анализируемой пробы.
- Регистрация единичных молекул, частиц и их комплексов.

**Наноинструментарий, нанодетекторы,
наночастицы**



**Вопросы получения наночастиц
и процессы их стабилизации
необходимо рассматривать
совместно**



Эмульсионная полимеризация на поверхности НРЧ и их инкапсулирование

Полупроводниковые наночастицы – квантовые точки.



- InAs
- CdS
- CdSe
- CdTe

**Квантовая точка это
объект, размер
которого меньше
размера экситона Бора
для данного материала**



Квантовые точки

Радиус экситона Бора для некоторых полупроводников

Материал	Радиус экситона Бора (нм)
CuCl	1
CdSe	6
PbS	20
InAs	34
PbSe	46
InSb	54

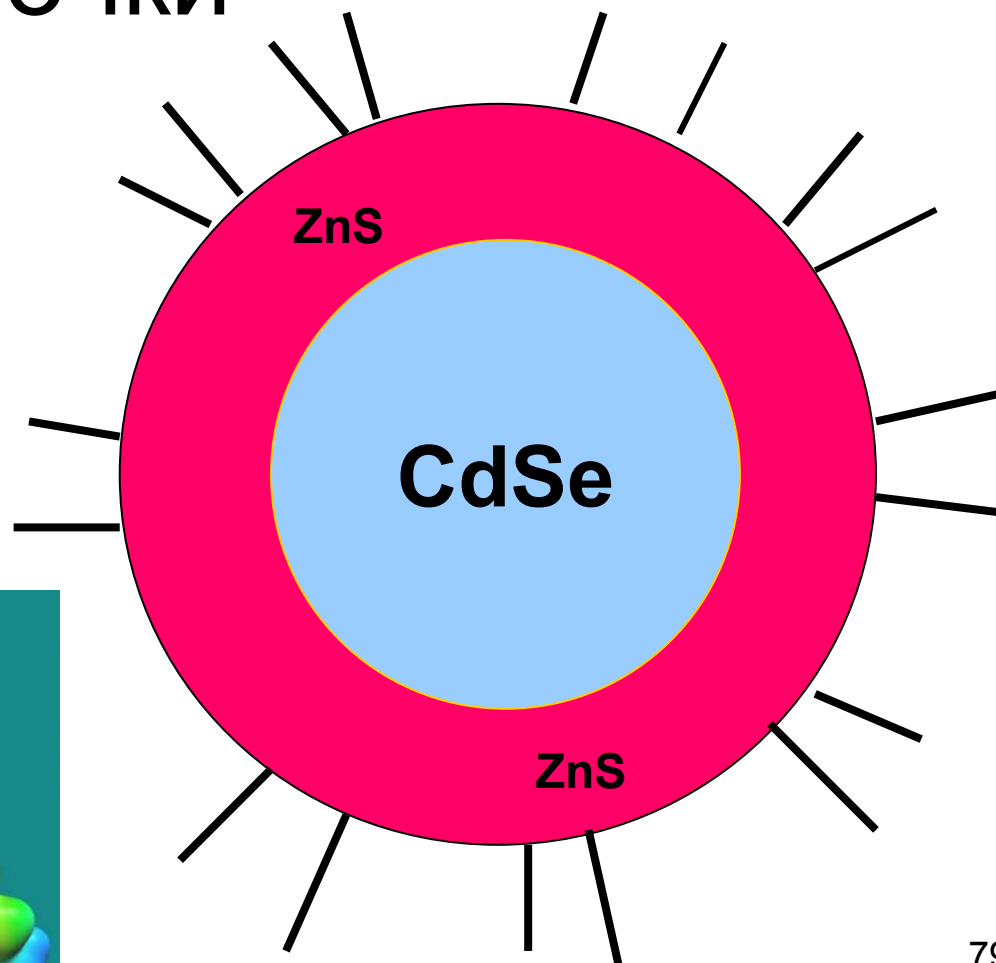
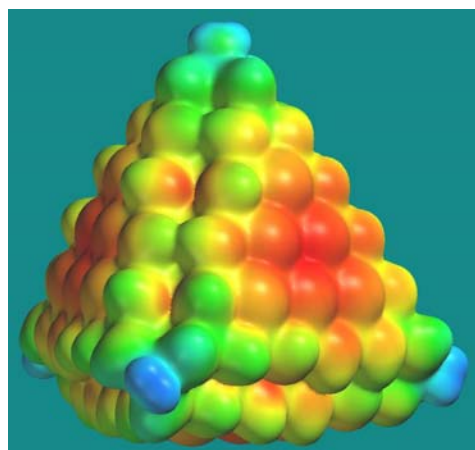
*В.А. Олейников, 2010
Обзорная статья*

Полупроводниковые наночастицы – квантовые



ТОЧКИ

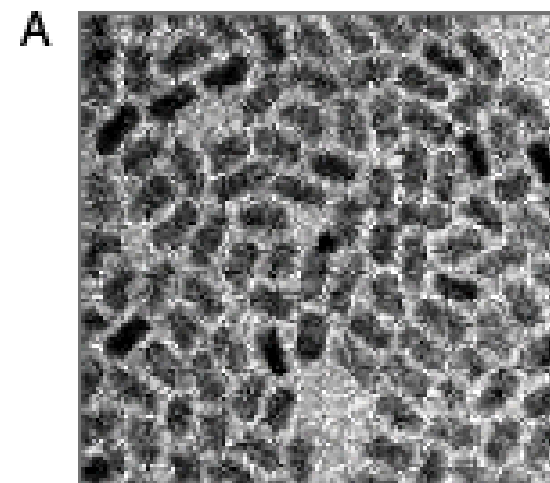
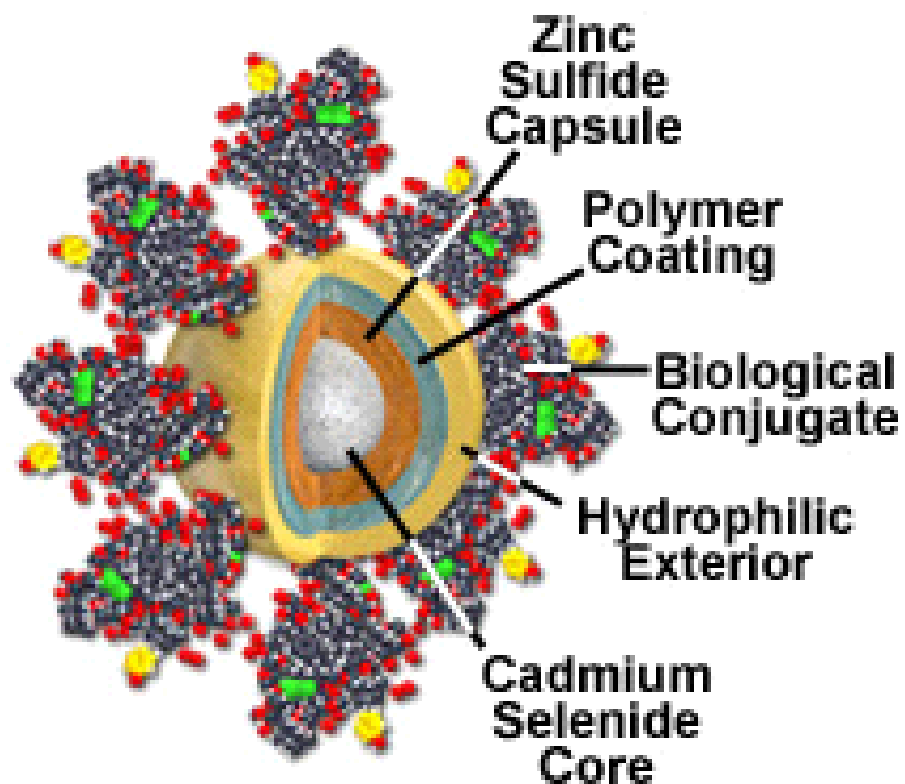
- **InAs**
- **CdS**
- **CdSe**
- **CdTe**





Квантовые точки

Quantum Dot Anatomy

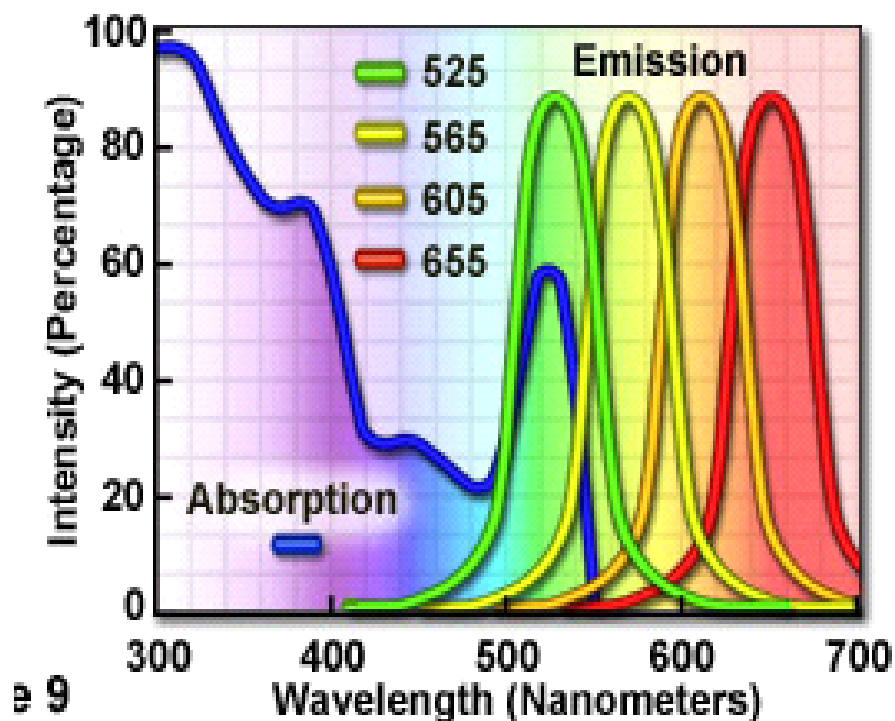


Figure

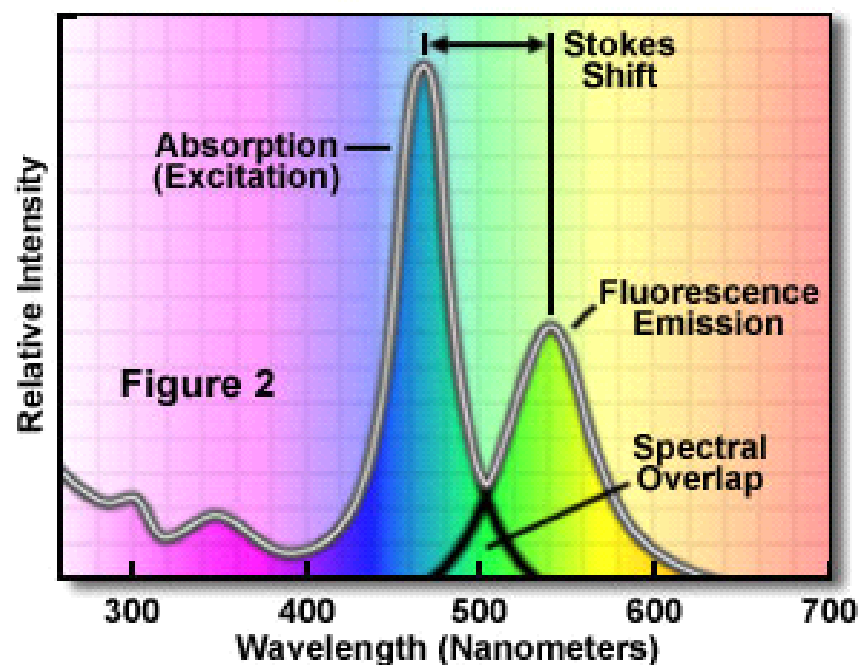
Флуоресценция квантовых точек и красителей



Quantum Dot Spectral Profiles



Excitation and Emission Spectral Profiles



Наноструктуры золота – плазмонный



резонанс

Н.Г. Хлебцов^{1,2}, В.А. Богатырев^{1,2}, Л.А. Дыкман¹, Б.Н. Хлебцов¹

¹ Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН,
410049, г. Саратов, просп. Энтузиастов, 13

² Саратовский государственный университет

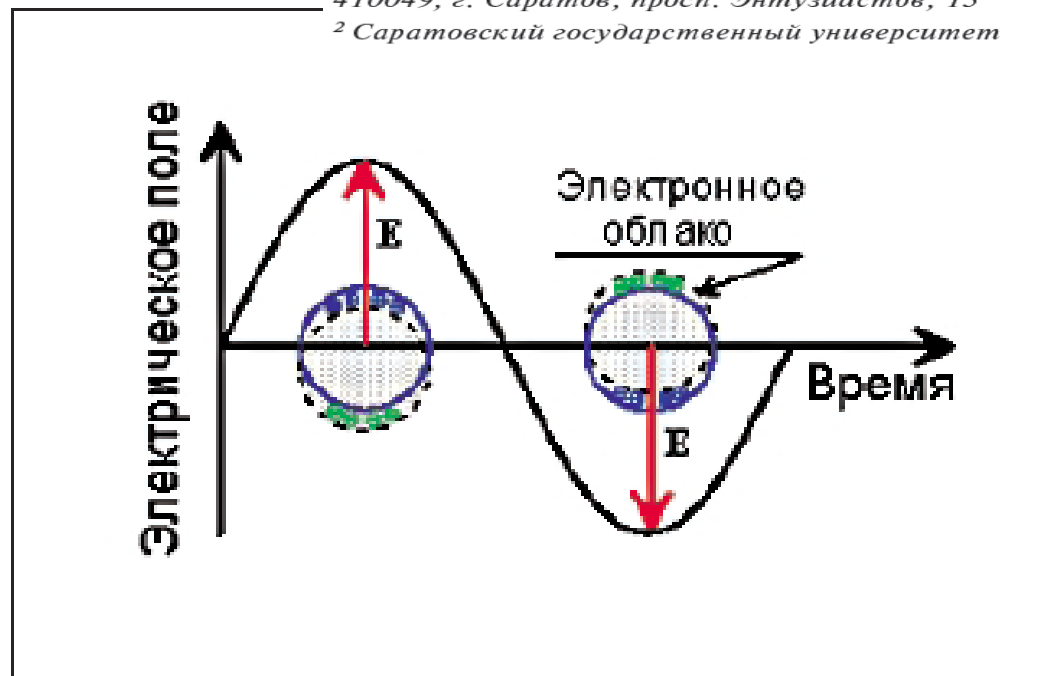


РИСУНОК 1 | Схематическое представление поверхностного плазмонного резонанса малой металлической частицы. Переменное электрическое поле вызывает когерентные колебания электронного облака около положения равновесия благодаря возвращающим силам нескомпенсированных зарядов на поверхности.

Наноструктуры золота – плазмонный резонанс



Н.Г. Хлебцов^{1,2}, В.А. Богатырев^{1,2}, Л.А. Дыкман¹, Б.Н. Хлебцов¹

¹ Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН,
410049, г. Саратов, просп. Энтузиастов, 13

² Саратовский государственный университет

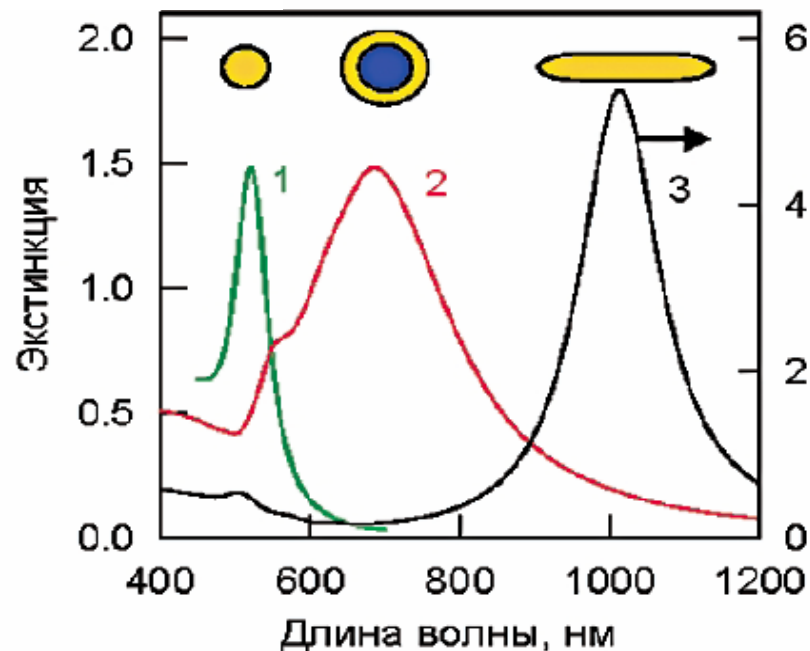
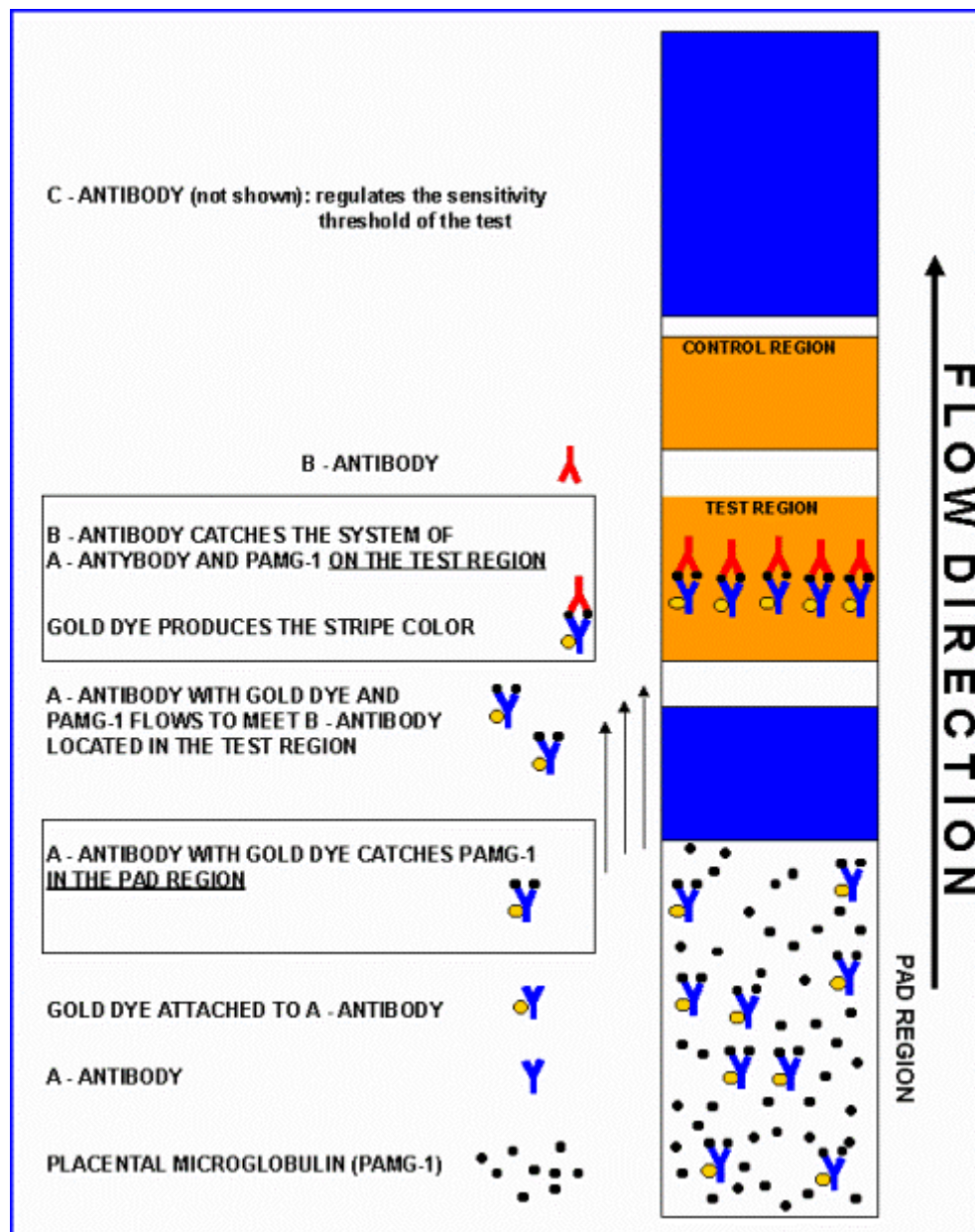


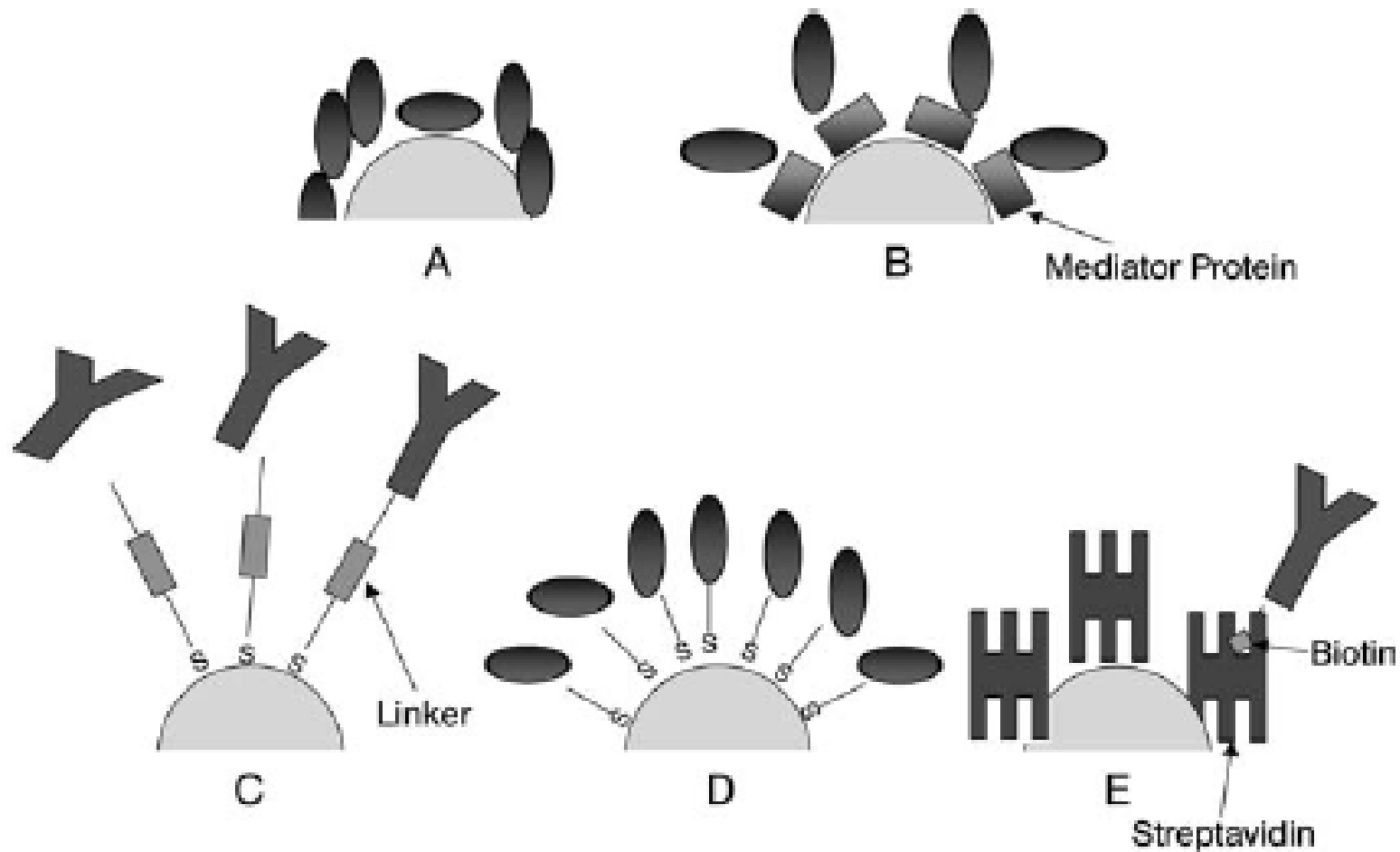
РИСУНОК 2 | Теоретические спектры оптической плотности водных коллоидных растворов золотых наносфер (1, диаметр 40 нм), оболочечек (2, диаметр ядра SiO_2 100 нм, толщина золота 20 нм) и золотых наностержней (3, эквивалентный диаметр 20 нм, отношение осей 6, хаотическая ориентация). Концентрация золота равна 57 мкг/мл, толщина слоя 1 см. Максимумы оптической плотности обусловлены доминирующими дипольными резонансами 520 (1), 685 (2) и 1010 (3, продольный резонанс). Для оболочечек видно квадрупольное плечо около 580 нм, правая ось ординат для наностержней увеличена в 3 раза.



Иммунохроматография



Стратегия получения конъюгатов наночастиц и биомолекул



Спектроскопия комбинационного рассеяния света («рамановская» спектроскопия)



- Комбинационное рассеяние света (КРС) – рассеяние в газах, жидкостях и кристаллах, сопровождающееся заметным изменением частоты.
- В отличие от рэлеевского рассеяния света, при КРС в спектре рассеянного излучения наблюдаются спектральные линии, отсутствующие в линейчатом спектре первичного (возбуждающего) света.
- Число и расположение появляющихся линий (называемых комбинационными линиями или спутниками) определяется молекулярным строением вещества.



КРС было открыто Г. С. Ландсбергом и Л. И. Мандельштамом в 1928 г. при исследовании рассеяния света в кристаллах и одновременно Ч. В. Раманом и К. С. Кришнаном при исследовании рассеяния света в жидкостях



Ч. В. Раман

К. С. Кришнан

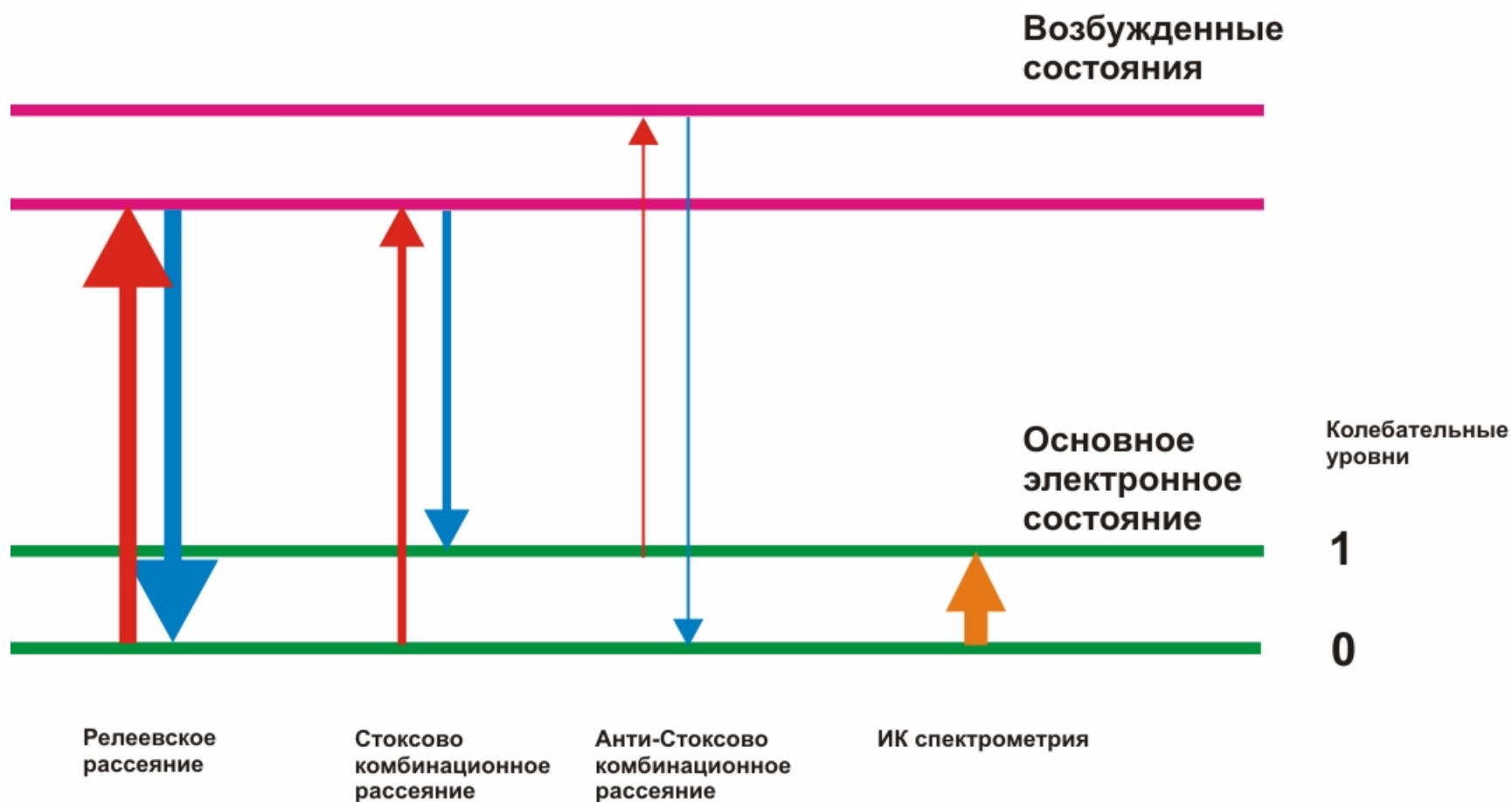
Г. С. Ландсберг

Л. И.

Мандельштам



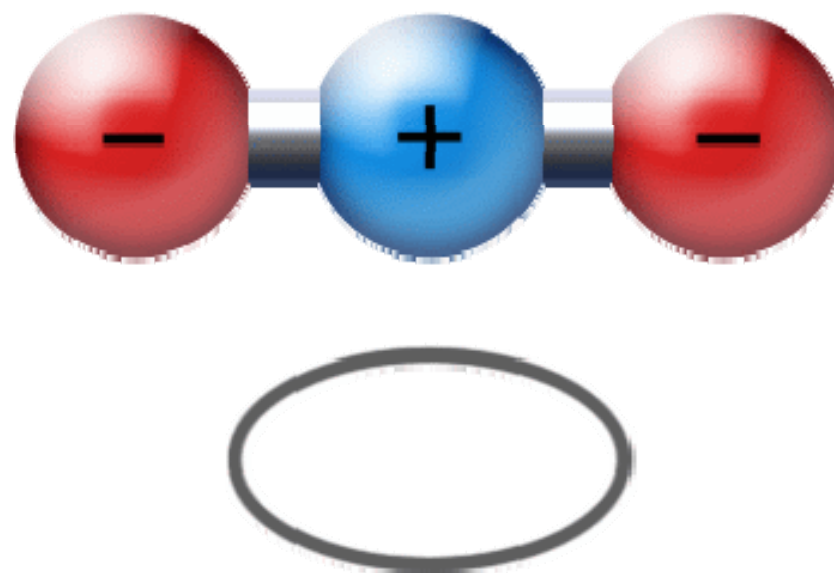
Схема процессов при взаимодействии излучения с веществом





Какие колебания видны?

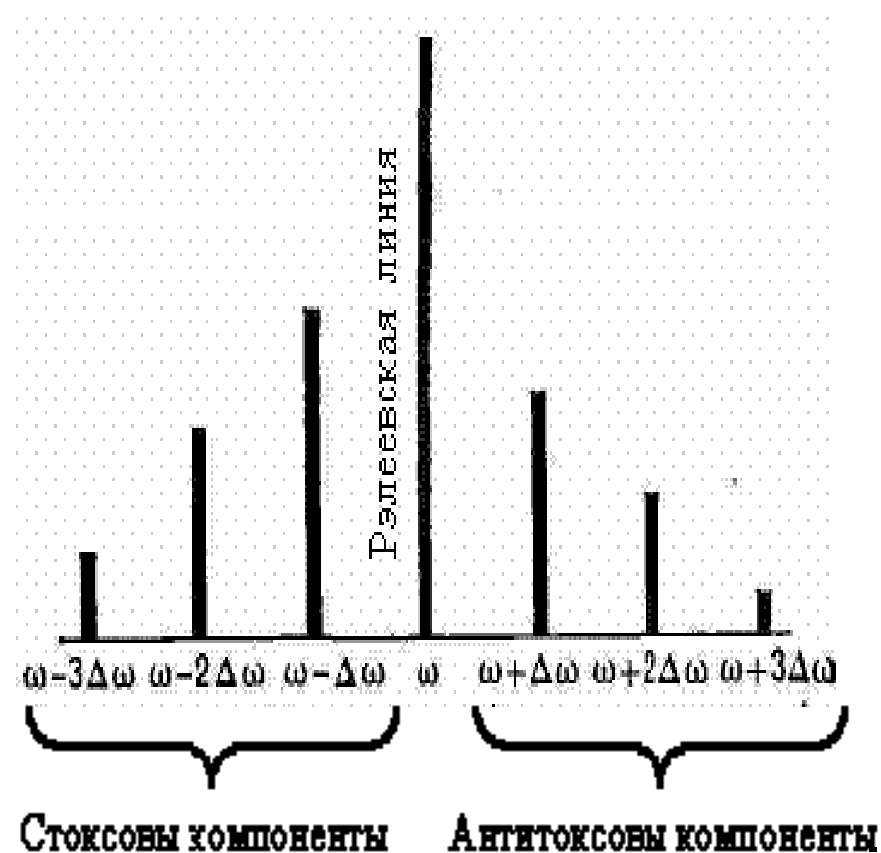
- Это колебание полностью симметричное и сохраняет все виды симметрии, имеющиеся в этой молекуле. Поскольку молекула имеет центр симметрии, то ее дипольный момент равен нулю, а следовательно, не может излучать (поглощать) инфракрасное излучение соответствующей частоты (в дипольном приближении).
- В спектре комбинационного рассеяния это колебание, напротив, наблюдается (говорят, что колебание «активно»), поскольку при таком колебании изменяется расстояние между атомами, а значит, сильно изменяется поле, в котором находятся валентные электроны молекулы, и, как следствие, изменяется поляризуемость молекулы.





Теория эффекта КРС

- Интенсивность линий КРС в большинстве случаев весьма мала, причём при обычных температурах интенсивность антистоксовых линий $I_{аст}$, как правило, значительно меньше интенсивности стоксовых линий $I_{ст}$.
- Поскольку вероятность рассеяния пропорциональна числу рассеивающих молекул, то отношение $I_{аст}/I_{ст}$ определяется отношением населённостей основного и возбуждённого уровней.
- При обычных температурах населённость возбуждённых уровней невелика и, следовательно, интенсивность антистоксовой компоненты мала. С повышением температуры их населённость возрастает, что приводит к увеличению интенсивности антистоксовых линий.



Теория эффекта КРС



- Интенсивности линий спектров КРС чрезвычайно слаба и составляет примерно 10^{-5} , 10^{-6} интенсивности рассеиваемой рэлеевской компоненты падающей световой волны.

Чувствительность – одна из 10^{11} молекул

- Поэтому для наблюдения спектров КРС необходимо сконцентрировать интенсивный пучок света на изучаемом объекте.
- В качестве источника возбуждающего света чаще всего применяют ртутную лампу, а с 60-х гг. прошлого столетия — лазерный луч. Рассеянный свет фокусируется и попадает в спектрограф, где спектр КРС регистрируется фотографическим или фотоэлектрическим методами.

Гигантские нелинейно-оптические явления на поверхности металлов



- В 1974 году в работе Флейшмана и соавторов было показано, что эффективность получения спектров комбинационного рассеяния может быть повышена в миллионны раз и более при адсорбции анализируемого соединения на поверхности наночастиц металлов.
- Это явление получило название **Surface-enhanced Raman Scattering (SERS)**.
- Fleischmann M, Hendra PJ, McQuillan AJ. Raman Spectra of Pyridine Adsorbed at a Silver Electrode. Chemical Physics Letters, 1974; 26(2), 163-6.



ГКР (SERS)

- Существенное усиление сигнала (в 10^4 – 10^6 обычно, 10^8 – 10^{14} иногда) сигнала при адсорбции вещества на поверхности.
- Электромагнитное усиление (ЕМЕ).
- Химическое усиление (СЕ).
- Наночастицы металлов – Au, Ag, Cu, Li, Na, K.
Плохо – Pt, Pd.

SERS

(демонстрация LSPR)

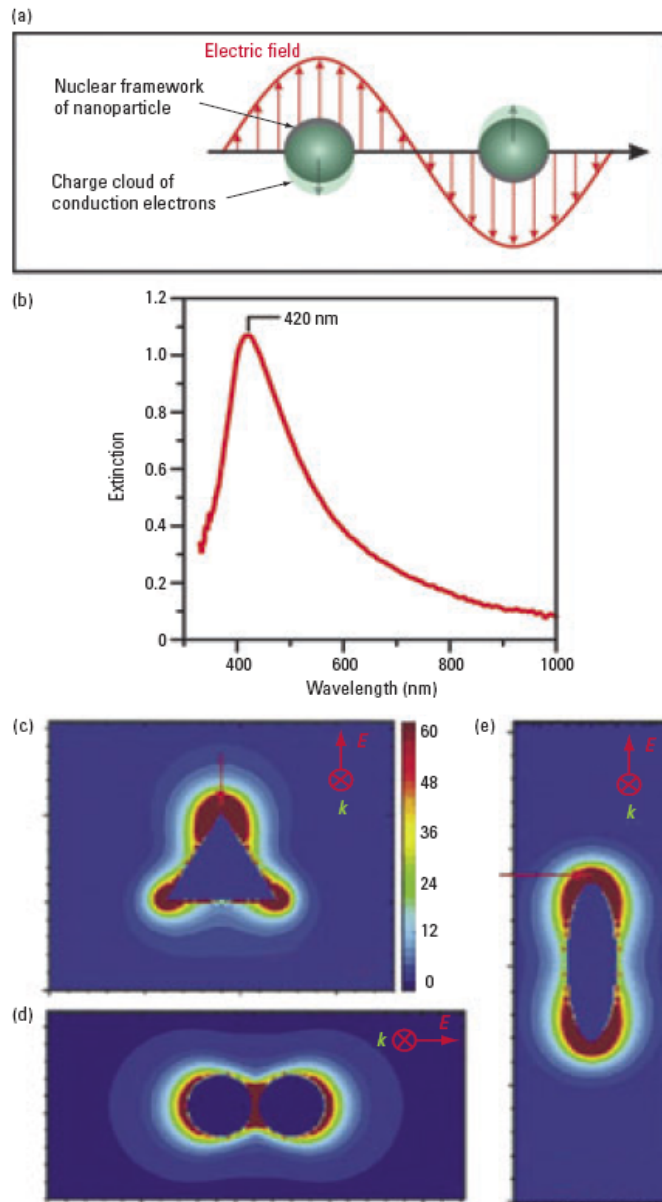


FIGURE 1. SERS phenomenon.

(a) Illustration of the excitation of the LSPRs of a spherical nanoparticle by incident electromagnetic radiation. (b) Extinction spectrum of citrate-reduced silver colloids. The peak indicates the excitation of the LSPR. Theoretical simulations of the electromagnetic field enhancement around silver nanoparticles of (c) a triangular nanoparticle (700 nm), (d) a dimer of spherical nanoparticles (520 nm), and (e) an ellipsoidal nanoparticle (695 nm). The intensity scale for (c) also applies to (d). (Adapted with permission from Ref. 23.)

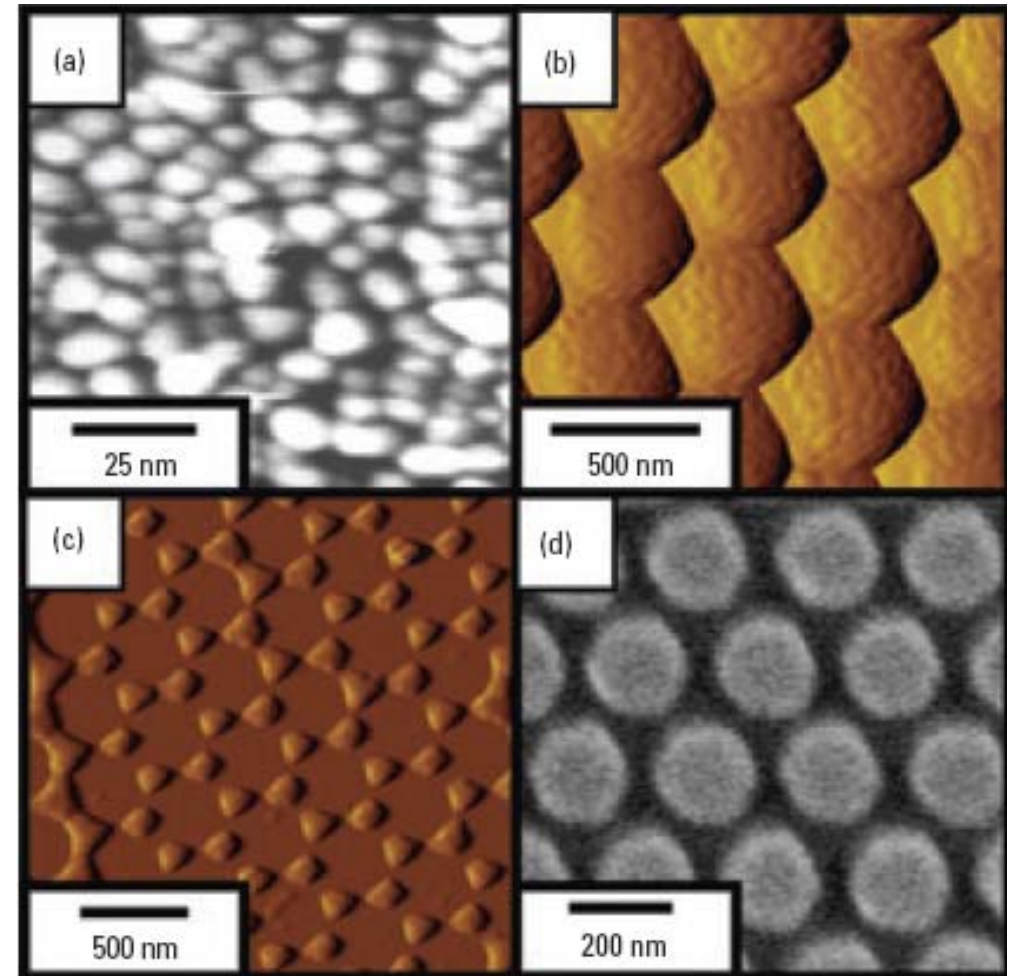
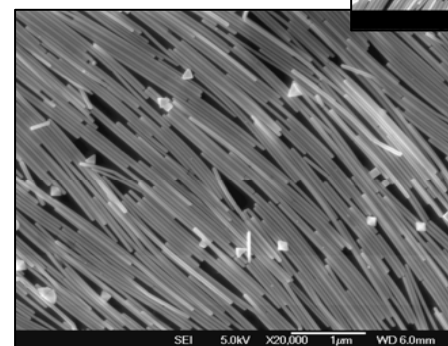
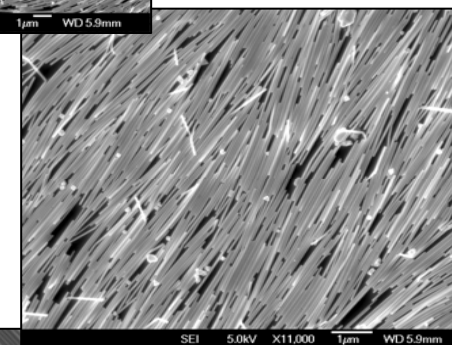
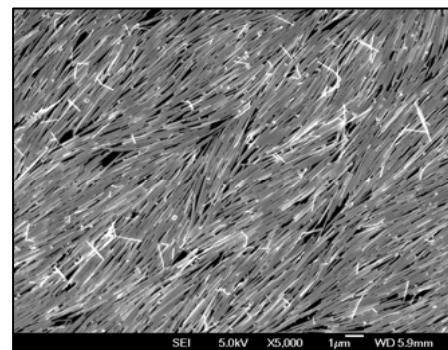
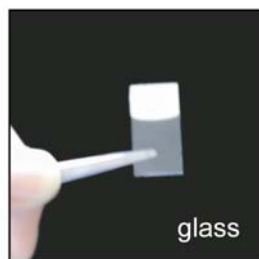


FIGURE 2. Sample substrates.

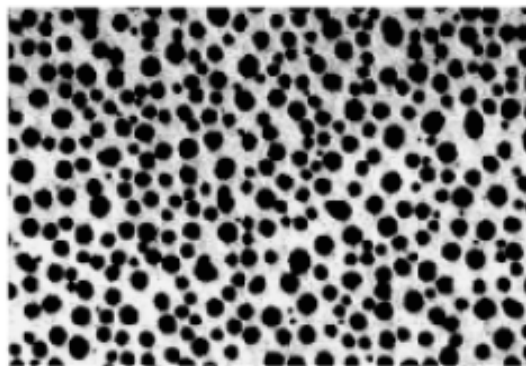
(a) Metal island film, (b) metal film over nanospheres, (c) triangular nanoparticle array fabricated with nanosphere lithography, and (d) cylindrical nanoparticle array fabricated with electron-beam lithography.

Монослои наностержней серебра

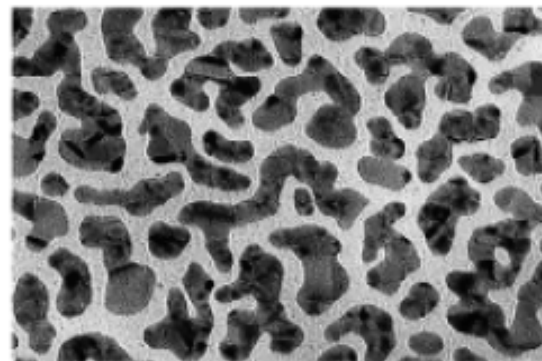


A. Tao, F. Kim, C. Hess, P. Yang. *Nano Lett.* **3**, 1229 (2003).

Полунепрерывные плёнки

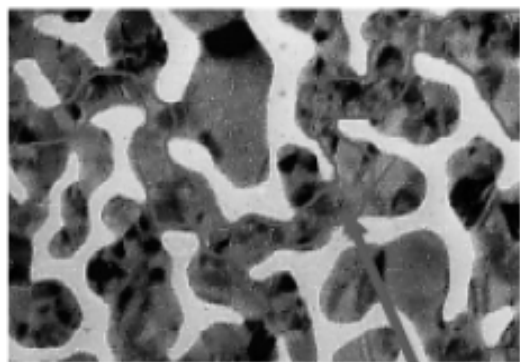


Equivalent Mass thickness ~ 20 Å



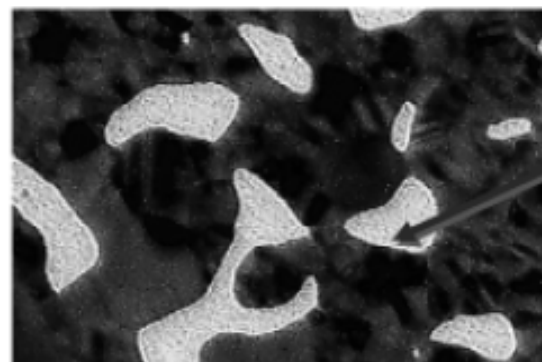
45 Å

↔
50 nm



65 Å

Percolation threshold



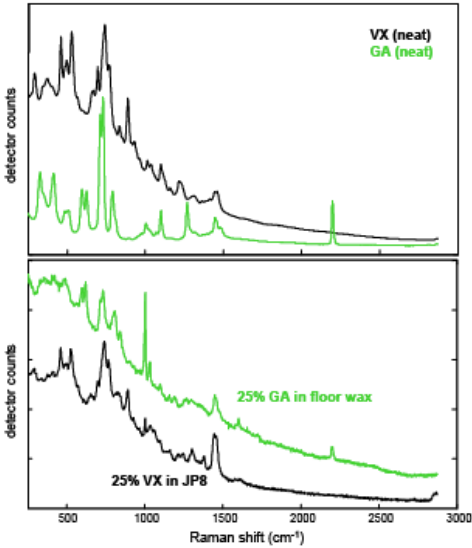
106 Å

glass

Портативные КР-приборы для определения ОВ



Parameter	Specification
Monochromator Spectral Range	781 nm-1014 nm
Raman Spectrum Range	250 cm^{-1} to 2875 cm^{-1}
Spectral Resolution	7 to 10 cm^{-1} (FWHM) across range
Laser (excitation wavelength)	785 nm +/- 0.5 nm (<2 cm^{-1} line width)
Laser Output	Settable, 30 mW, 100 mW, 300 mW
Rayleigh Rejection Filters	OD 7
Detector	Silicon CCD 2048 Pixels; TEC Cooled
Detection Mode	Direct Dispersive
Dispersion Mode	Single Pass Spectrometer (1200 groove/mm Blazed @ 900 nm)
Collection Optics	NA = 0.2



Examples of Spectral Data Collected in the Course of FirstDefender Testing. Top: spectra of neat VX and GA that were added to the library on the handheld device. Bottom: spectra acquired in auto-exposure mode that were used for device performance testing.

SERS

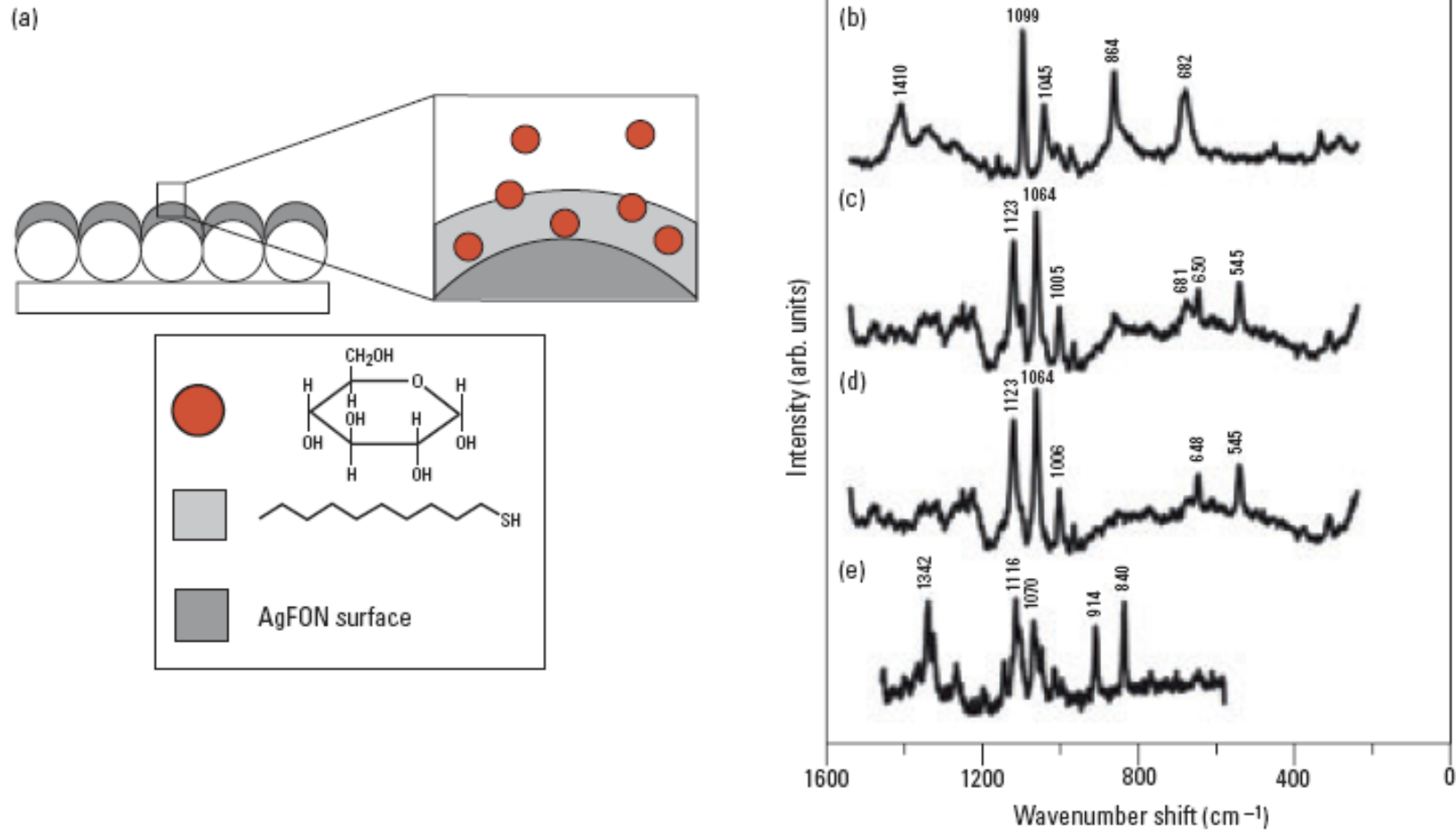


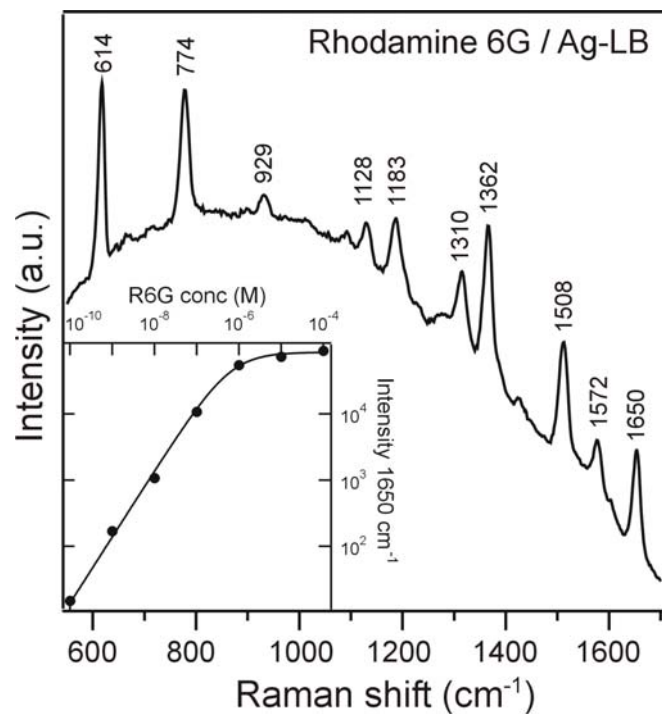
FIGURE 4. Prototype of an implantable glucose sensor.

(a) Schematic illustrating the use of a partition layer for detecting glucose. SER spectra of (b) a 1-decanethiol monolayer on a silver film over a nanosphere substrate and (c) the substrate during exposure to a 100-mM glucose solution. (d) The residual spectrum of glucose obtained by subtracting (b) from (c). (e) The normal Raman spectrum of crystalline glucose, for comparison. (Adapted from Ref. 7.)

Высокочувствительное и специфическое определения ВВ

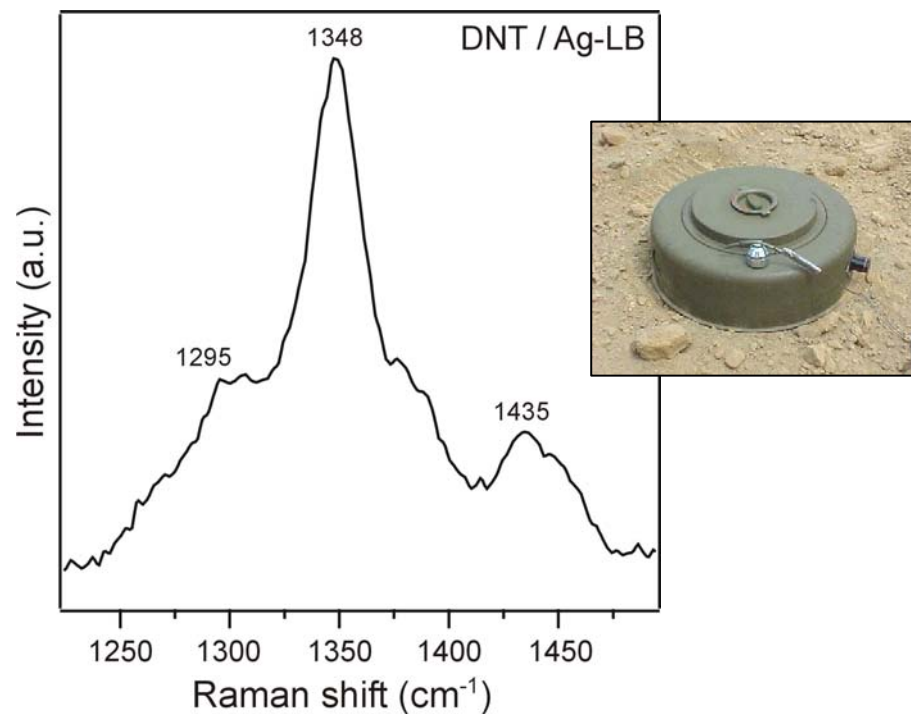


Dye detection



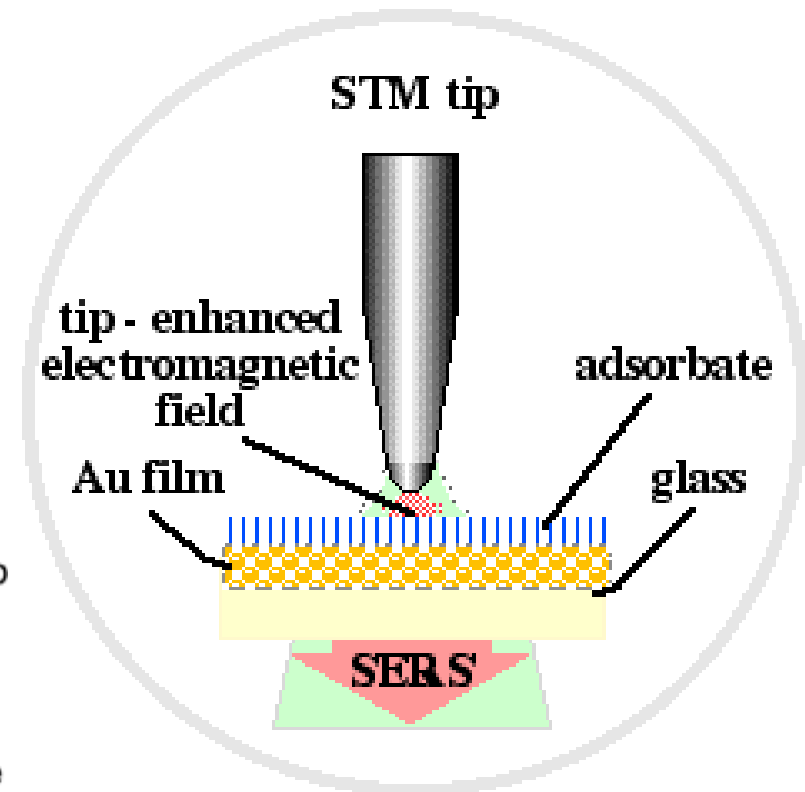
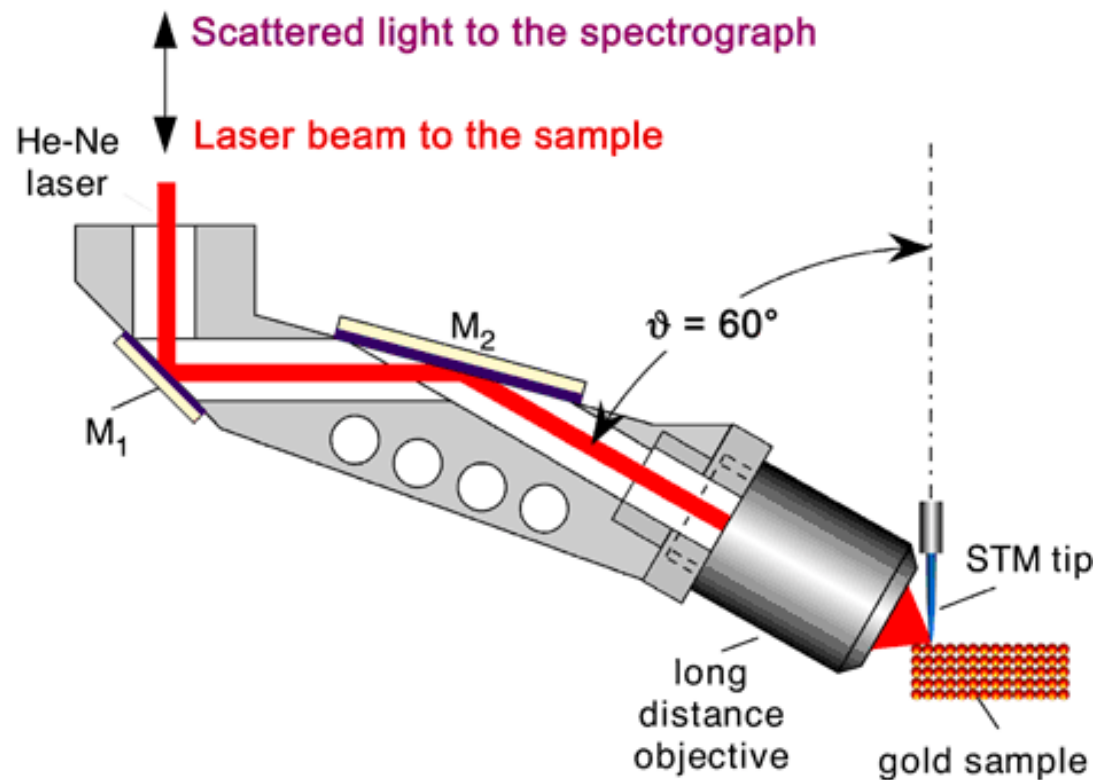
$$EF = 2 \times 10^9$$

Landmine detection



$$EF = 2 \times 10^5$$

Tip-Enhanced Raman Spectroscopy (TERS) – 2000 г.





TERS

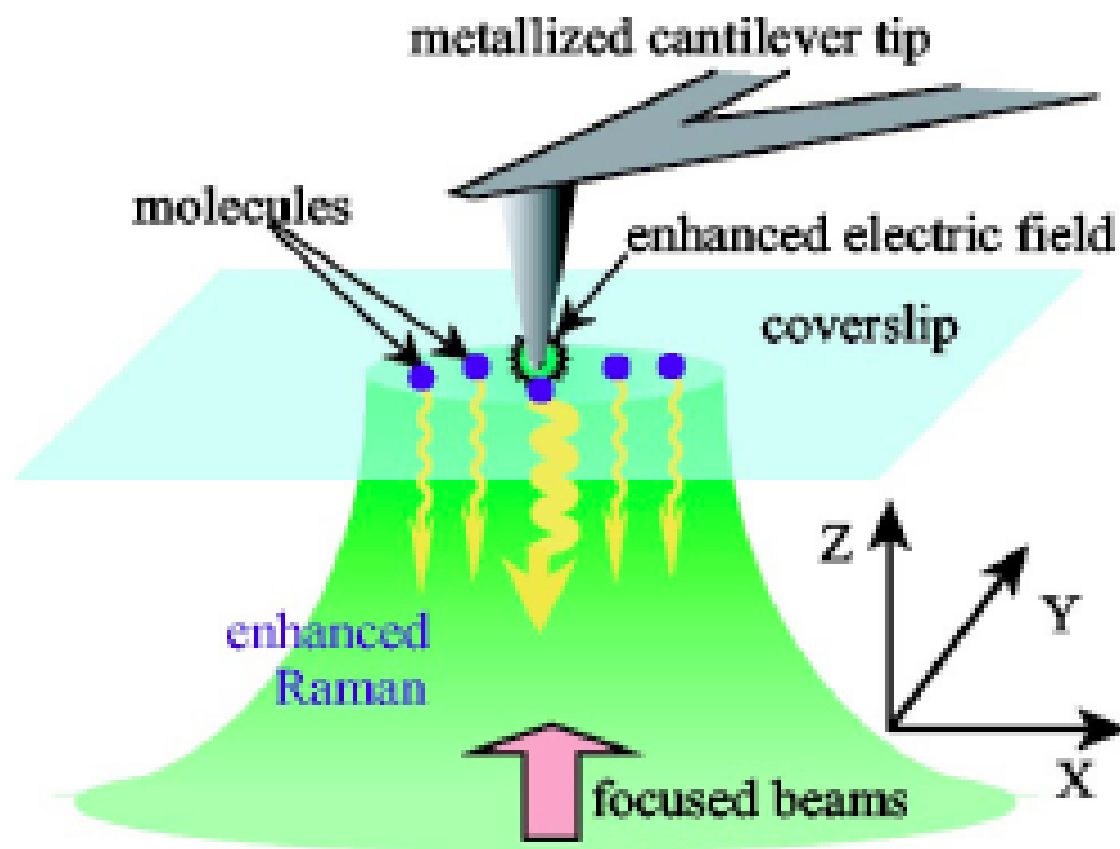
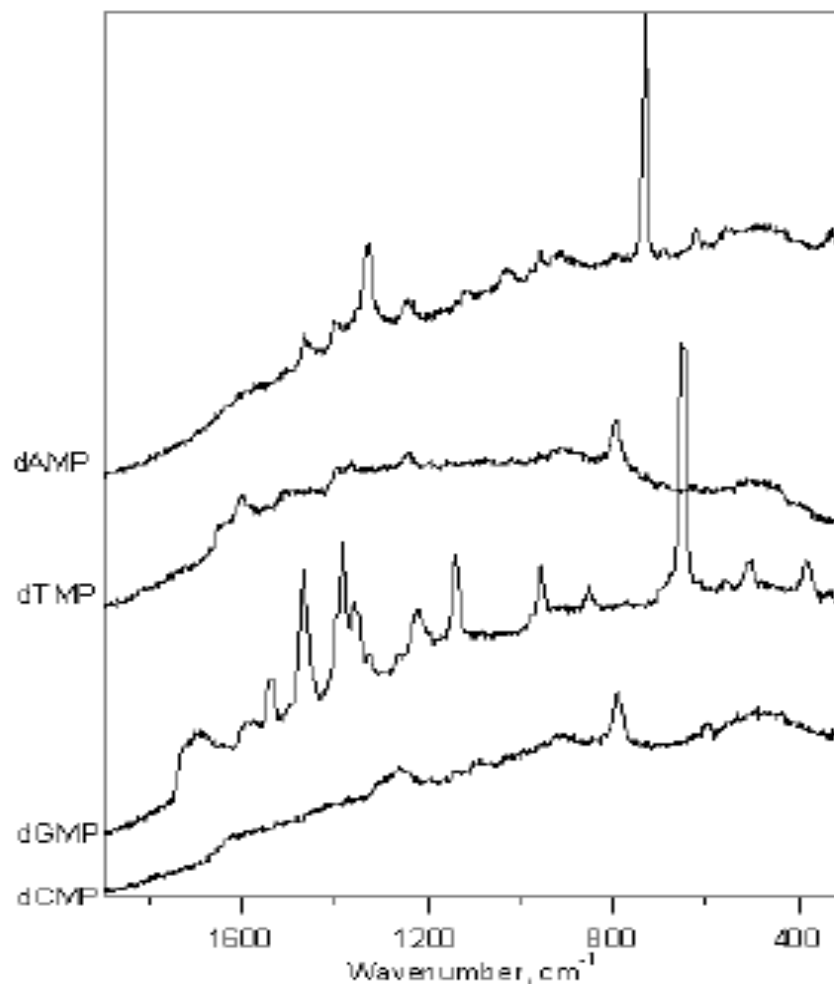


FIG. 1. Concept of tip-enhanced Raman spectroscopy.

TERS для определения единичных молекул ДНК

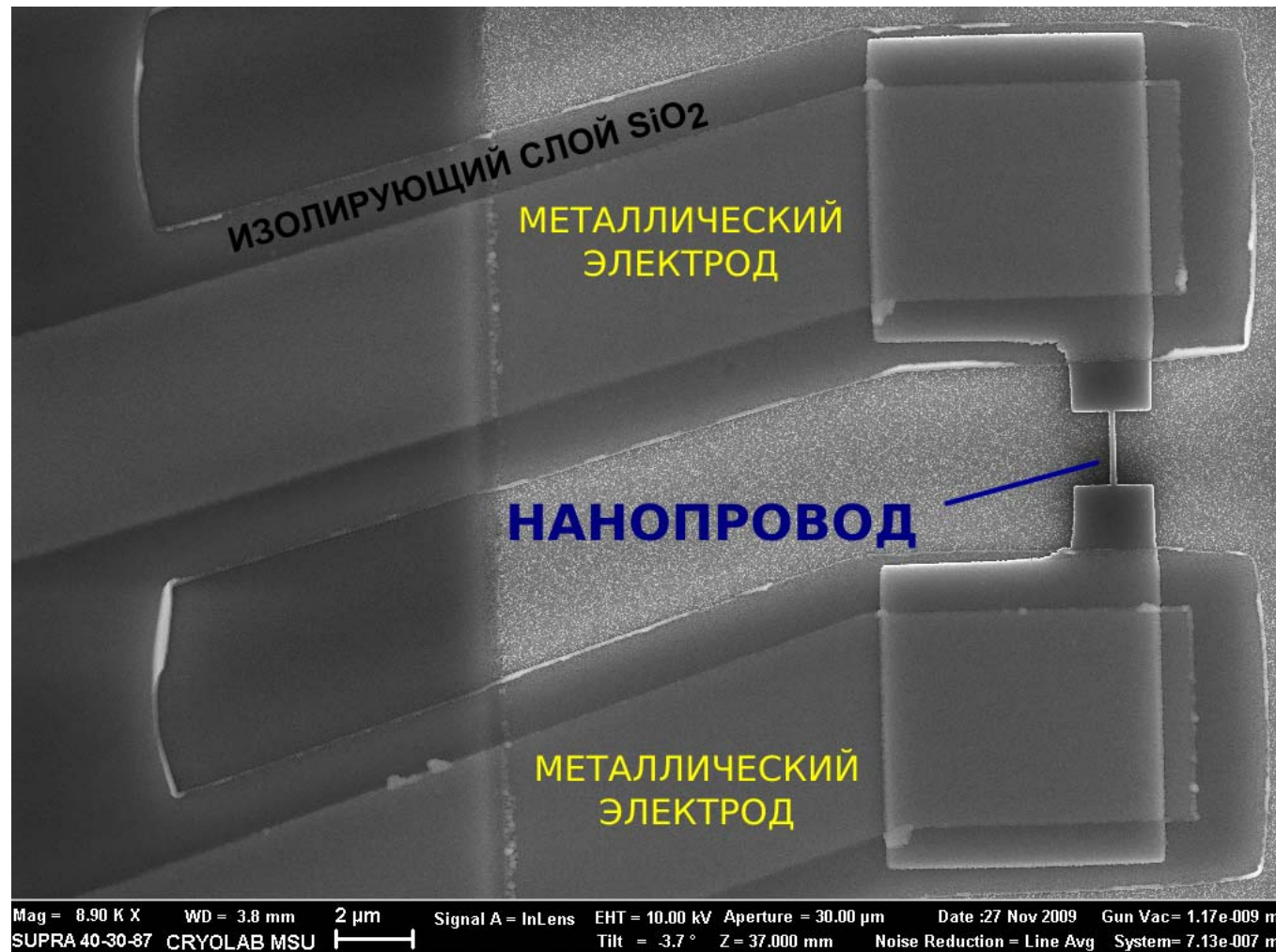


Surface Enhanced Raman Spectra of deoxynucleotides needed
as a reference for base pair recognition

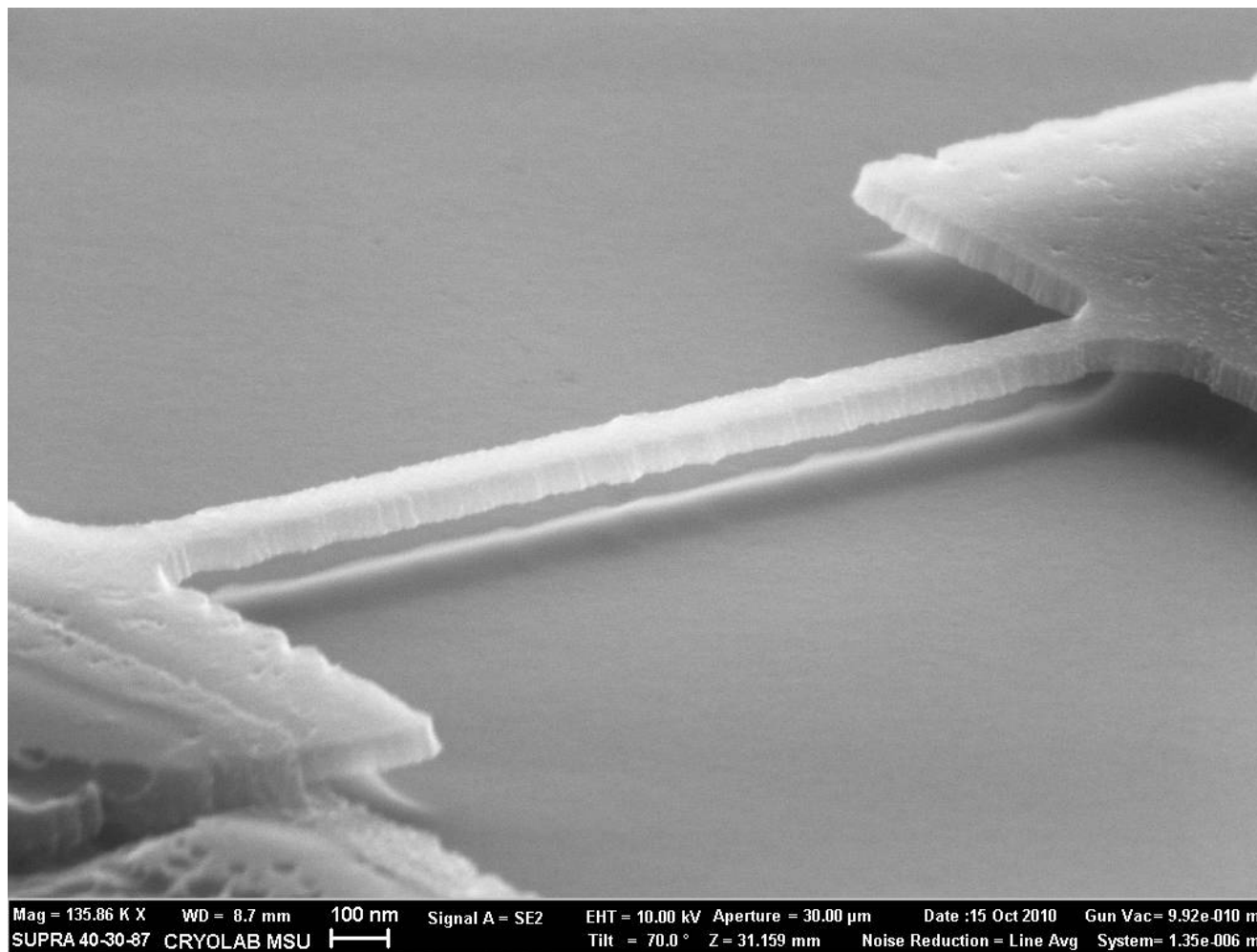
Структура нанотранзистора



(Лаборатория криоэлектроники,
Физфак МГУ имени М.В. Ломоносова)



Подвешенные структуры кремниевых нанопроводов (Лаборатория криоэлектроники, Физфак МГУ имени М.В. Ломоносова)



Подвешенные структуры кремниевых нанопроводов (Лаборатория криоэлектроники, Физфак МГУ имени М.В. Ломоносова)

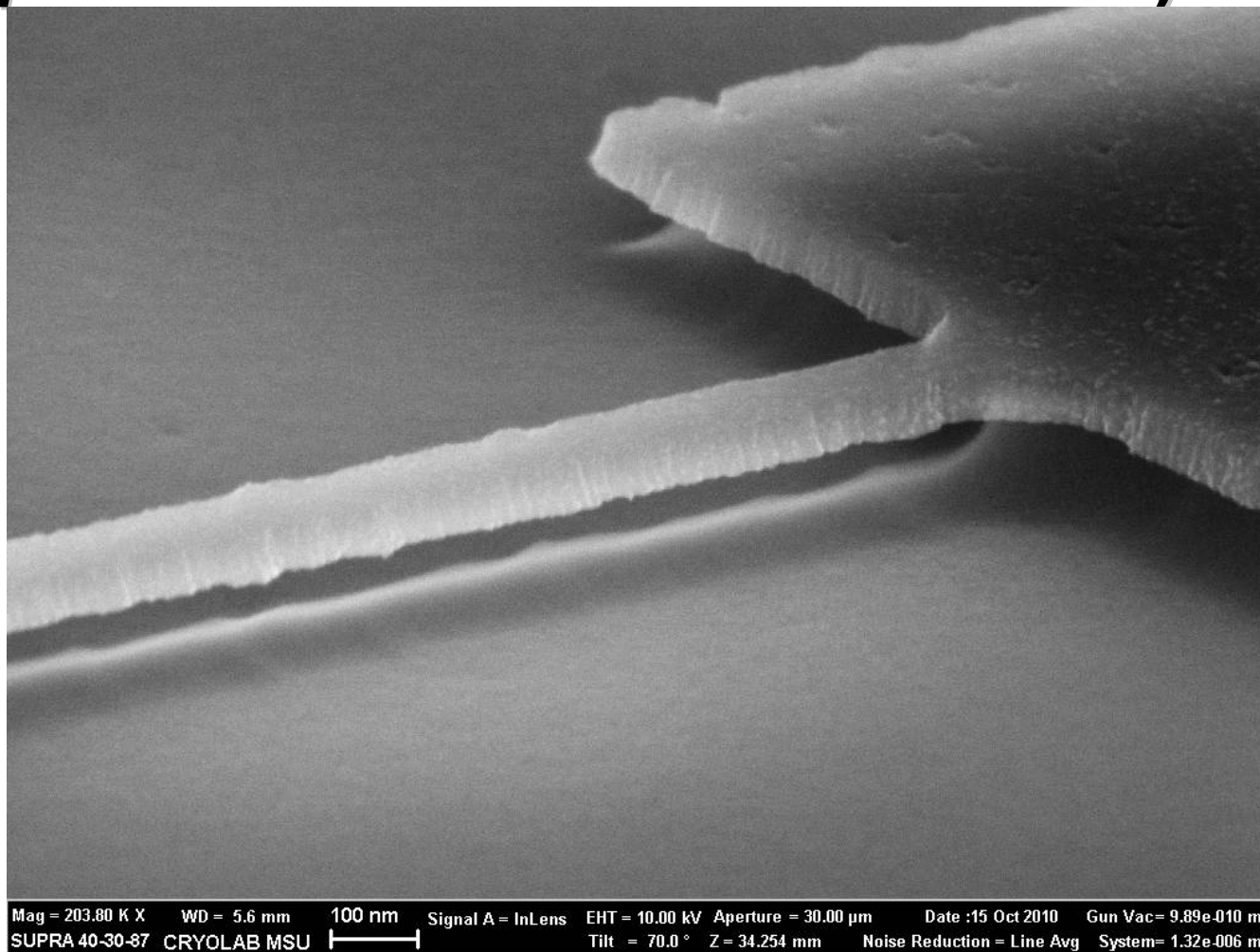
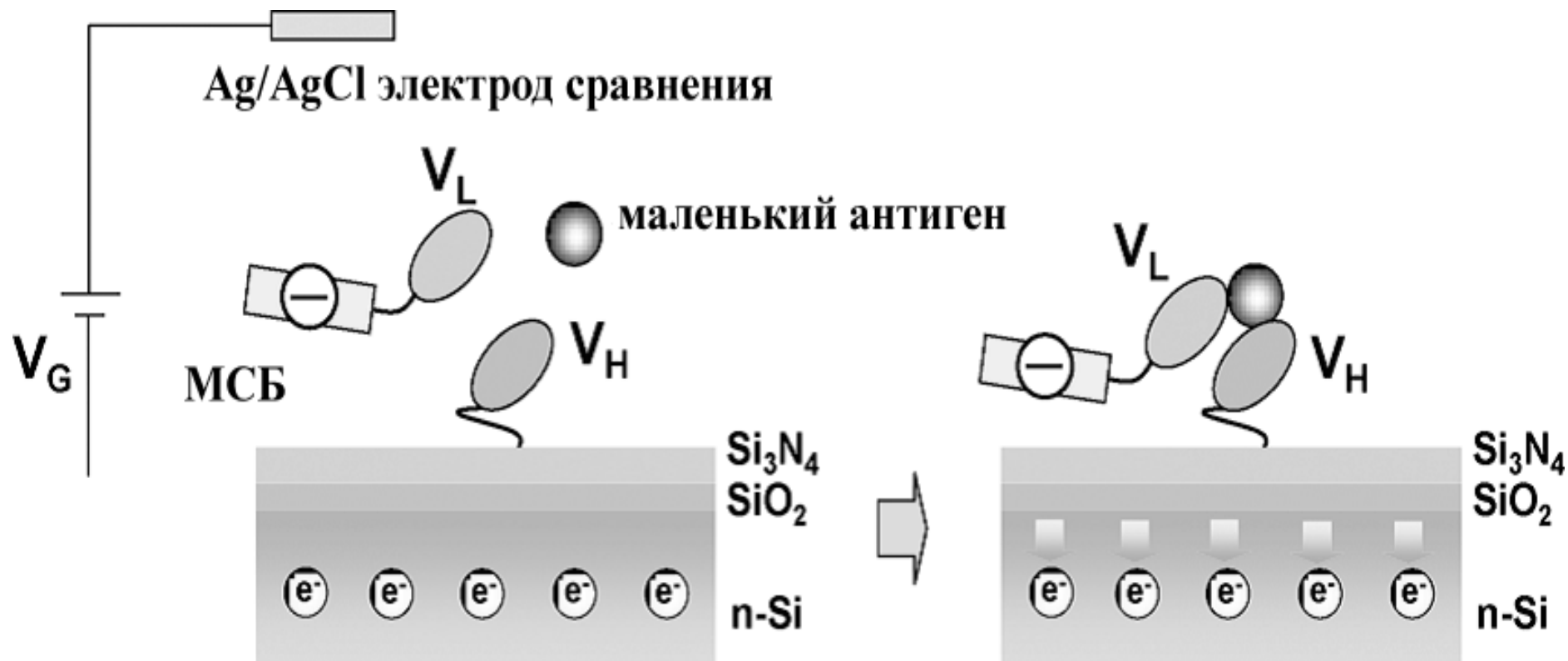




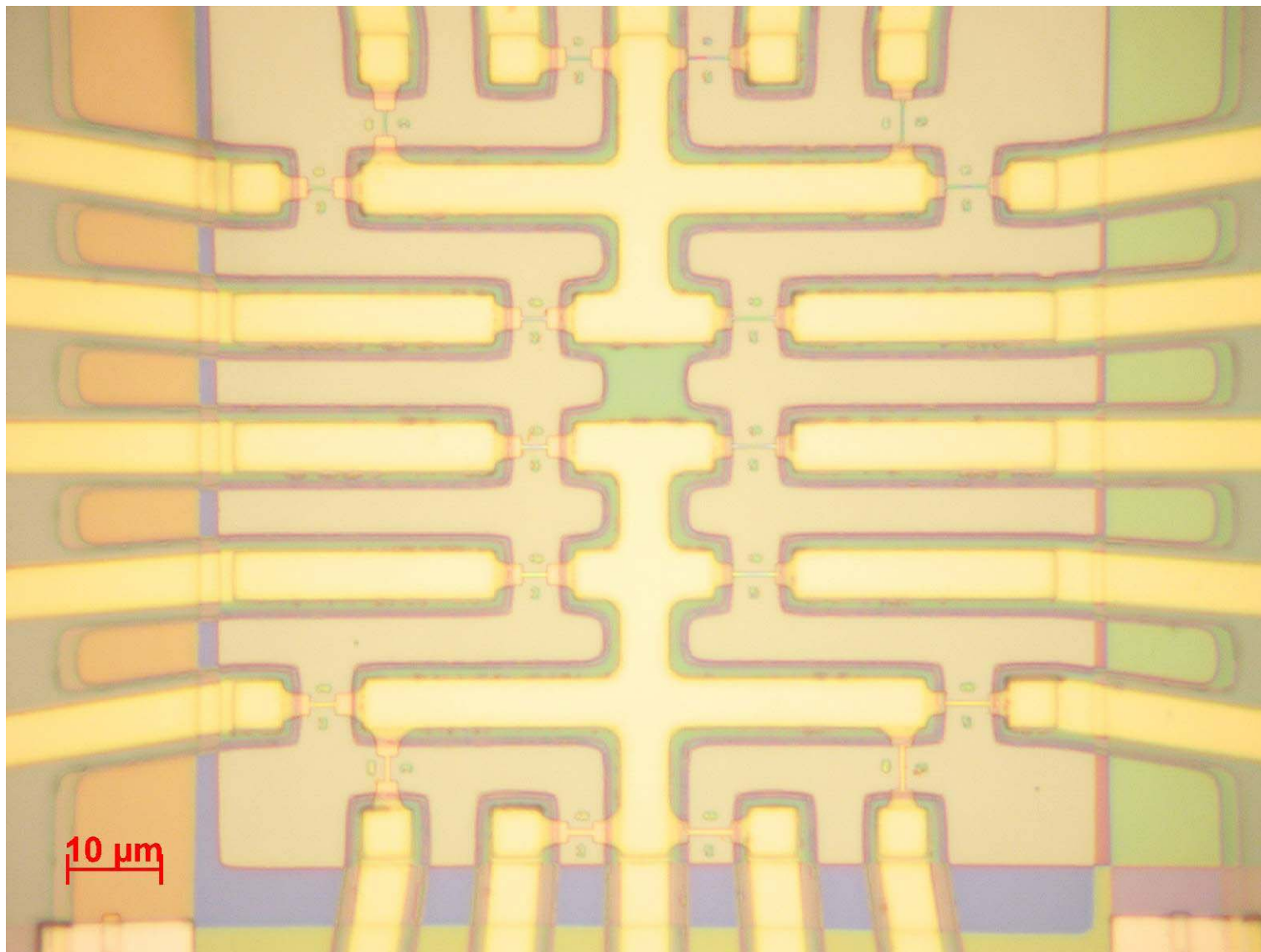
Схема работы нанотранзистора



Иммуноанализ на основе нанотранзистора



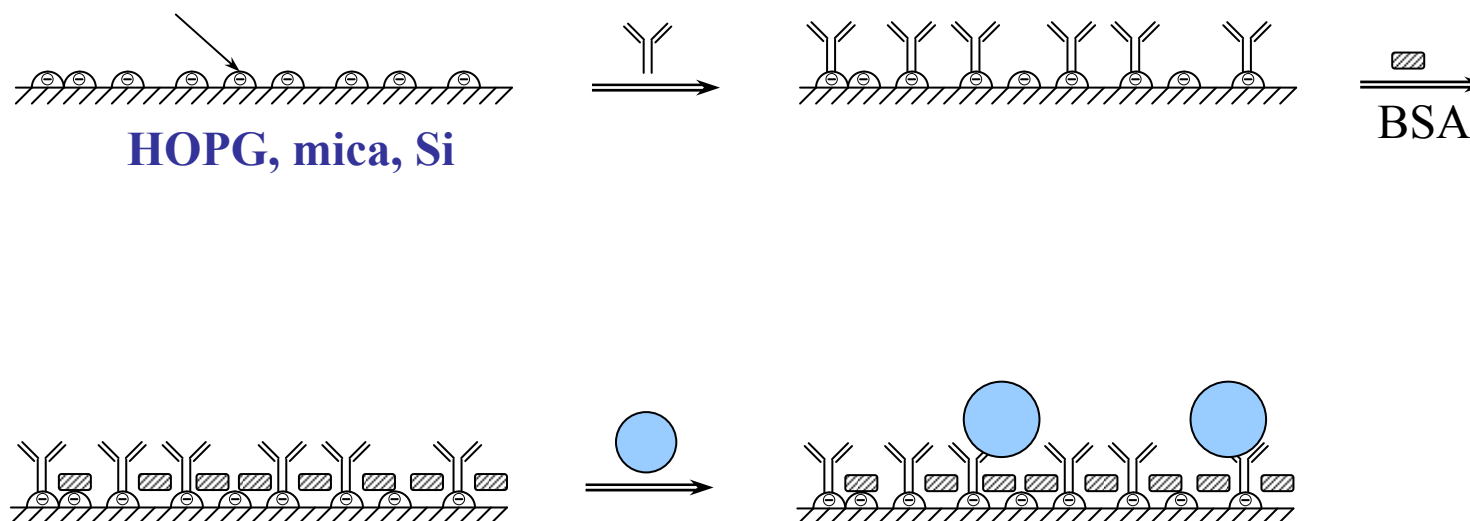
Матрица нанотранзисторов





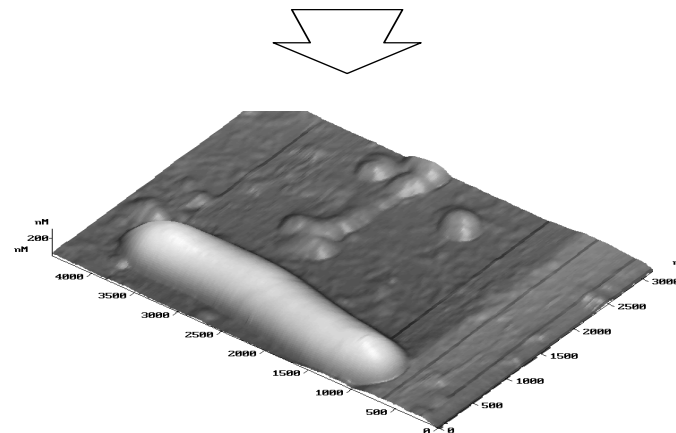
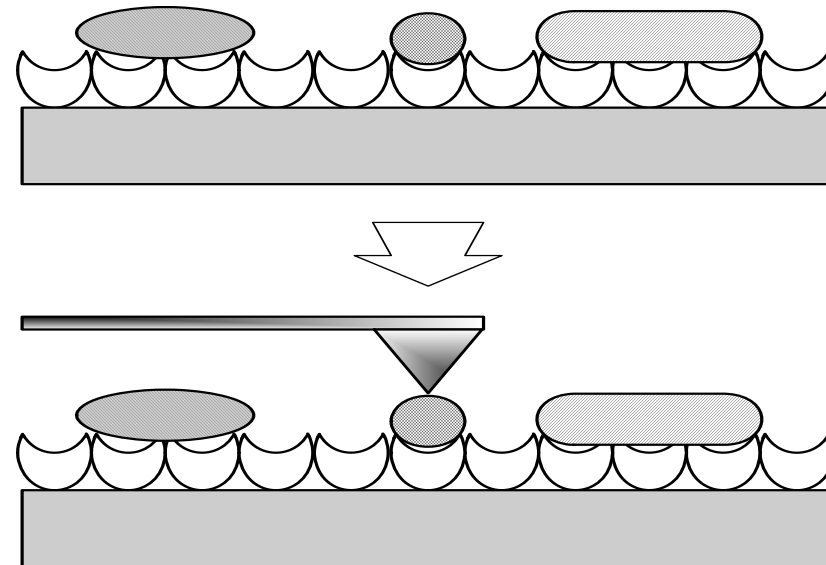
Биосенсорные системы на основе СЗМ для определения крупных белковых антигенов

Polyanion, polycation



Kurochkin I.N., Chernov S.F., Pavelev A.B. Biosensor system based on atomic force microscopy. // In: Materials of The 3-d world congress on biosensors. New Orleans. 1994.

Биосенсорные системы на основе СЗМ для определения крупных белковых антигенов



Определение единичных комплексов антиген-антитело: высокочувствительный анализ белковых антигенов методами зондовой микроскопии

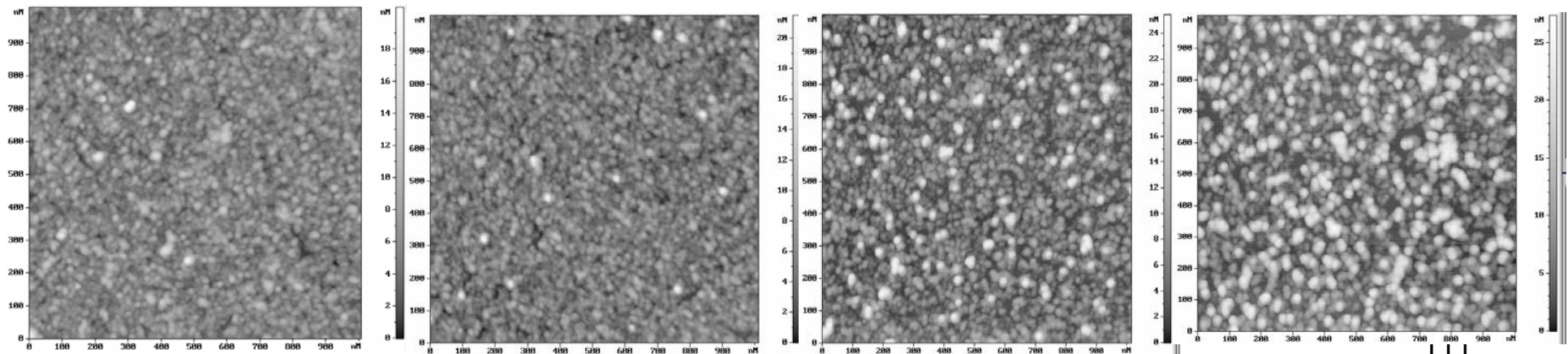
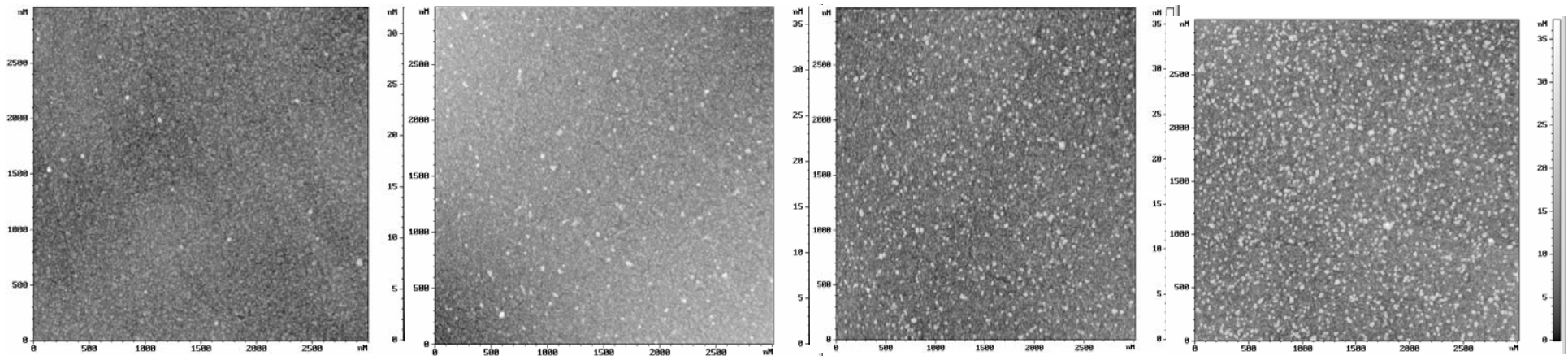


1,3 (фг)

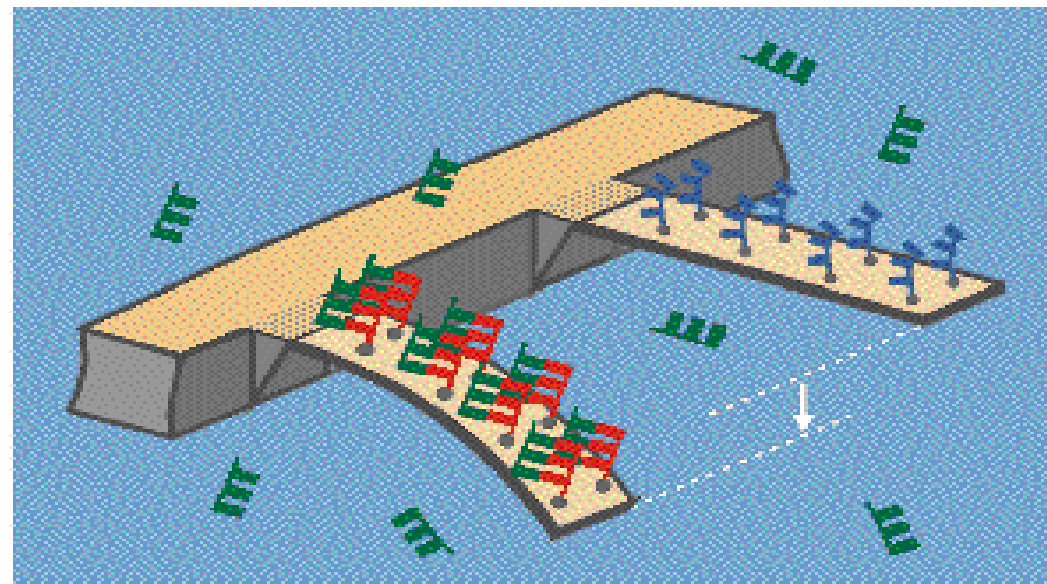
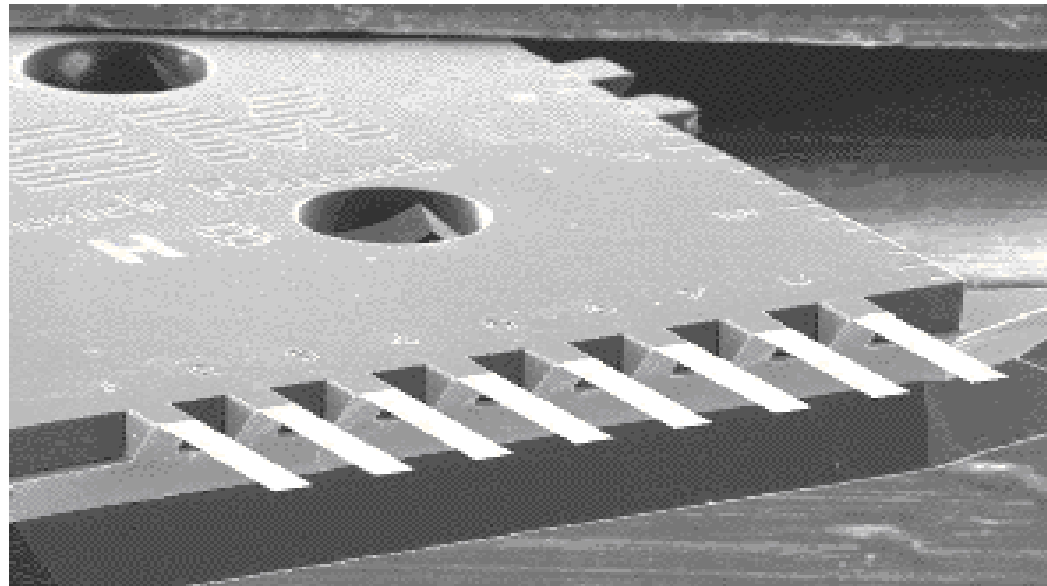
13

130

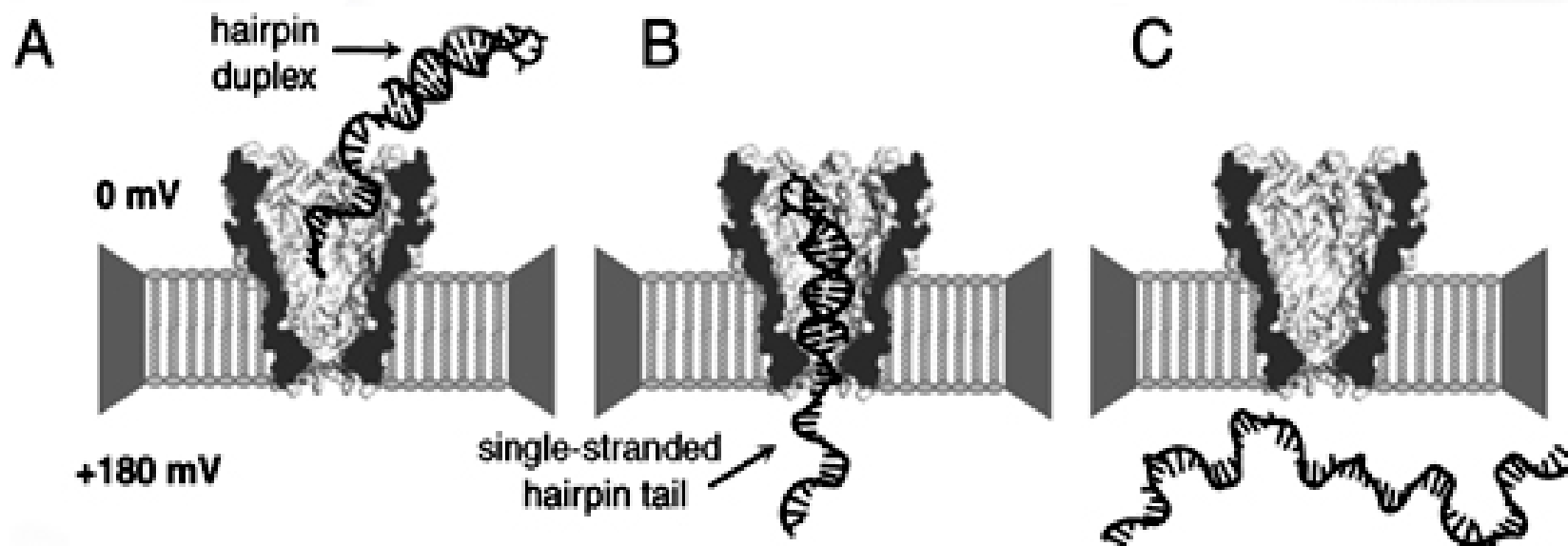
1300



Наномеханические сенсоры



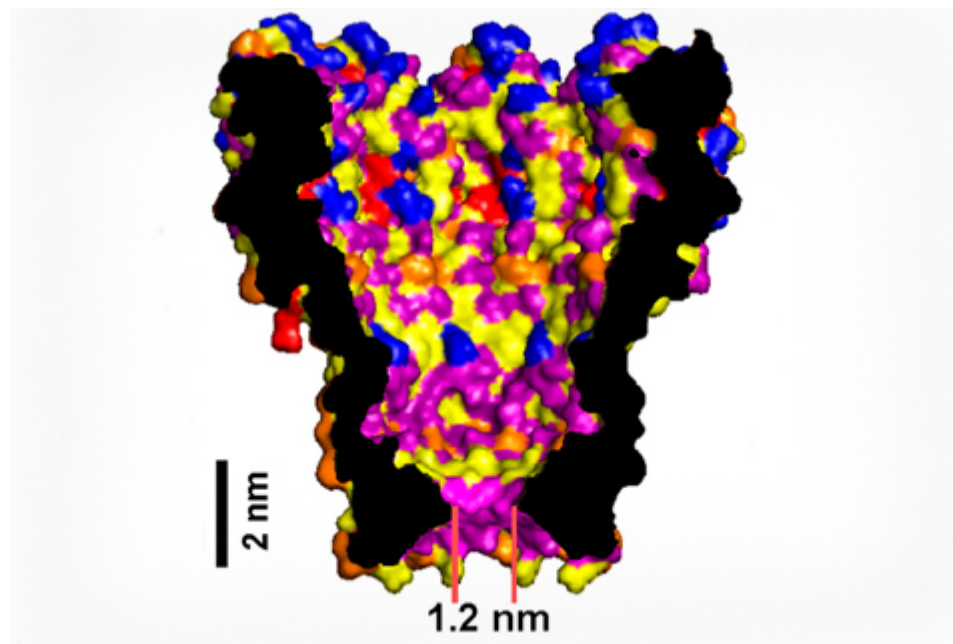
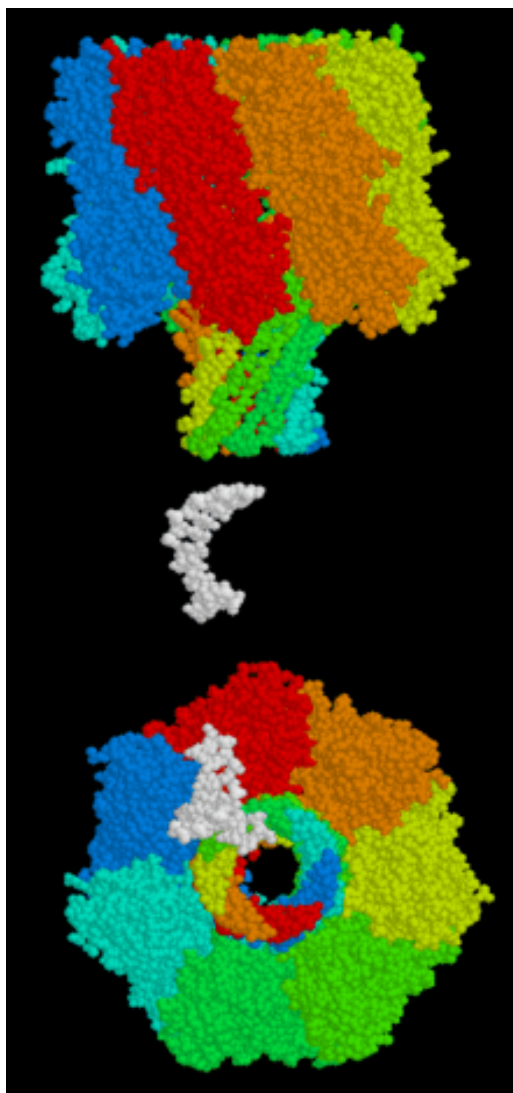
Прохождение цепочки ДНК через нанопору



Alpha-hemolysin pore (made up of 7 identical subunits in 7 colors) and 12-mer single-stranded DNA (in white) - 1 nm in internal diameter

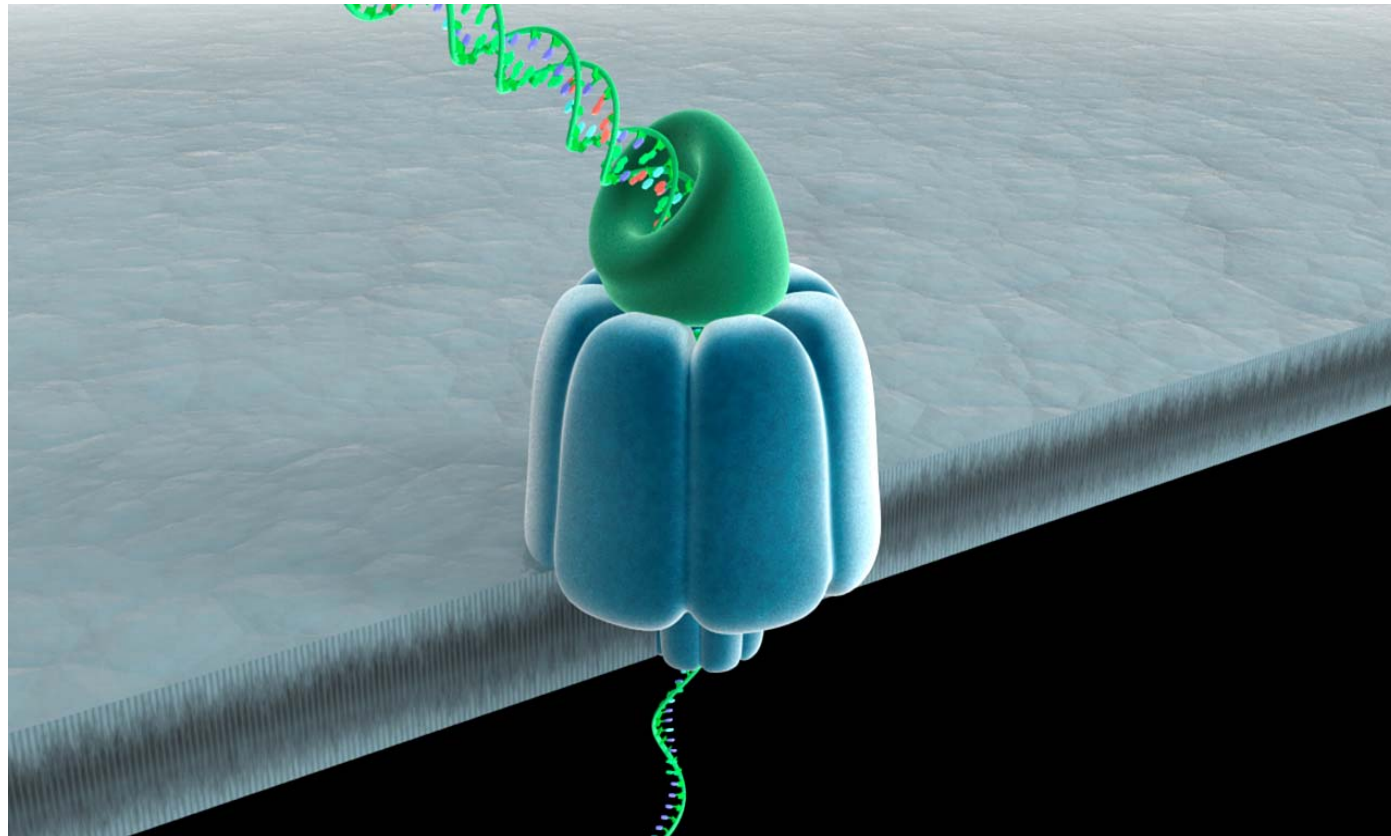


DNA (in white) - 1 nm in internal diameter

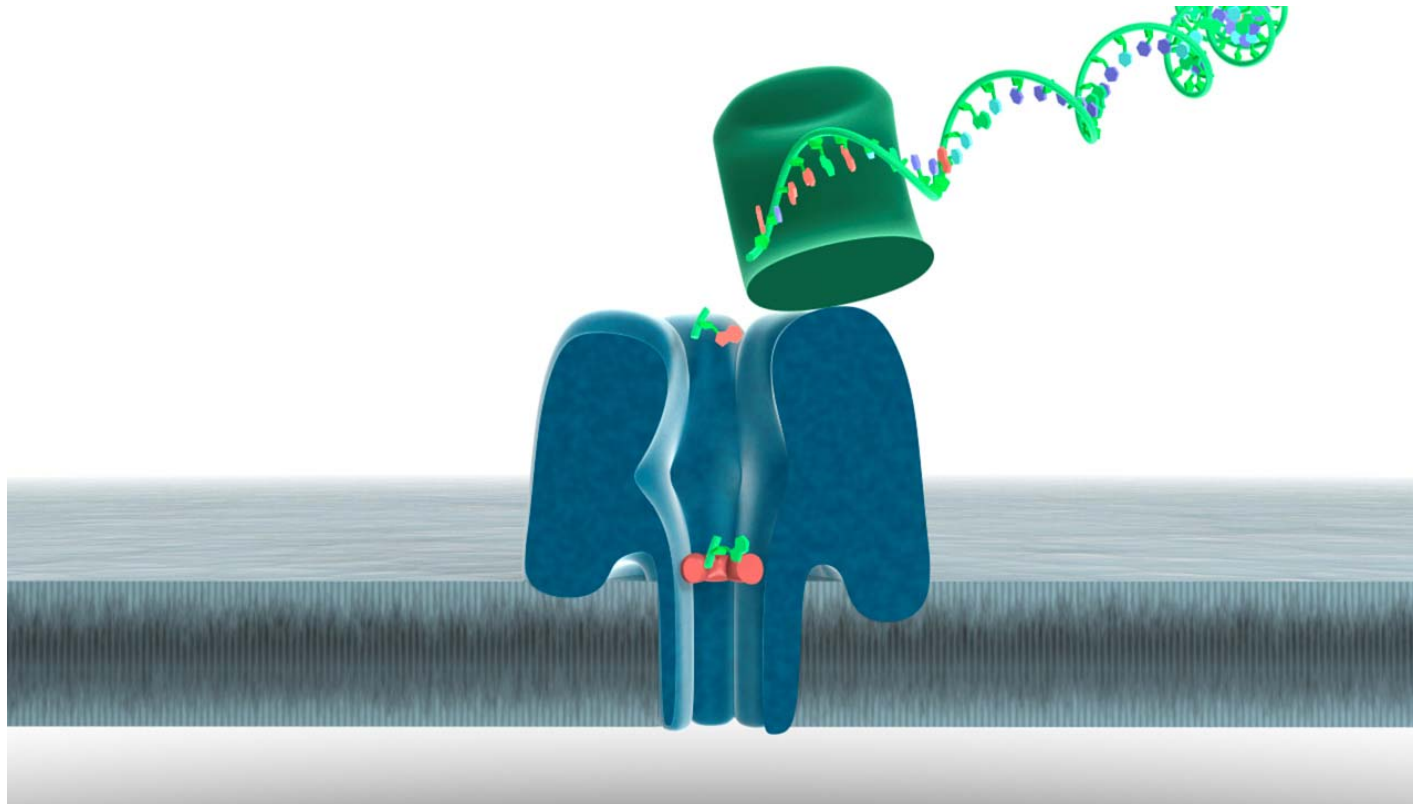


**MspA порин –
бактериальный
мембранный белок**

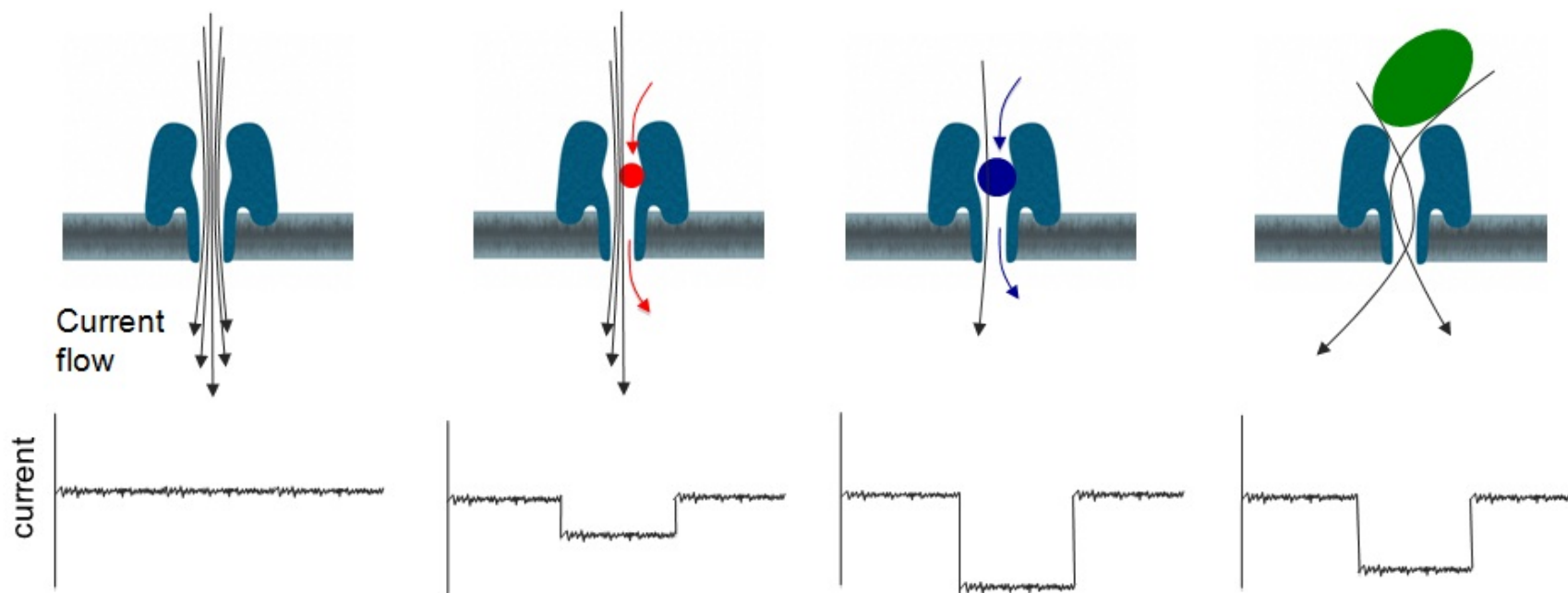
Strand sequencing

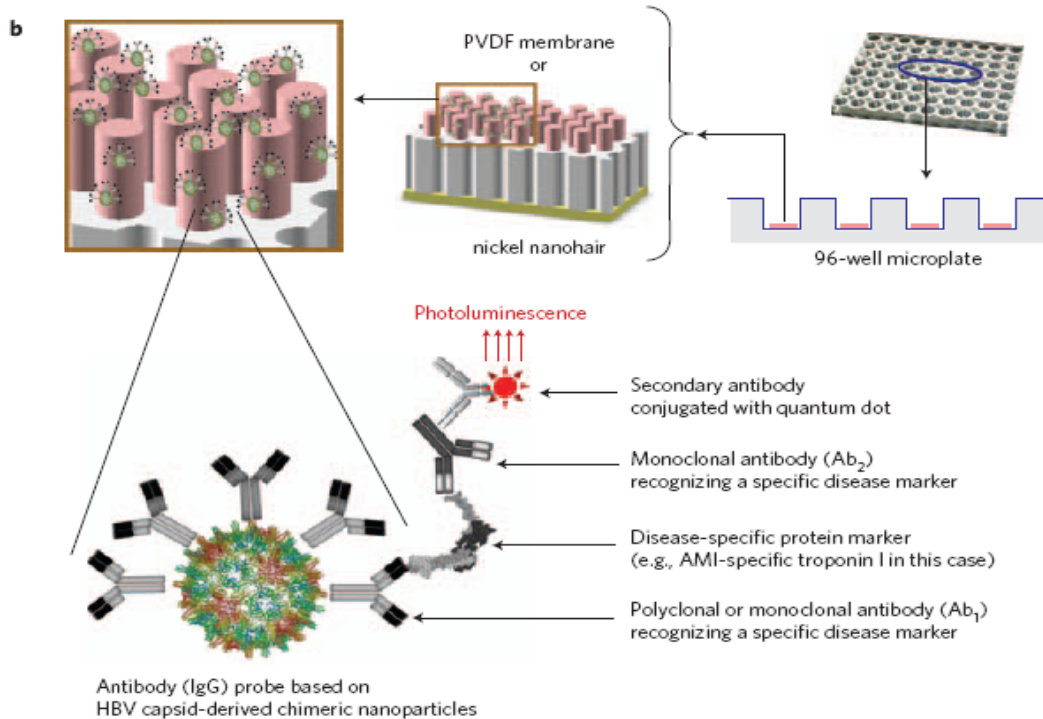
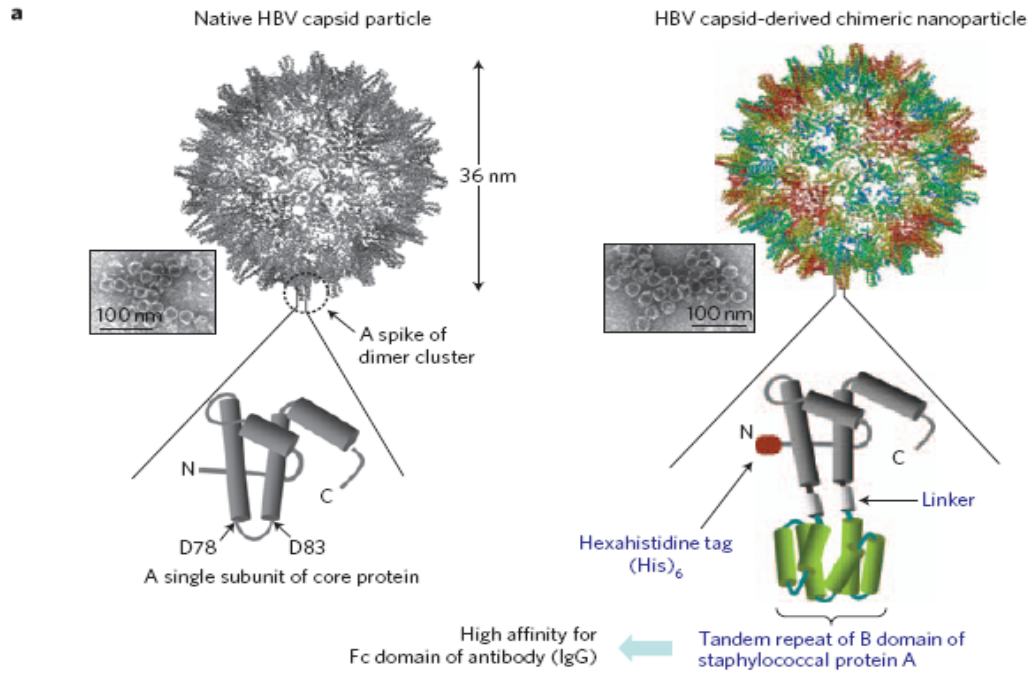


Endonuclease sequencing



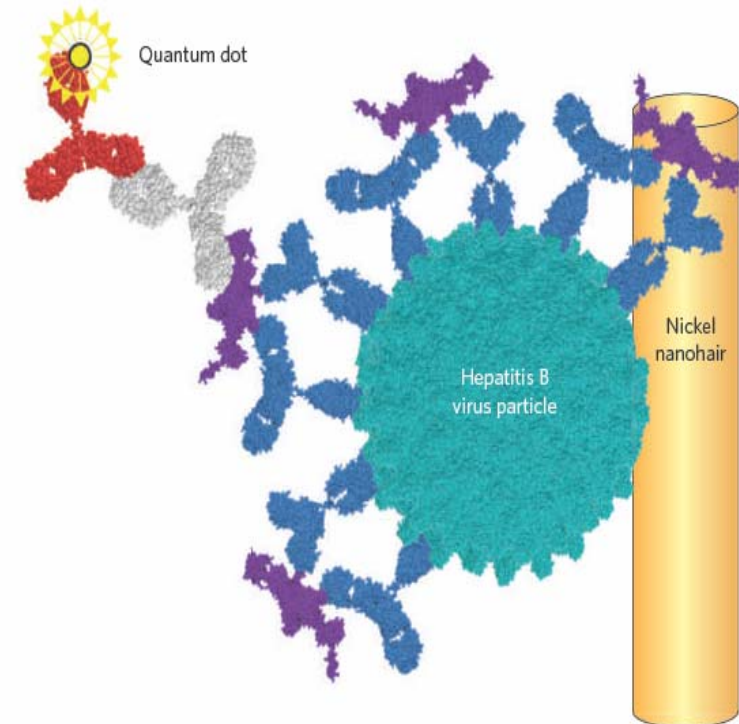
Биосенсоры на основе нанопор





A highly sensitive and selective diagnostic assay based on virus nanoparticles

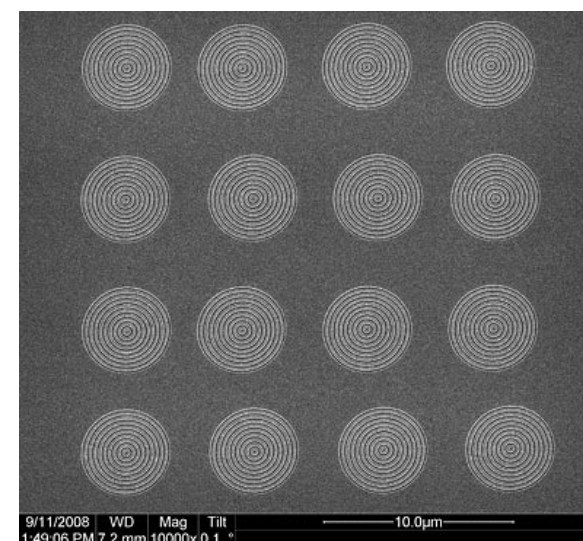
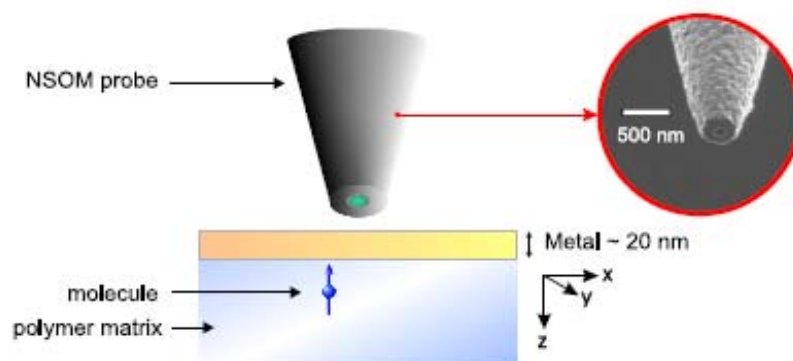
Jin-Seung Park^{1†}, Moon Kyu Cho^{2†}, Eun Jung Lee^{1†}, Keum-Young Ahn¹, Kyung Eun Lee³, Jae Hun Jung⁴, Yunjung Cho⁵, Sung-Sik Han³, Young Keun Kim^{6*} and Jeewon Lee^{1*}





Метаматериалы

- С точки зрения физики метаматериалы с отрицательным показателем преломления являются антиподами обычных материалов.
- В случае отрицательного показателя преломления происходит обращение фазовой скорости электромагнитного излучения; доплеровский сдвиг происходит в противоположную сторону; черенковское излучение от движущейся заряженной частицы происходит не вперед, а назад; собирающие линзы становятся рассеивающими и наоборот...
- Хорошо известно, что в случае квазистатических ограничений (эффекты ближнего поля) электрическое и магнитное поля могут рассматриваться отдельно (они разобщаются). И тогда для проявления уникальных свойств требуется отрицательное значение только диэлектрической проницаемости. Это делает плёнки благородных металлов кандидатами на создание суперлинз.



Метаматериалы

- Природные материалы с отрицательной диэлектрической проницаемостью хорошо известны – это любой металл при частотах выше плазменной частоты (при которой металл становится прозрачным). В этом случае $\epsilon < 0$ достигается за счет того, что свободные электроны в металле экранируют внешнее электромагнитное поле.
- Гораздо сложнее создать материал с $\mu < 0$, в природе такие материалы не существуют. Английский ученый Д.Пендри (John Pendry) в 2000г. показал, что отрицательная магнитная проницаемость может быть получена для проводящего кольца с зазором (Phys Rev Lett. 2000 Oct 30;85(18):3966-9. **Negative refraction makes a perfect lens**).

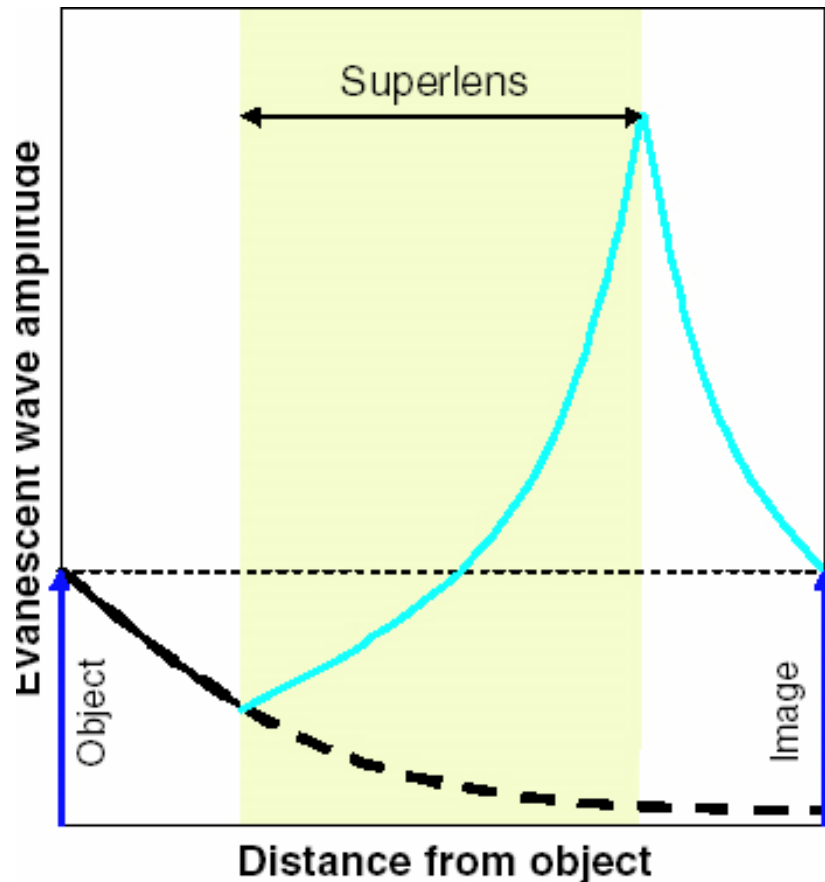




Principle of superlensing

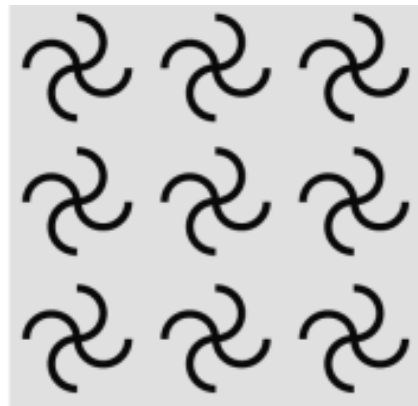
The black curve shows the decay of evanescent wave in positive refractive index materials such as dielectrics.

The blue curve shows the enhancement of evanescent waves by a superlens, which decays again on the other side restoring the original amplitude at the image plane. The black dotted curve represents a decaying field without a superlens.

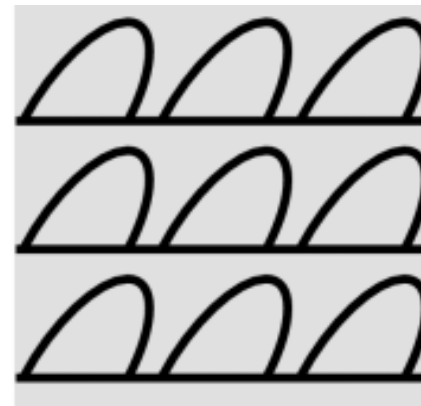


field without a superlens.¹²¹

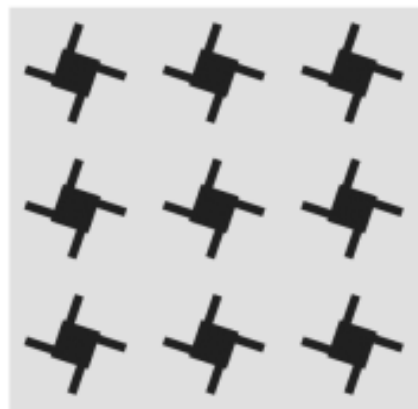
Планарные хиральные метаматериалы (ПХМ) -
различные коэффициенты пропускания
для волн с правой и левой круговой поляризацией



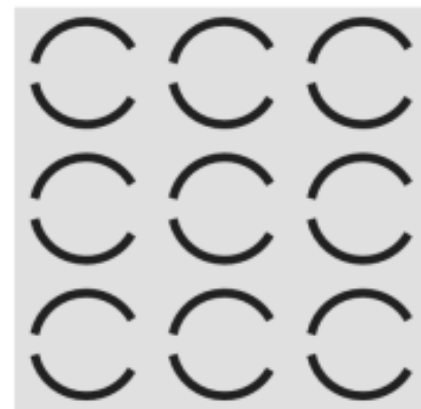
“пропеллеры”



“чешуя”



б) “наклонные
кресты”

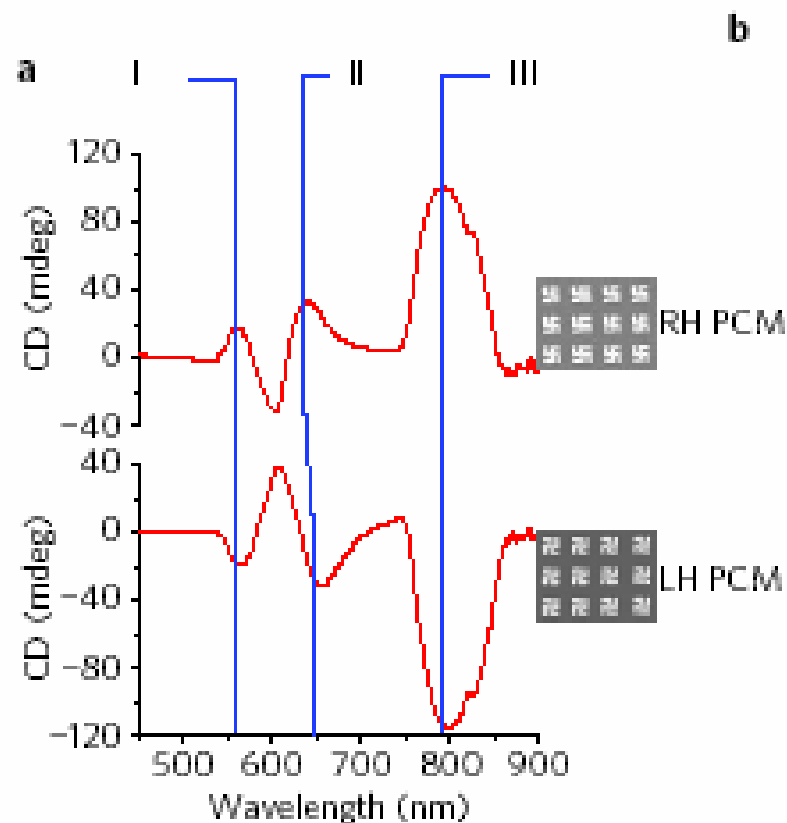
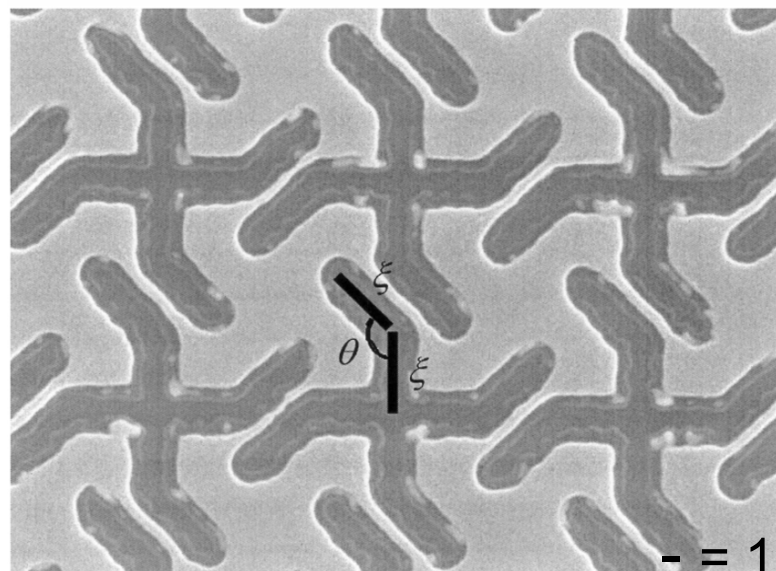
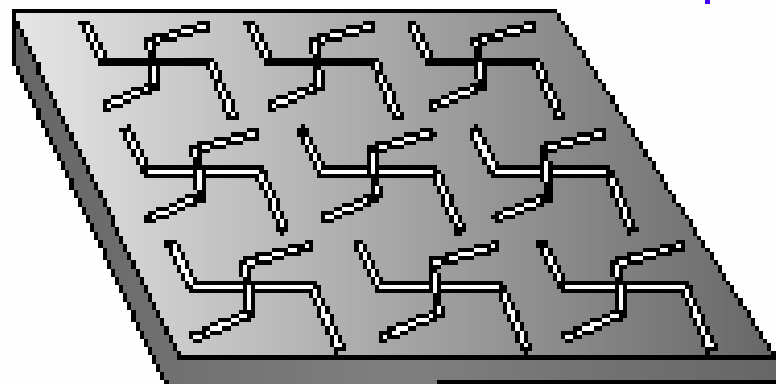


“разорванные
кольца”



Ultrasensitive detection and characterization of biomolecules using superchiral fields

E. Hendry¹, T. Carpy², J. Johnston^{2,3}, M. Popland², R. V. Mikhaylovskiy¹, A. J. Laphorn², S. M. Kelly⁴, L. D. Barron², N. Gadegaard³ and M. Kadodwala^{2*}



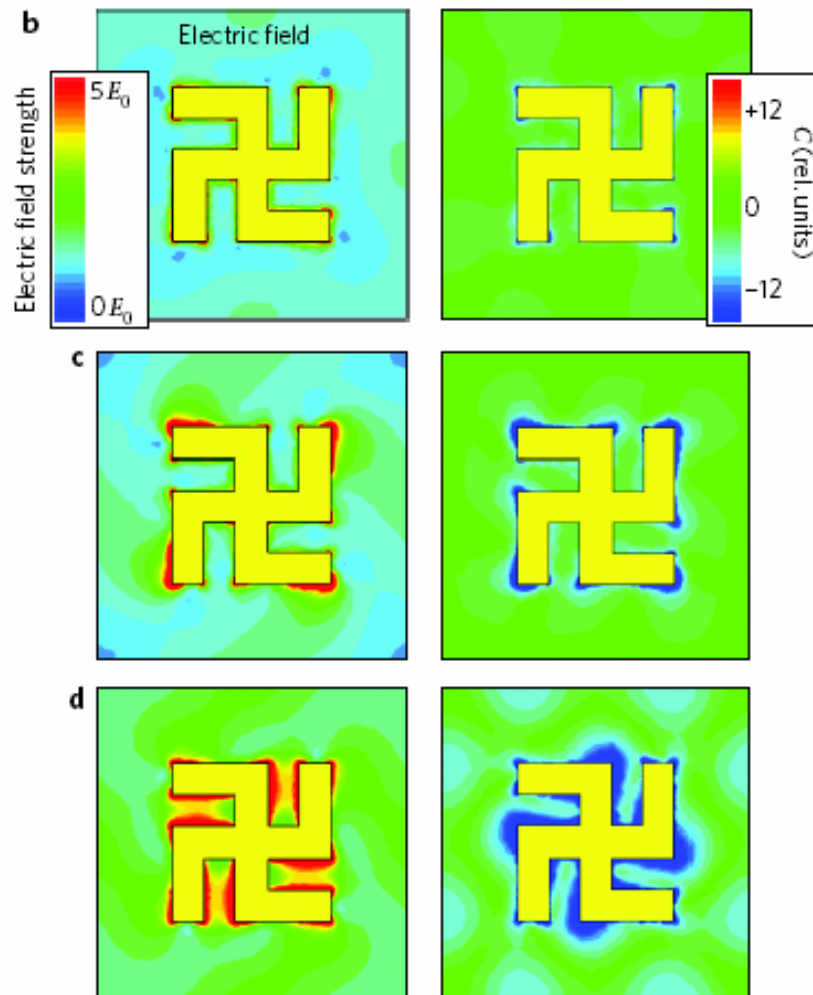
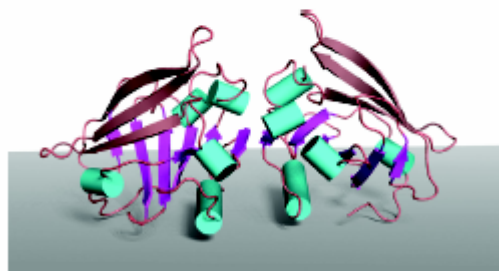
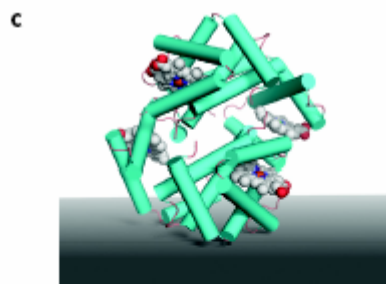
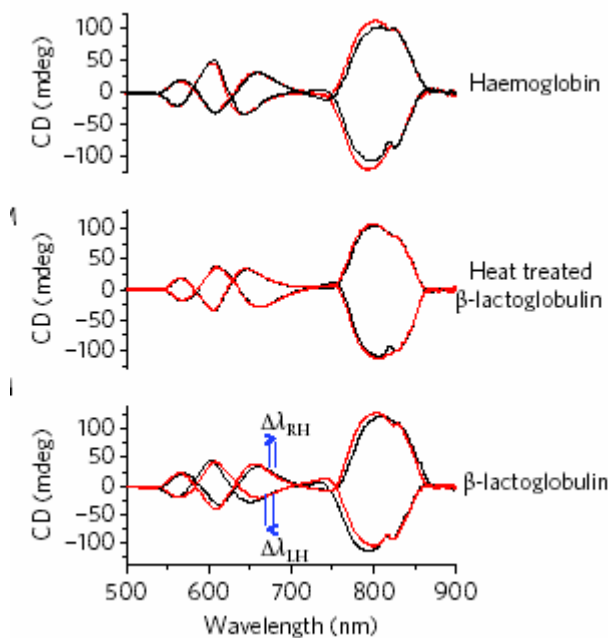


Figure 2 | Finite element modelling of the local electromagnetic fields around the PCMs. **a**, Comparison between experimental and modelled CD spectra. **b-d**, Left-hand panels: time-averaged electric field strength at the wavelengths marked by arrows in **a**, when excited by LH circularly polarized light. All fields are calculated at the substrate interface of the sample and normalized by the incident electric field (E_0). Right-hand panels: local optical chirality, C , as defined in equation (3), normalized by the magnitudes for LH circularly polarized plane waves.



optical chirality:

$$C = \frac{\epsilon_0}{2} \mathbf{E} \cdot \nabla \times \mathbf{E} + \frac{1}{2\mu_0} \mathbf{B} \cdot \nabla \times \mathbf{B}$$



Values of $\Delta\Delta\lambda$ and $\Delta\lambda_{AV}$ induced by the adsorption of chiral materials.

