

Нанобиоаналитические системы. Биосенсоры.

Курочкин Илья Николаевич

д.х.н., профессор
Химический Факультет МГУ

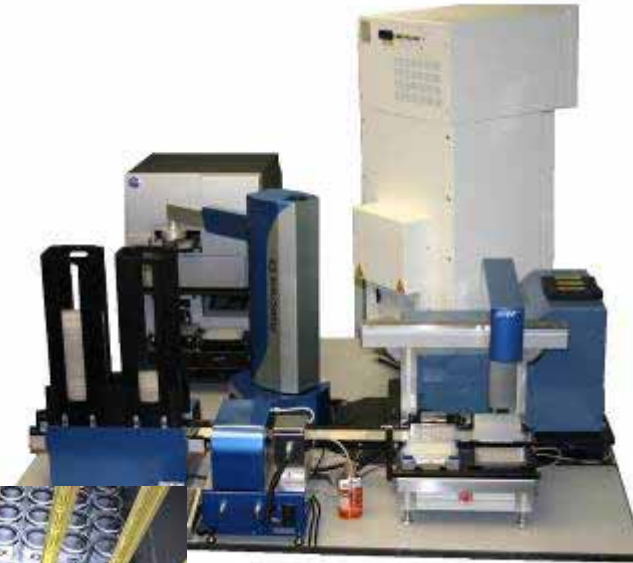
ikur@genebee.msu.su



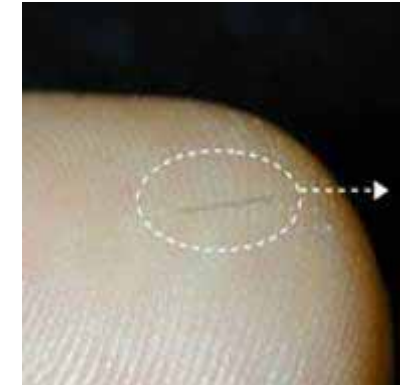
Развитие биоаналитических методов



конец 19 века



конец 20 века



Лабораторные прототипы
2006-2009 года

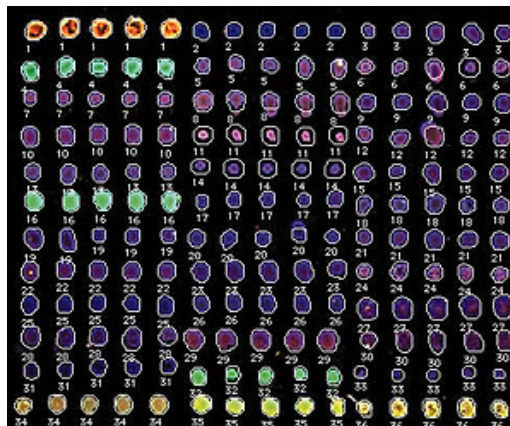
Развитие биоаналитических методов



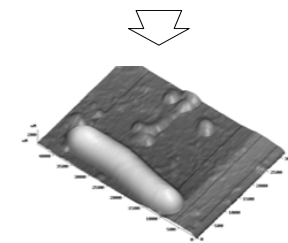
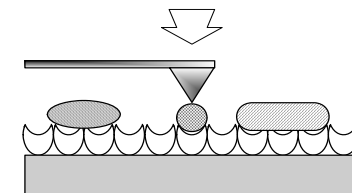
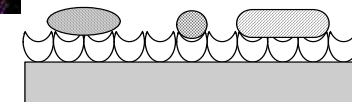
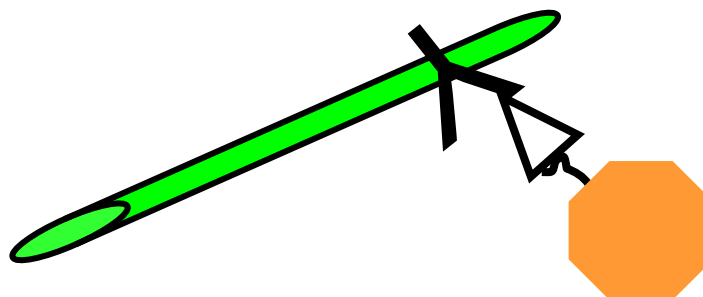
- **Биосенсоры**



- **Биочипы**



- **Наносенсоры**



Биосенсоры



Сенсоры, включающие в себя биологический материал

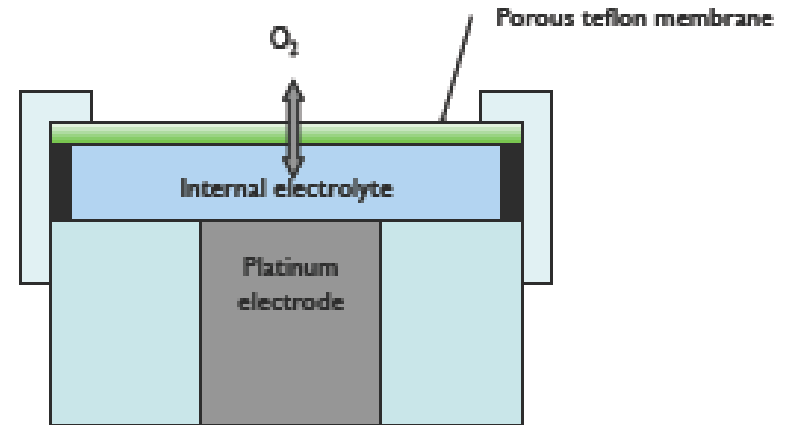
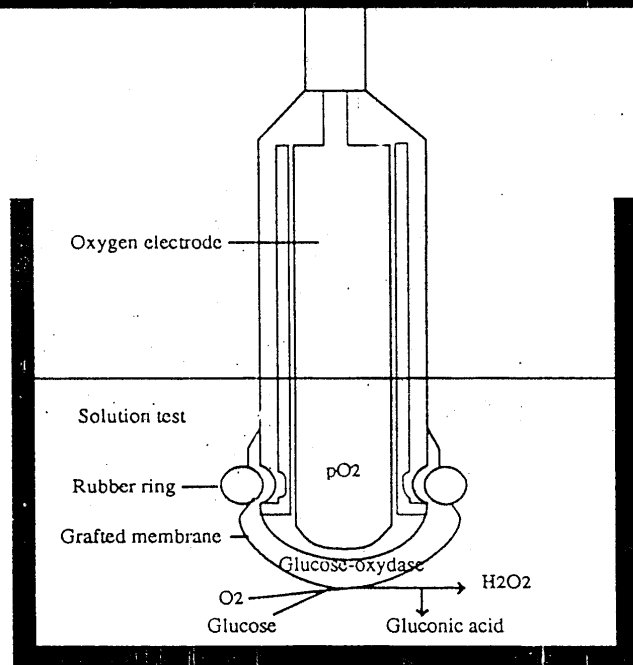
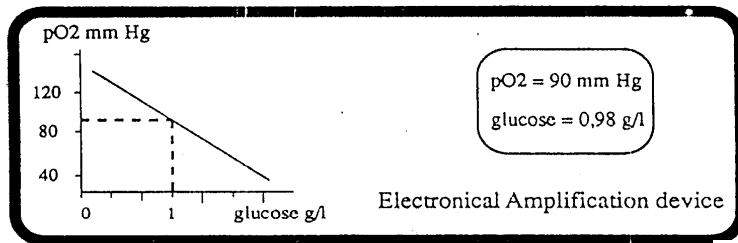
«Первый биосенсор»



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

(...до нашей эры...)

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



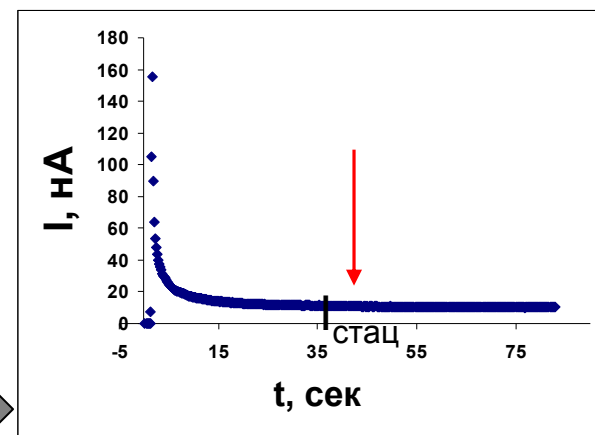
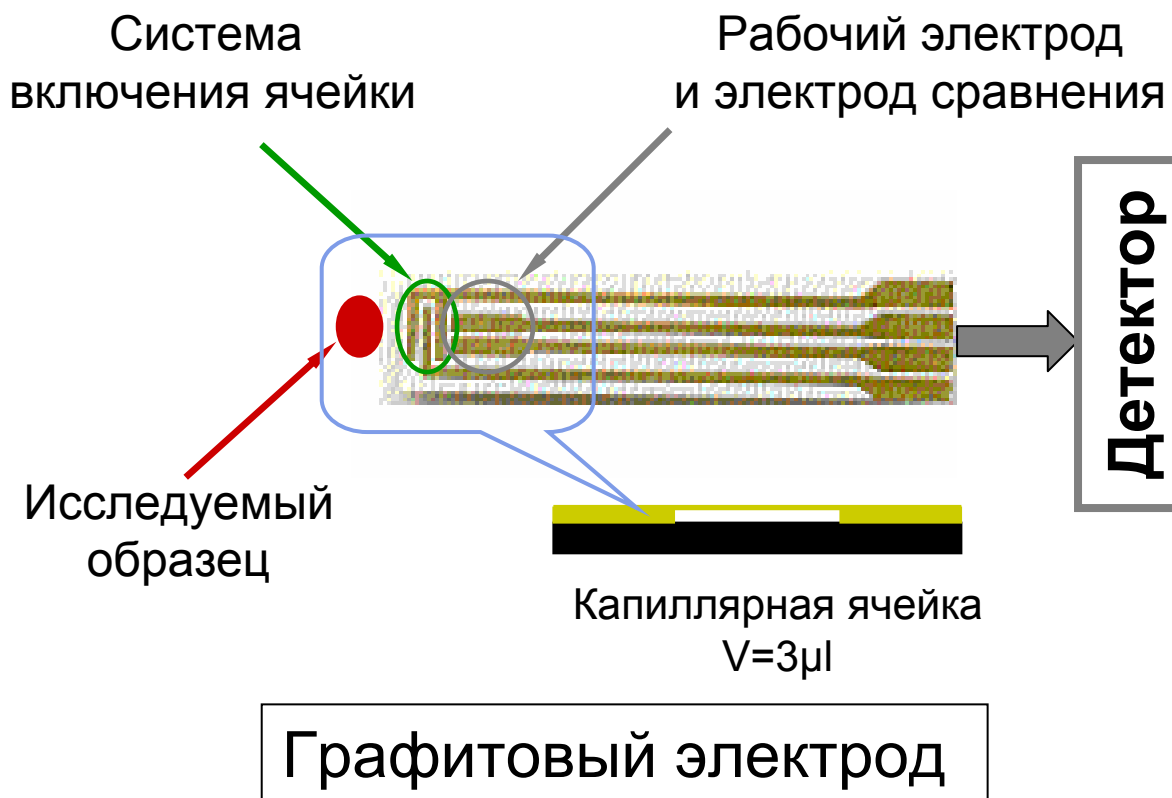
Principle of Glucose Potentiometric Electrode:

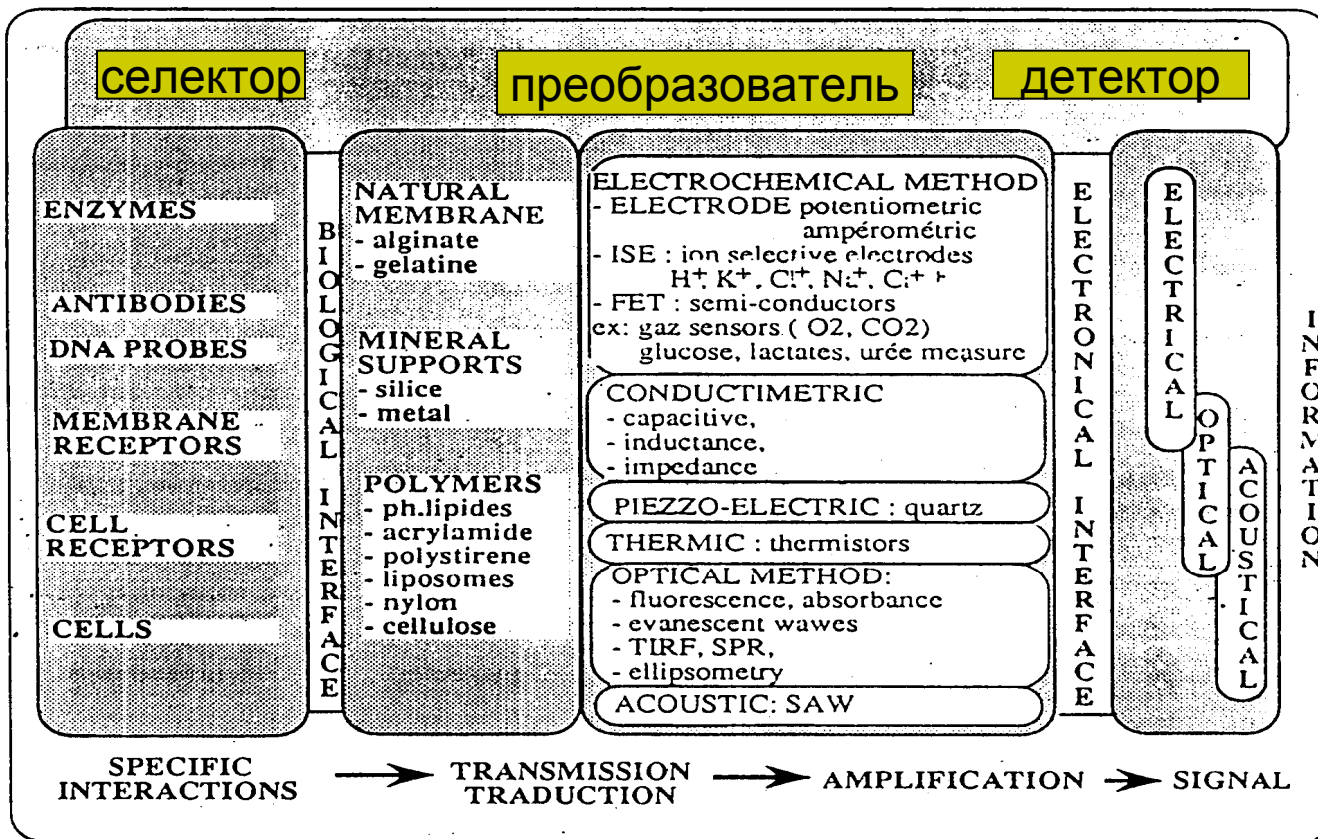
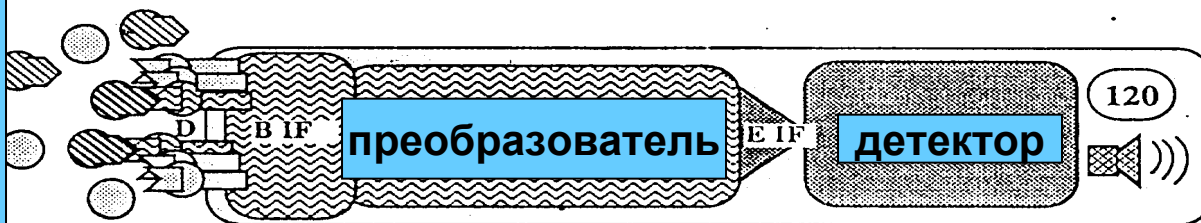
Glucose reacts with O₂ in the oxydase layer (Glucose-oxydase) to form gluconic acid and H₂O₂. The decrease O₂ concentration in the enzyme layer is measured by recording the signal from the oxygen electrode. A increase in concentration of glucose causes a decrease in O₂ concentration at the electrode.



Создание планарных электродов

1. Выбор материала: золото, графит
2. Выбор оптимальной подложки для нанесения электродов
3. Выбор оптимальной конструкции электродов
4. Разработка метода иммобилизации и стабилизации фермента
5. Обработка и анализ данных





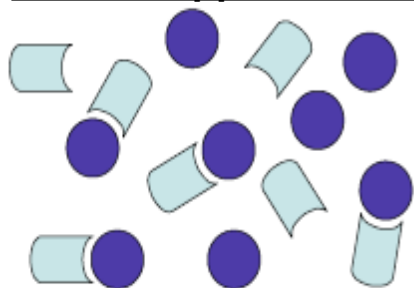
**Биосенсоры:
основные компоненты и функции**

Биоанализ и биосенсоры



Биоанализ

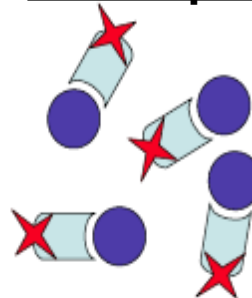
Взаимодействие



Разделение

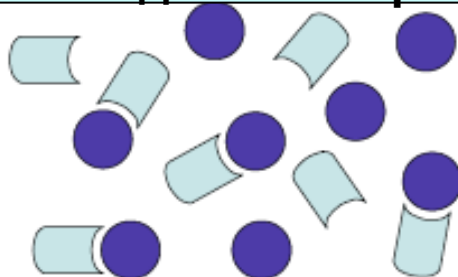


Регистрация



Биосенсор

Взаимодействие=регистрация

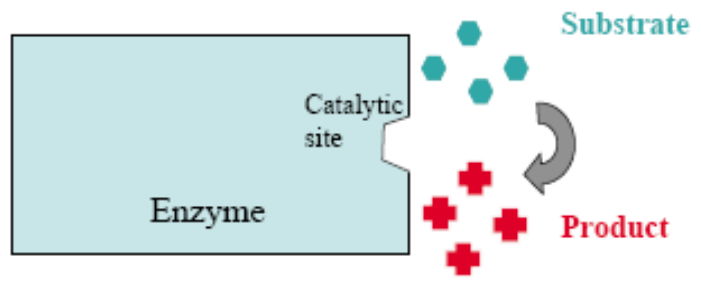




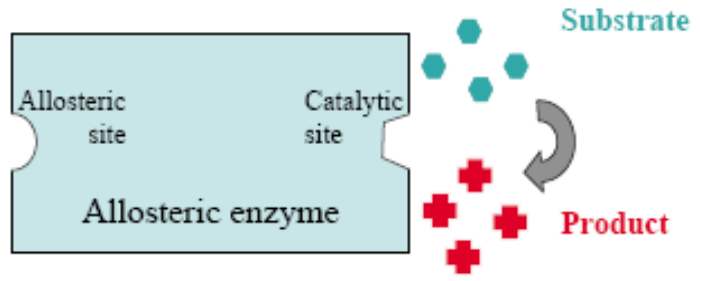
Биосенсоры

нано и микромолярные концентрации

Каталитические сенсоры

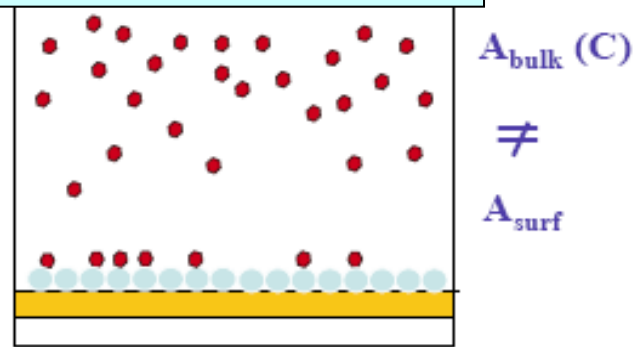


эффектор

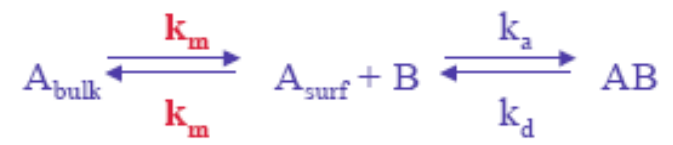


Аффинные сенсоры

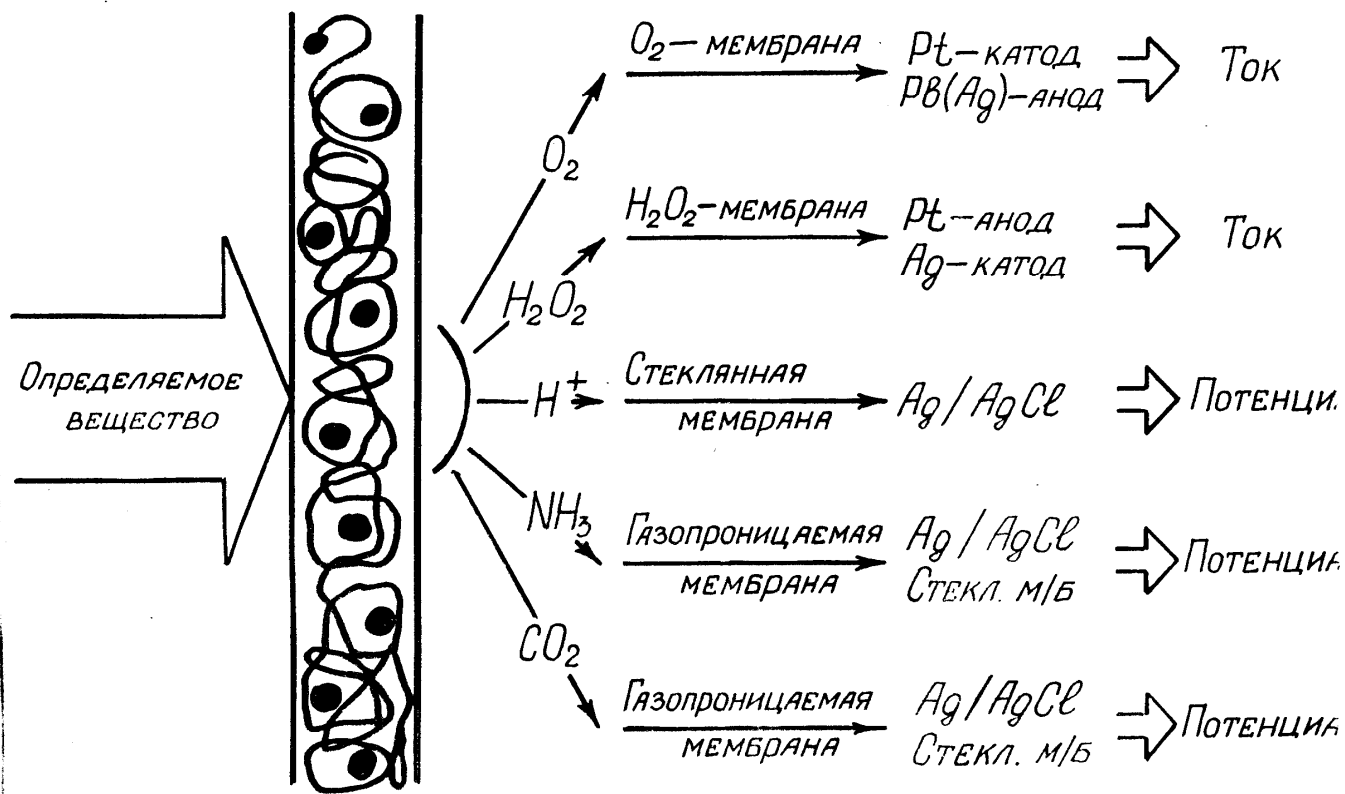
Массоперенос



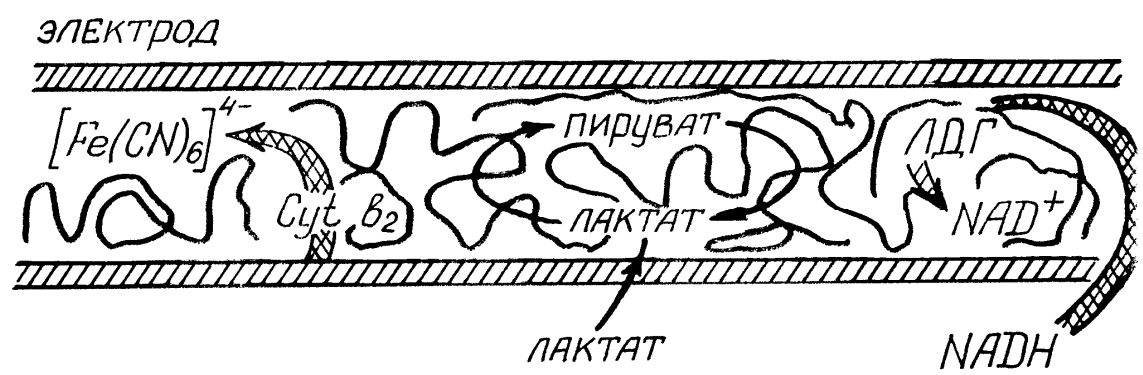
Количественный анализ



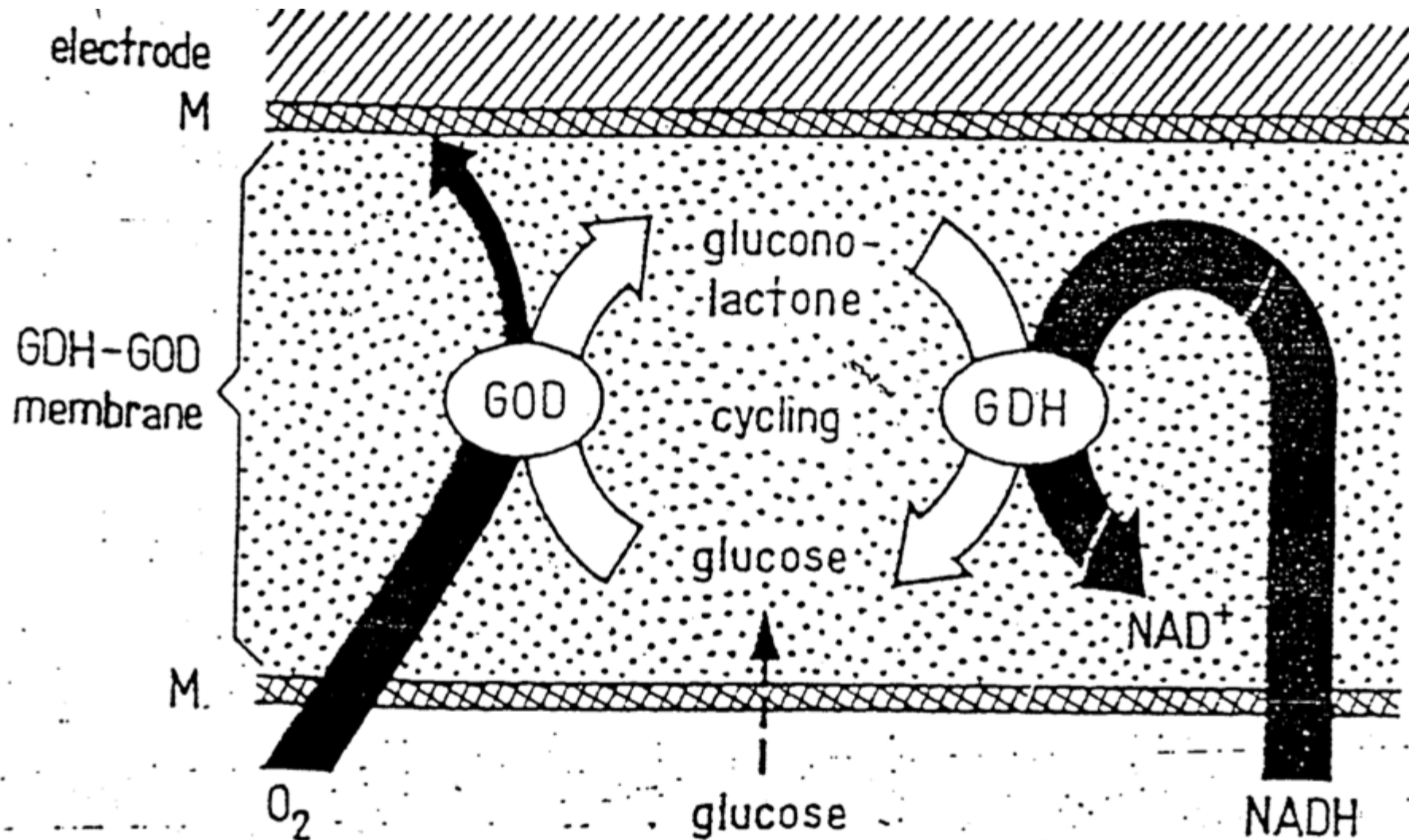
ФЕРМЕНТНЫЕ СЕНСОРЫ

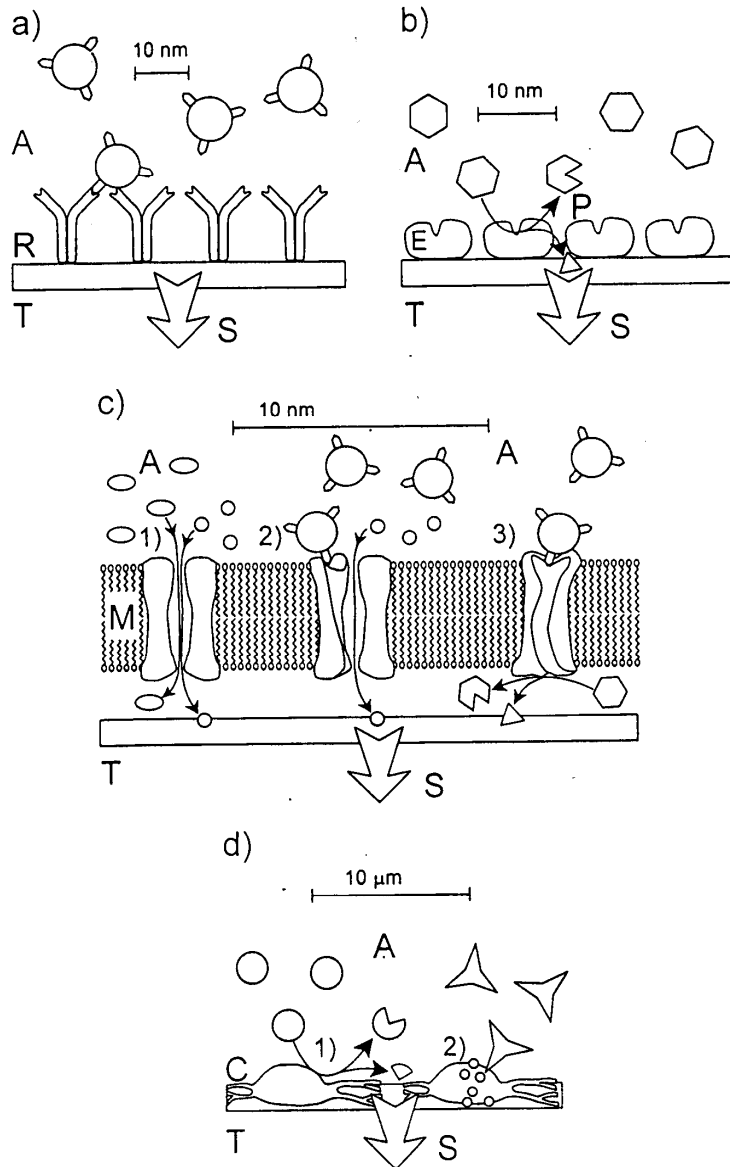


СУБСТРАТНОЕ УСИЛЕНИЕ



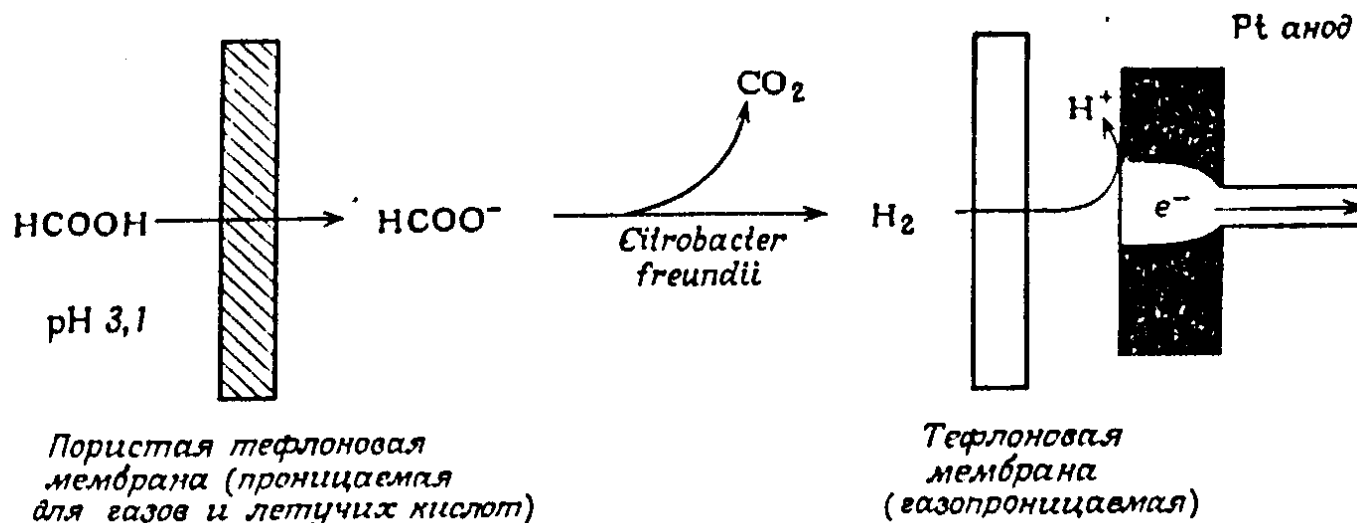
Субстратное усиление



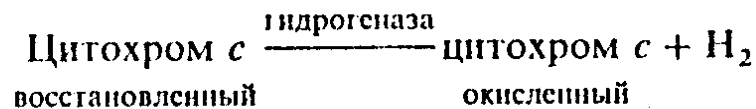
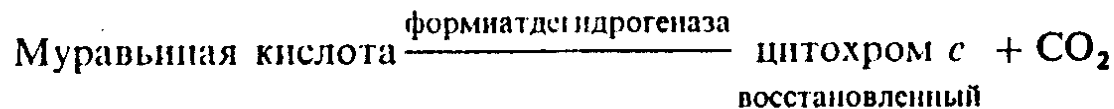
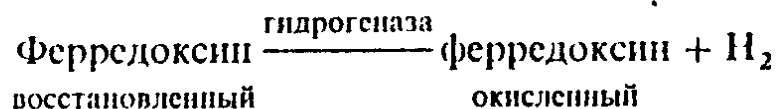


Элементы «селекторы» биосенсоров

Микробные биосенсоры



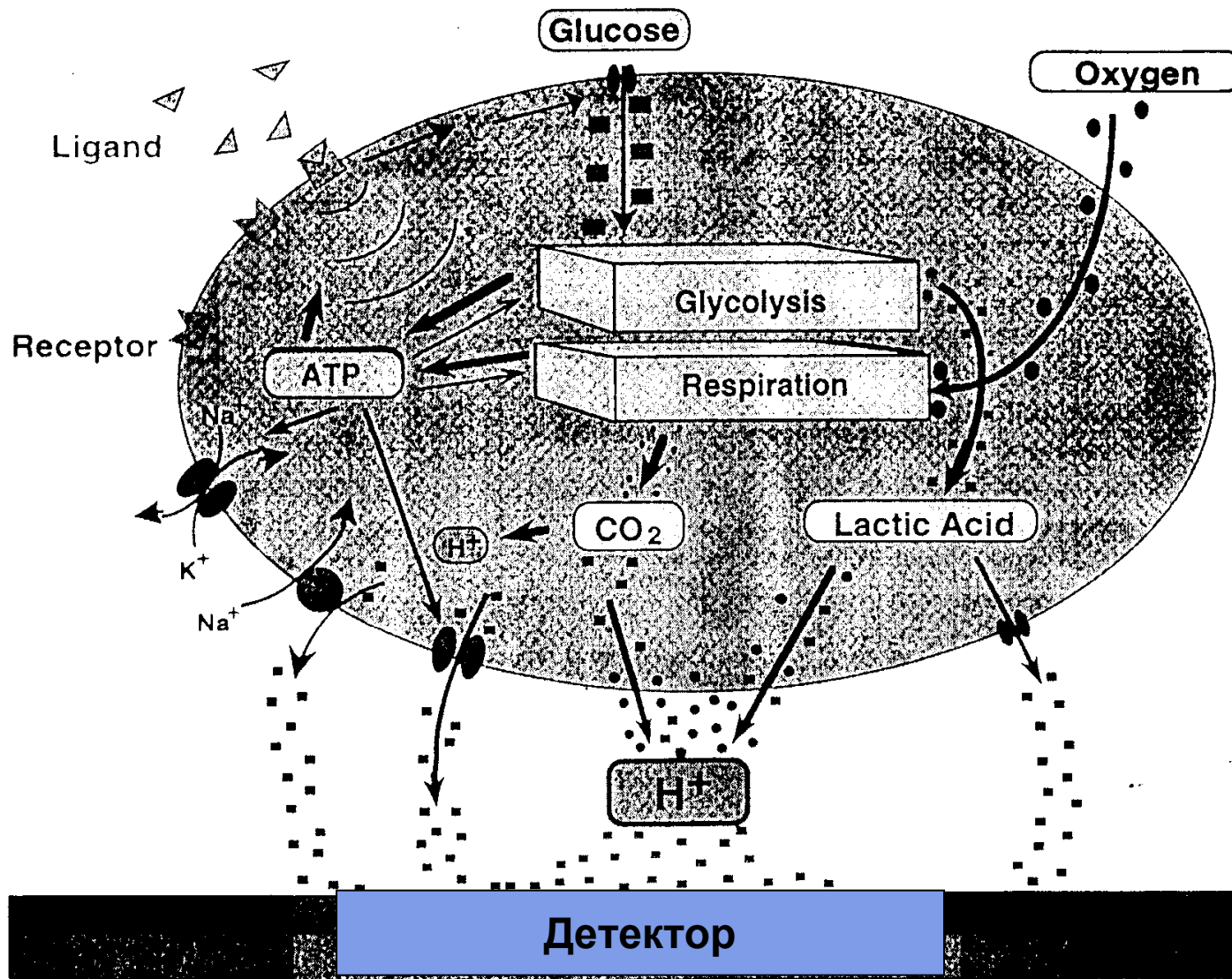
Принцип действия микробного биосенсора



Клеточные биосенсоры



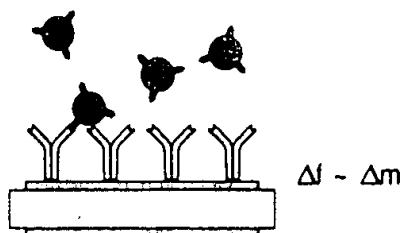
Рецепторы



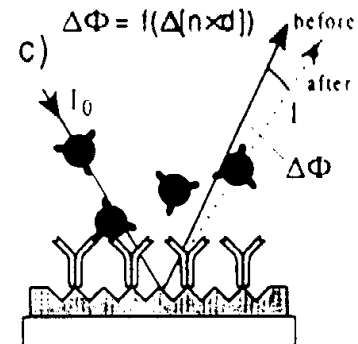
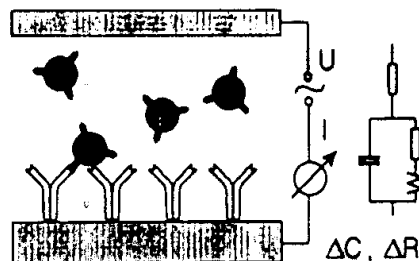
Основные типы иммуносенсоров



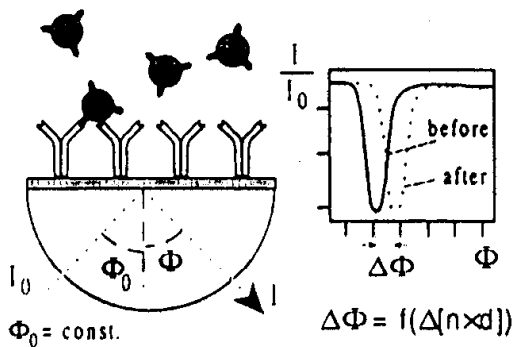
a)



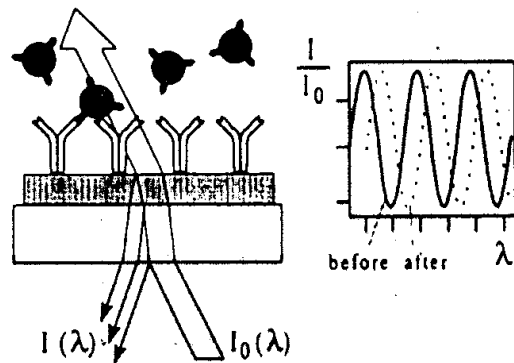
b)



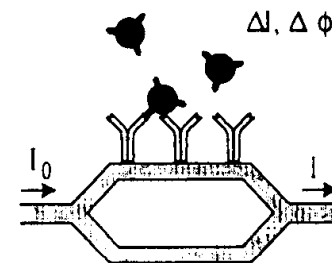
d)



e)



f)



Тканевые биосенсоры



● Субстрат

Глутамин
Аденозин
Аденозин-5-монофосфат
Гуанин
Пероксид водорода
Глутамат
Пируват
Мочевина
Фосфат/фторид-ионы
Допамин
Тирозин
Цистеин
Глутамин

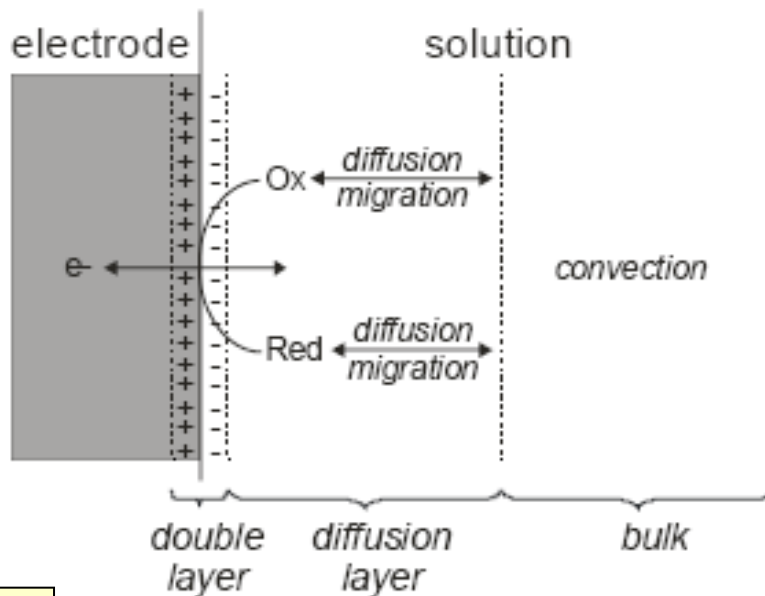
● Биокаталитический материал

Клетки почки свиньи
Клетки слизистой мышцы
Мышца кролика
Печень кролика
Печень быка
Жёлтая тыква
Кукурузное зерно
Мука из бобов
Клубень картофеля
Мякоть банана
Сахарная свёкла
Лист огурца
Митохондрии почки свиньи

Принципы электрохимии

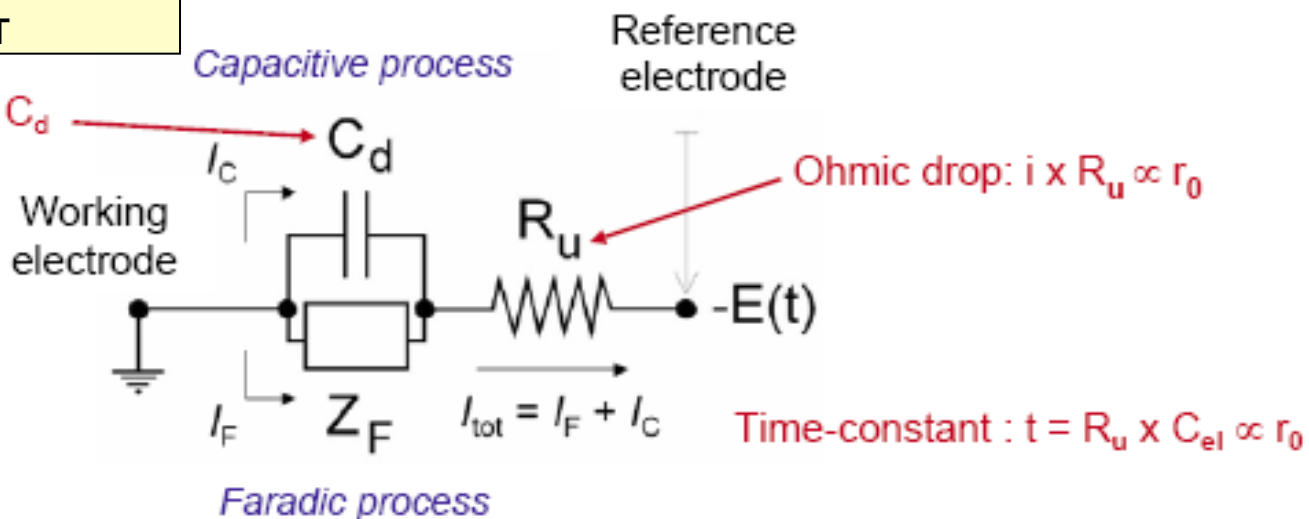


Электрохимическая система.
Рабочий электрод с радиусом r



Электрический эквивалент

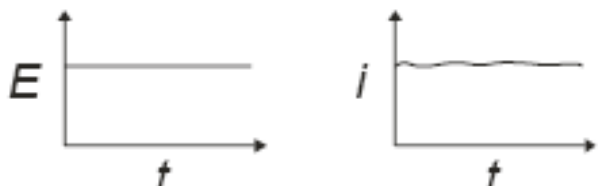
Noise $\propto C_{el} = 2\pi r_0^2 \times C_d$



Электрохимические методы

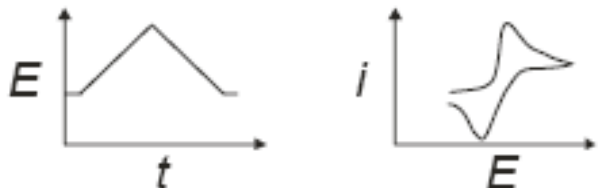


Амперометрия (стац.)



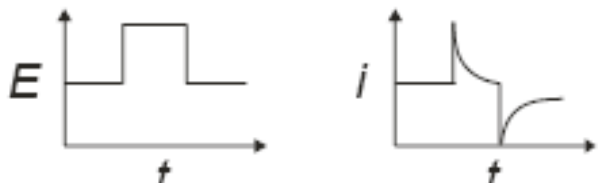
- + разрешение по току
- + разрешение во времени
- селективность
- потенциал приложен постоянно

Быстрая сканирующая вольтамперометрия



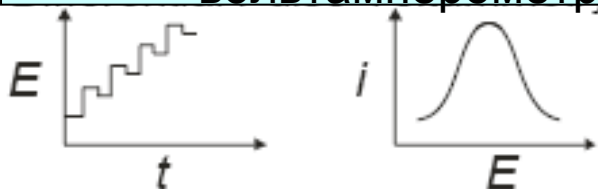
- + селективность
- + разрешение во времени
- + потенциал не приложен постоянно
- разрешение по току
- емкостные токи

Хроноамперометрия



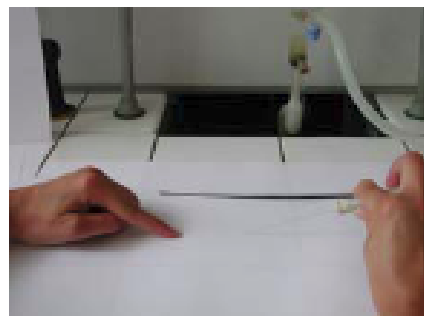
- + разрешение во времени
- + потенциал не приложен постоянно
- Средняя селективность
- разрешение по току
- емкостные токи

Дифференциальная импульсная вольтамперометрия

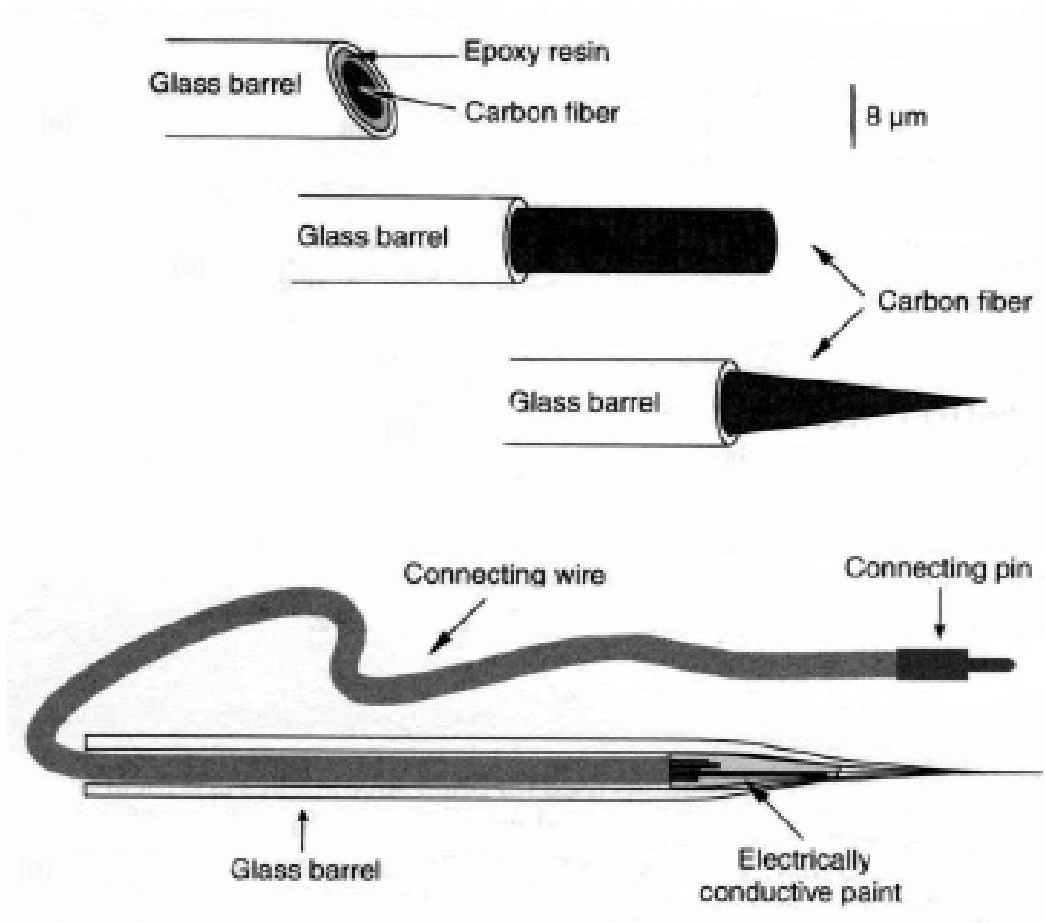


- + селективность
- + разрешение по току
- разрешение во времени
- потенциал приложен постоянно

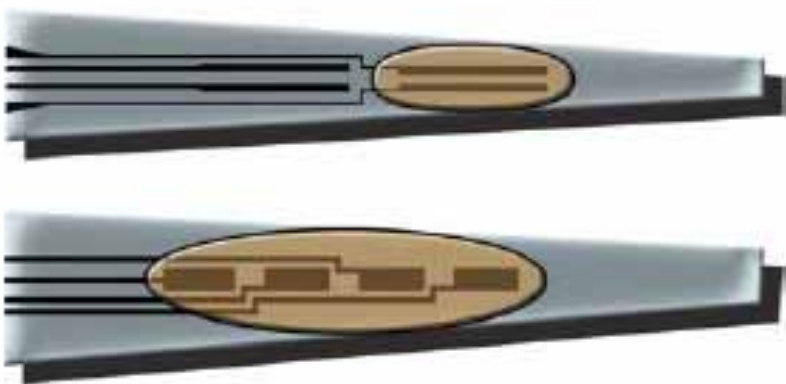
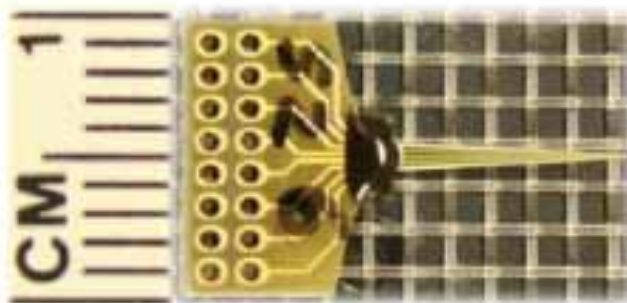
Микроэлектроды из углеродного волокна



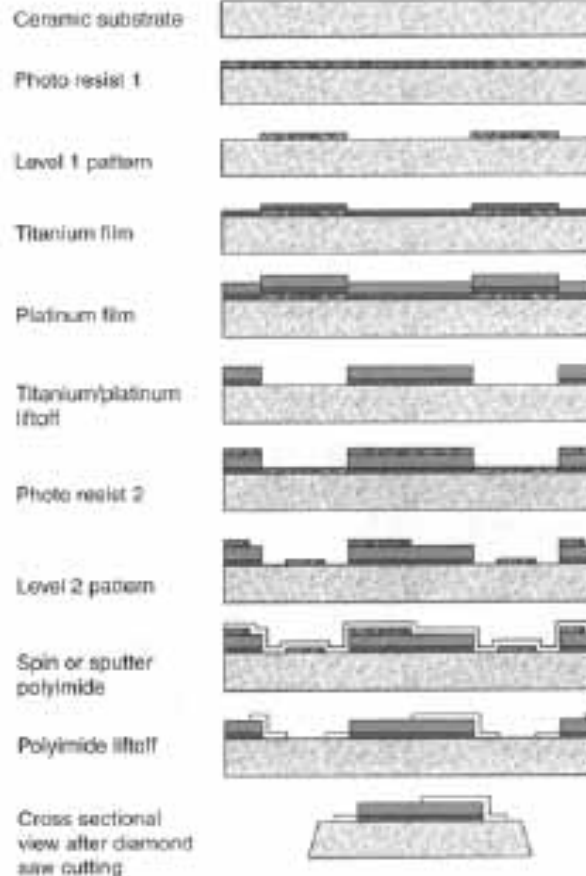
Different shapes and sizes



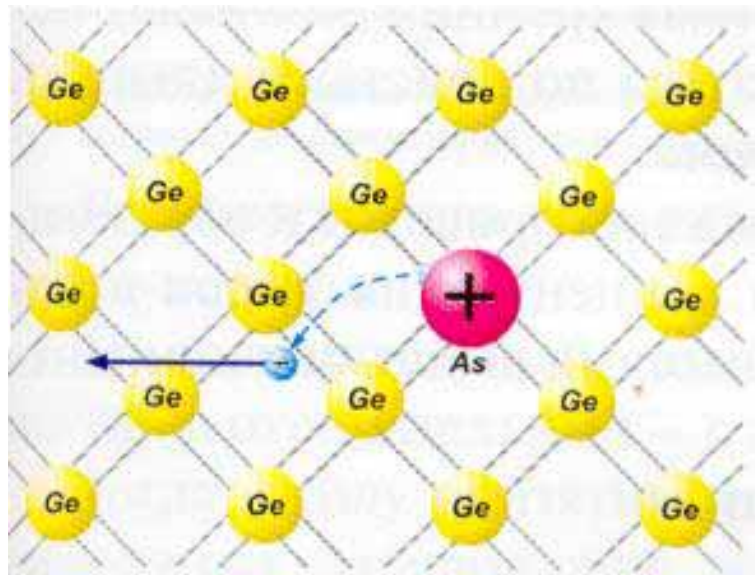
Планарные микроэлектроды на керамической подложке



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



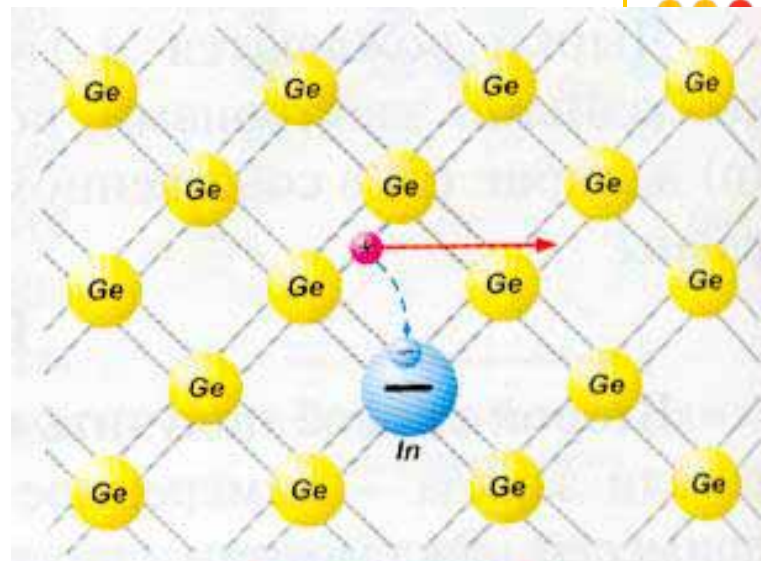
Electrochemical Methods for Neuroscience, CRC Press, 2007, 233-260



\vec{E}

1

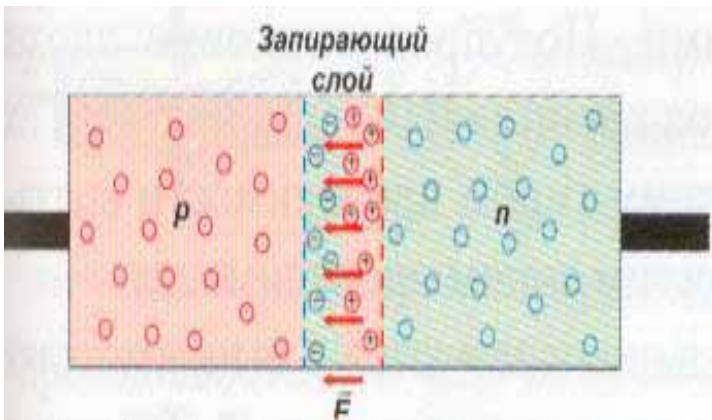
Атом мышьяка в решетке германия.
Полупроводник n-типа



\vec{E}

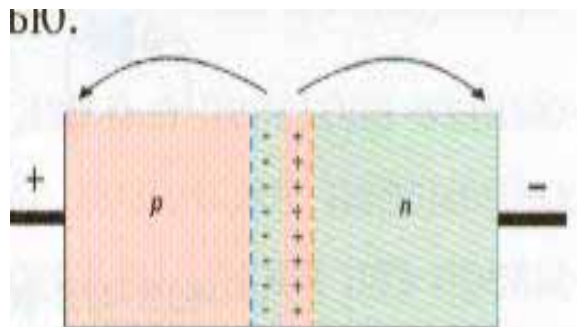
2

Атом индия в решетке германия.
Полупроводник p-типа



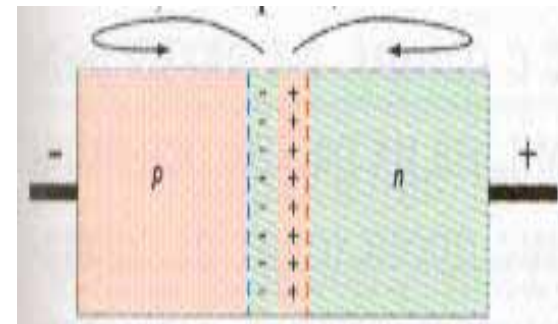
3

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

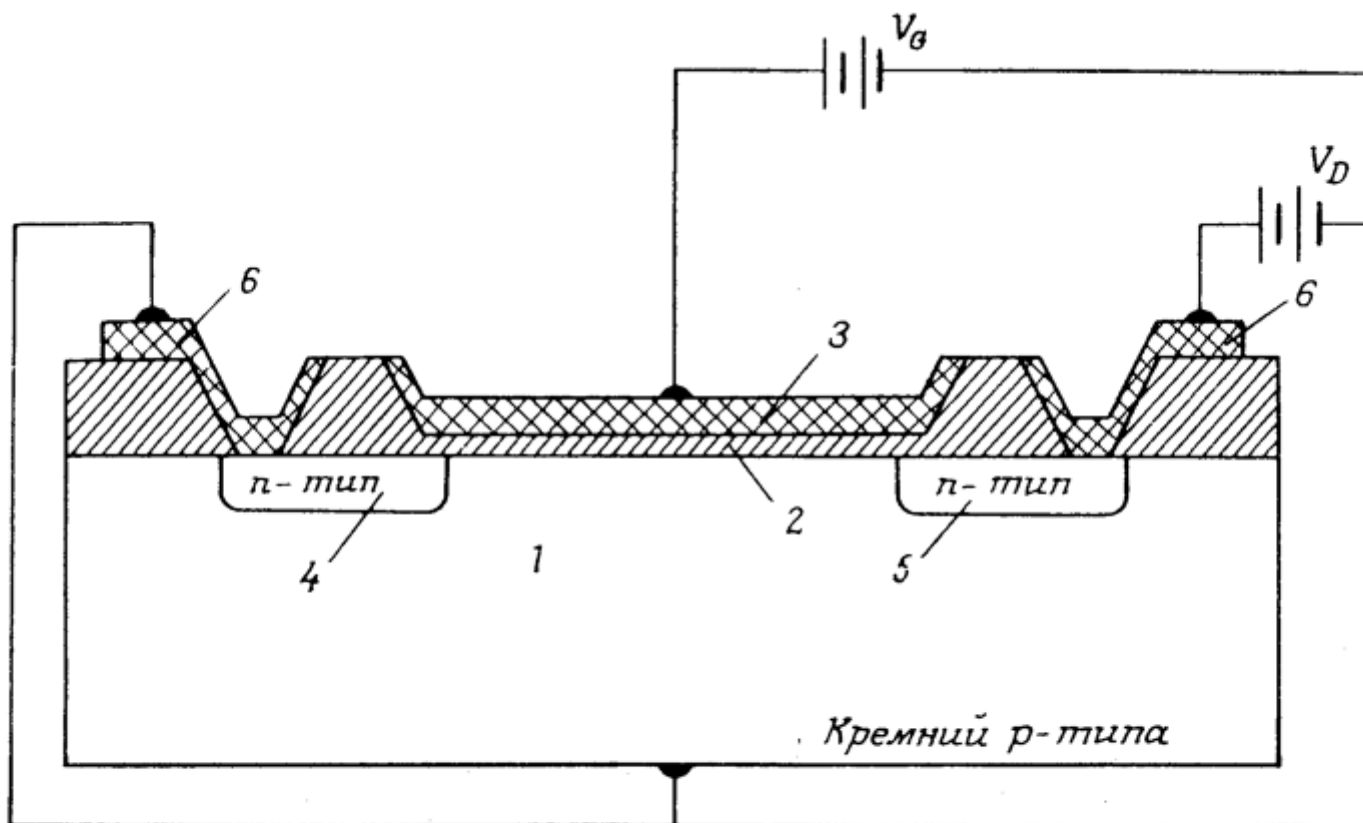
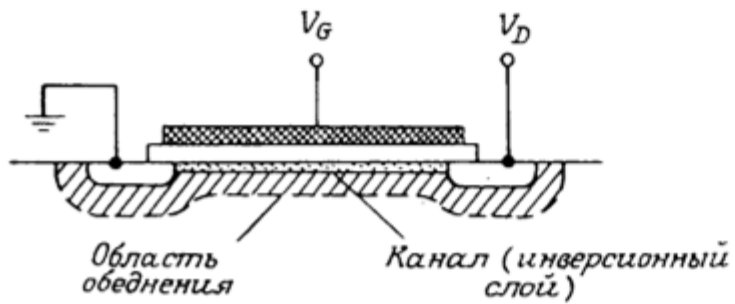
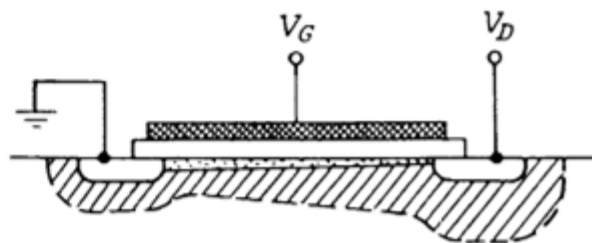


Схема ПТ

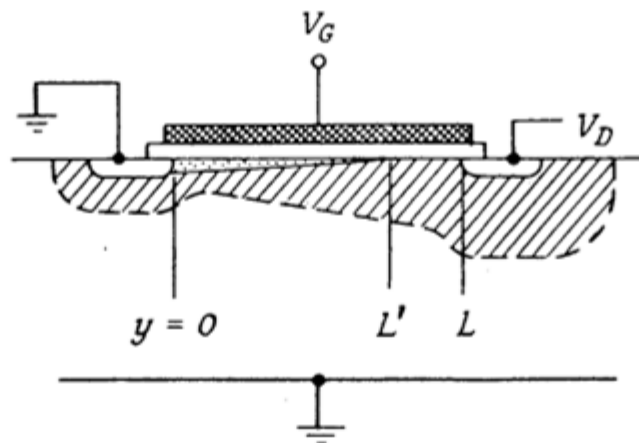
1 – кремниевая подложка n-типа; 2 – диэлектрик; 3 – металлический затвор; 4 – исток n-типа; 5 – сток n-типа; 6 – металлический контакт со стоком и истоком.



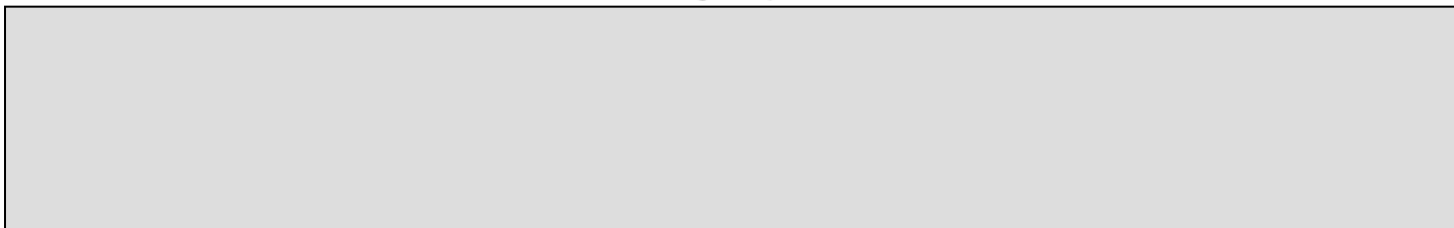
$$\alpha: V_G > V_T, V_D \approx 0$$



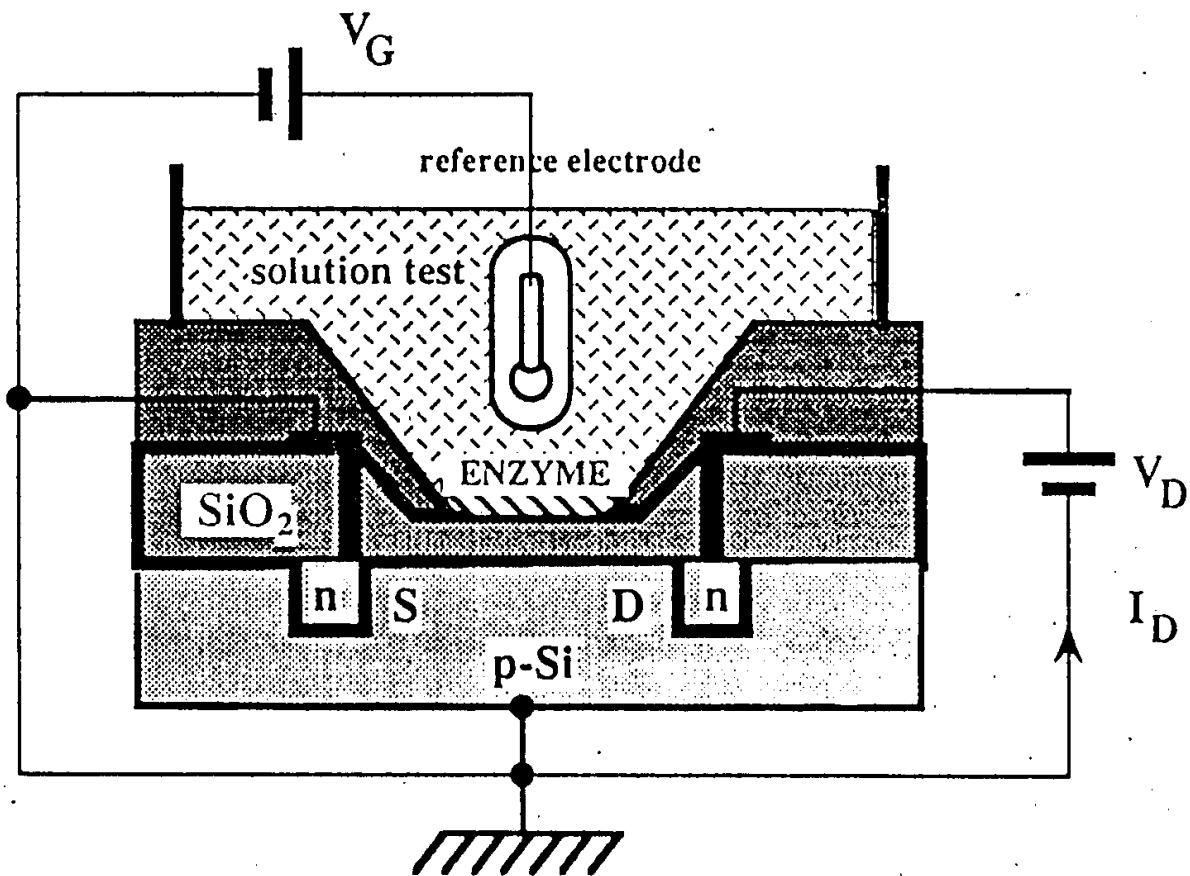
$$\delta: V_G > V_T, V_D < V_G - V_T$$



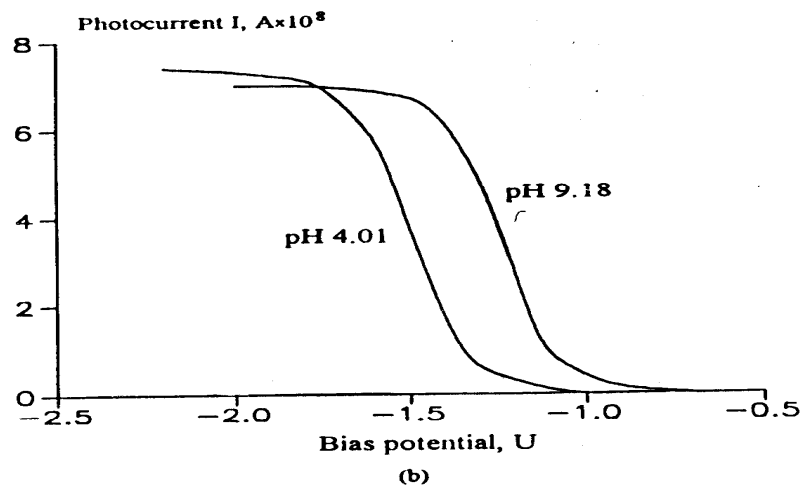
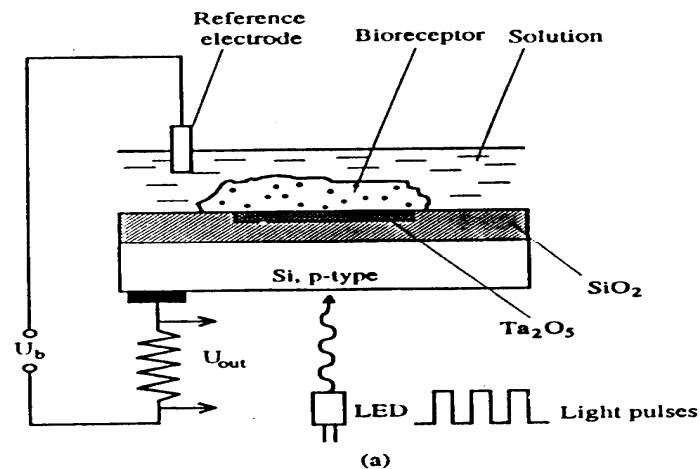
$$\beta: V_D > (V_G - V_T), V_G > V_T$$



Химически чувствительные полевые транзисторы

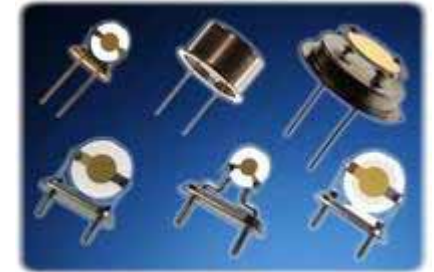
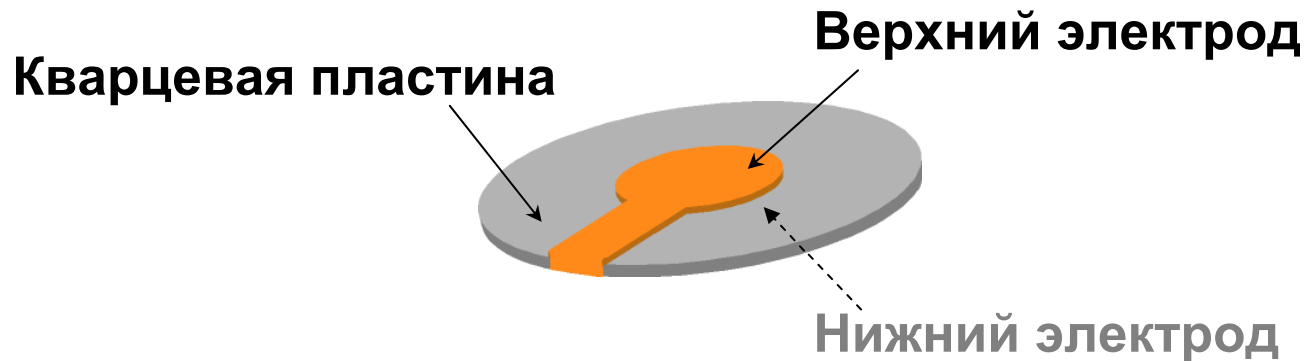


Светоадресуемые потенциометрические системы (LAPS)



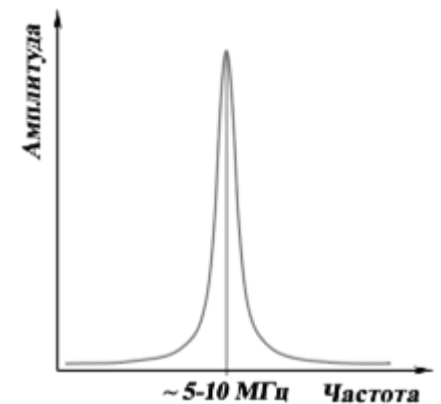
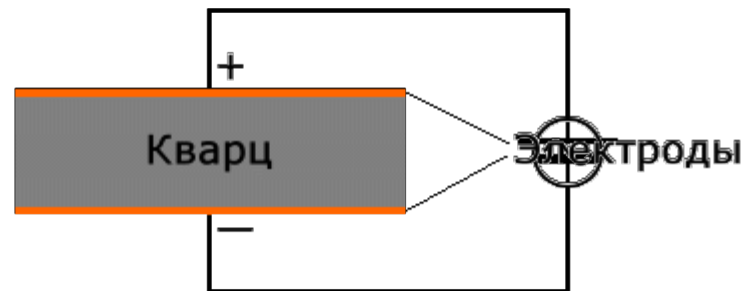
Quartz crystal microbalance (QCM)

Кварцевые микровесы

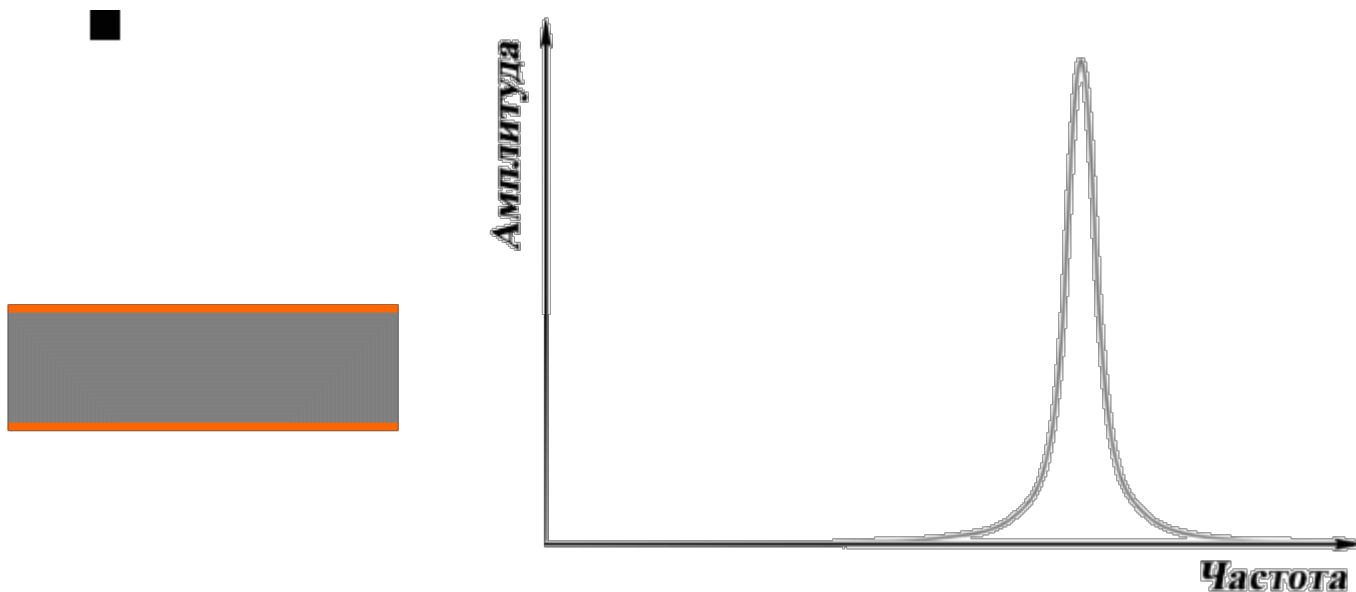


Деформации пластины под действием разности потенциалов
(обратный пьезоэффект)

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.

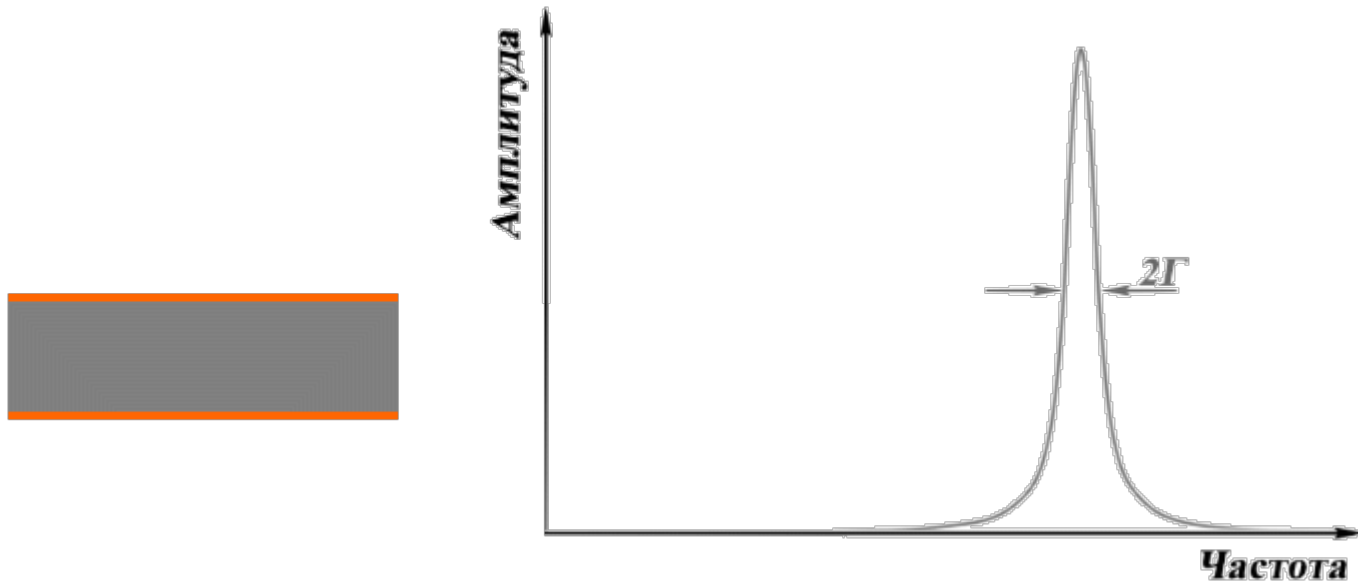
μ_q : модуль упругости кварца (сдвиговый),
2.947·10¹¹ г/(см×с²)

Для 5 МГц-кристалла с тепловым дрейфом резонанса ± 0.1 Гц $\Delta m \approx 2$ нг/см²

Микрогравиметрические сенсоры



Кварцевые микровесы с контролем диссипации энергии (QCM-D): принцип



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

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.



Области применения QCM (-D)



Изучение межмолекулярных взаимодействий

Количественное определение скоростей реакций ассоциации и диссоциации, констант связывания, быстрый скрининг партнеров

Изучение и контроль процессов формирования тонких пленок

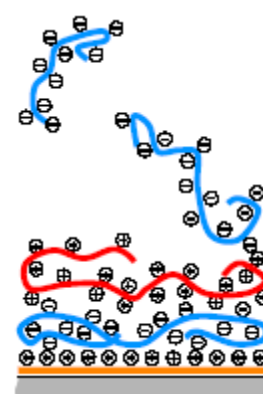
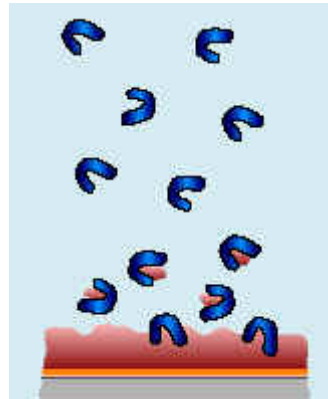
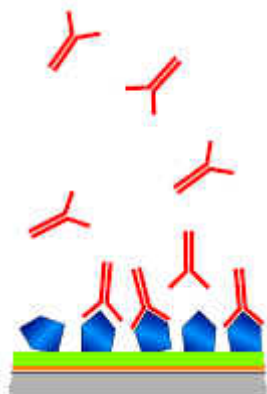
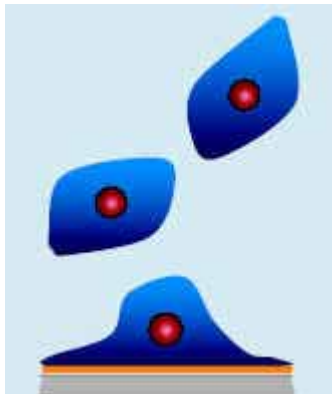
Микро- и наноэлектроника, функционализация поверхностей

Сенсорные устройства

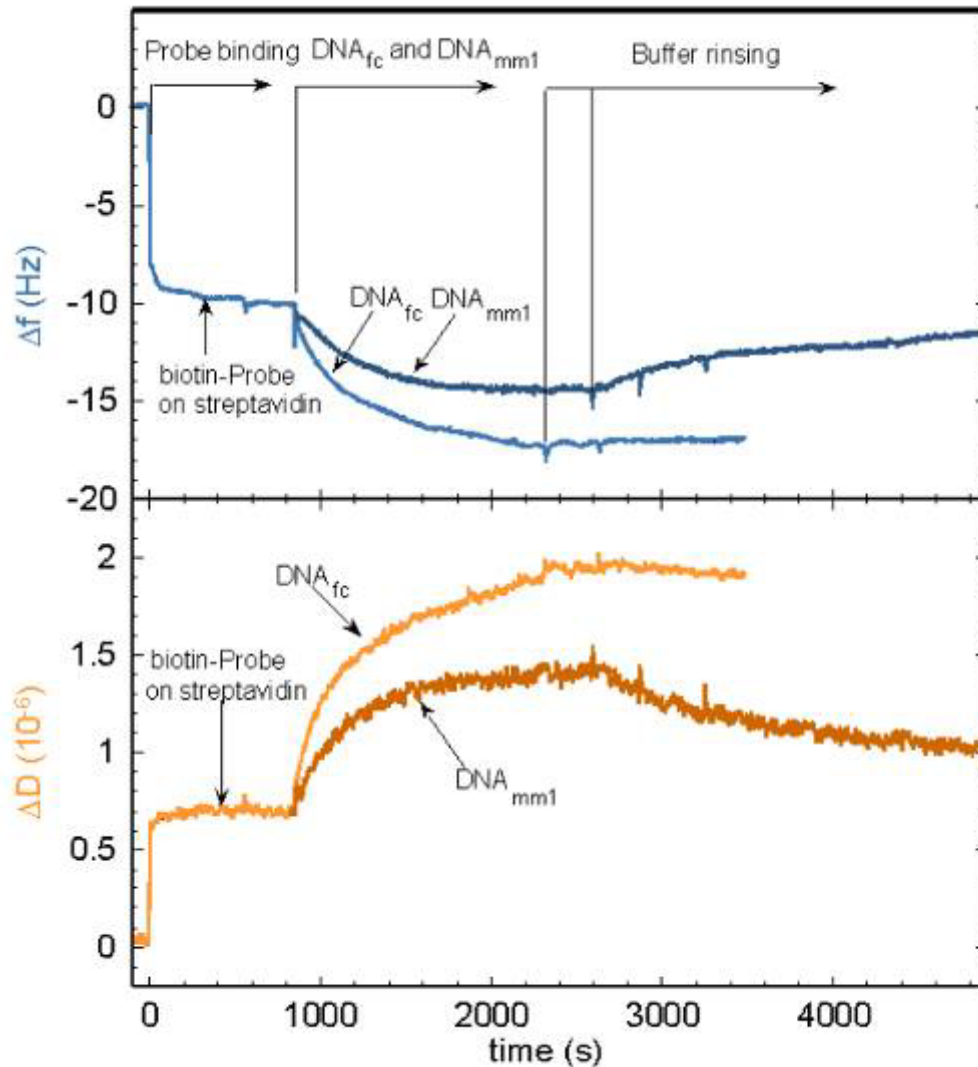
Газовые сенсоры, биосенсоры

Биосовместимые материалы

Взаимодействие клеток с поверхностью, адсорбция белков и полимеров, биodeградация поверхностей и пленок



Гибридизация ДНК



fc = full complement; mm1 – 1 mismatch





Измеряемая масса

D-фактор

in air (1 bar)

$\sim 1 \text{ ng/cm}^2$

$\sim 2 \times 10^{-8}$

in water (25 °C)

$\sim 5 \text{ ng/cm}^2$

$\sim 3 \times 10^{-7}$

- Активная область: $\sim 0.2 \text{ cm}^2$



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

«+» и «-» QCM(D)



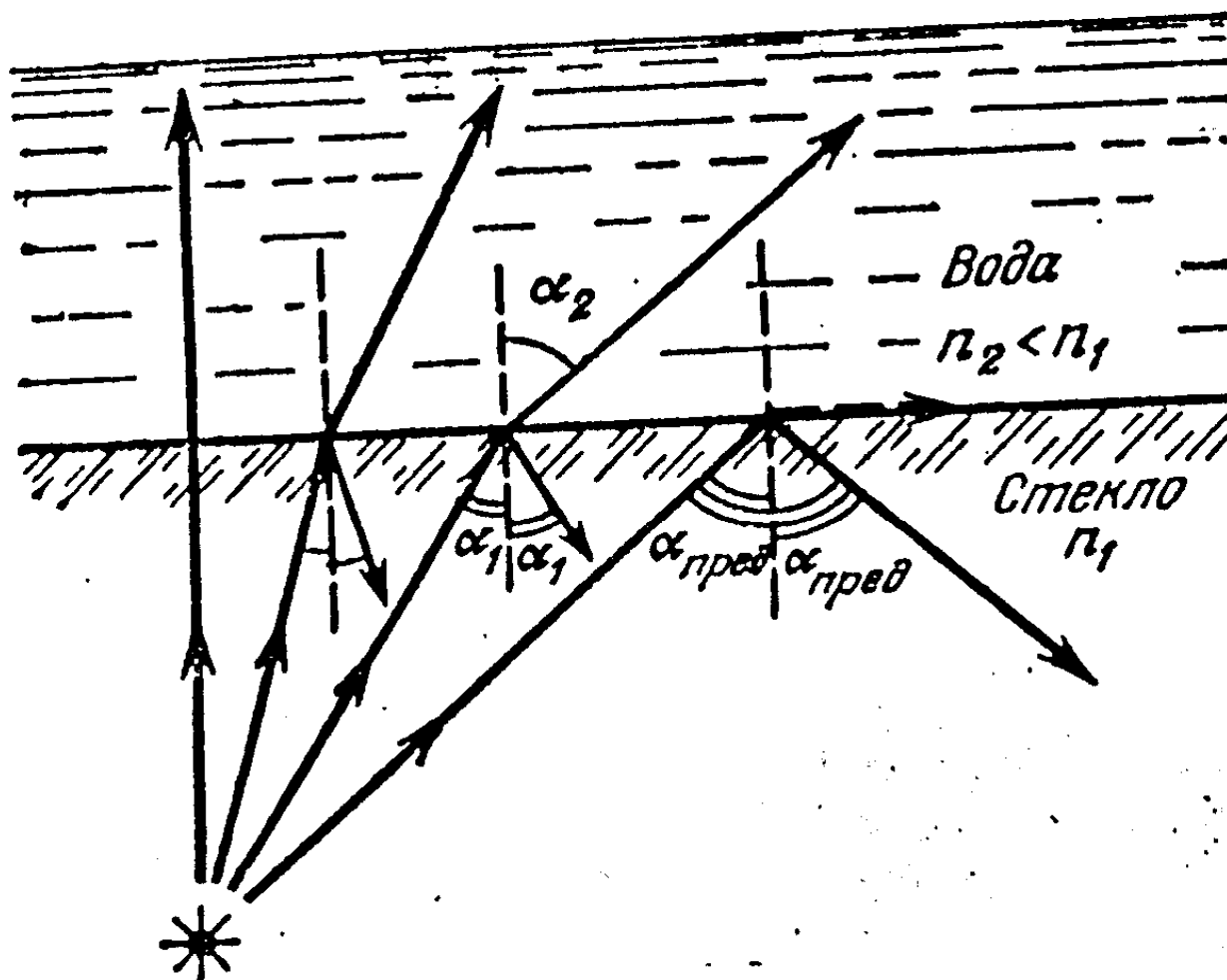
Достоинства:

- Дает возможность в реальном времени наблюдать за процессами, происходящими на поверхности, в частности за взаимодействием биомолекул в физиологических условиях без использования каких-либо меток
- Высокая чувствительность (до 0.1 нг/см², что составляет менее 1% заполнения поверхности для белка с молекулярной массой 30 кДа)
- Одновременное получение информации о массе пленки на поверхности и ее вязко-упругих характеристиках

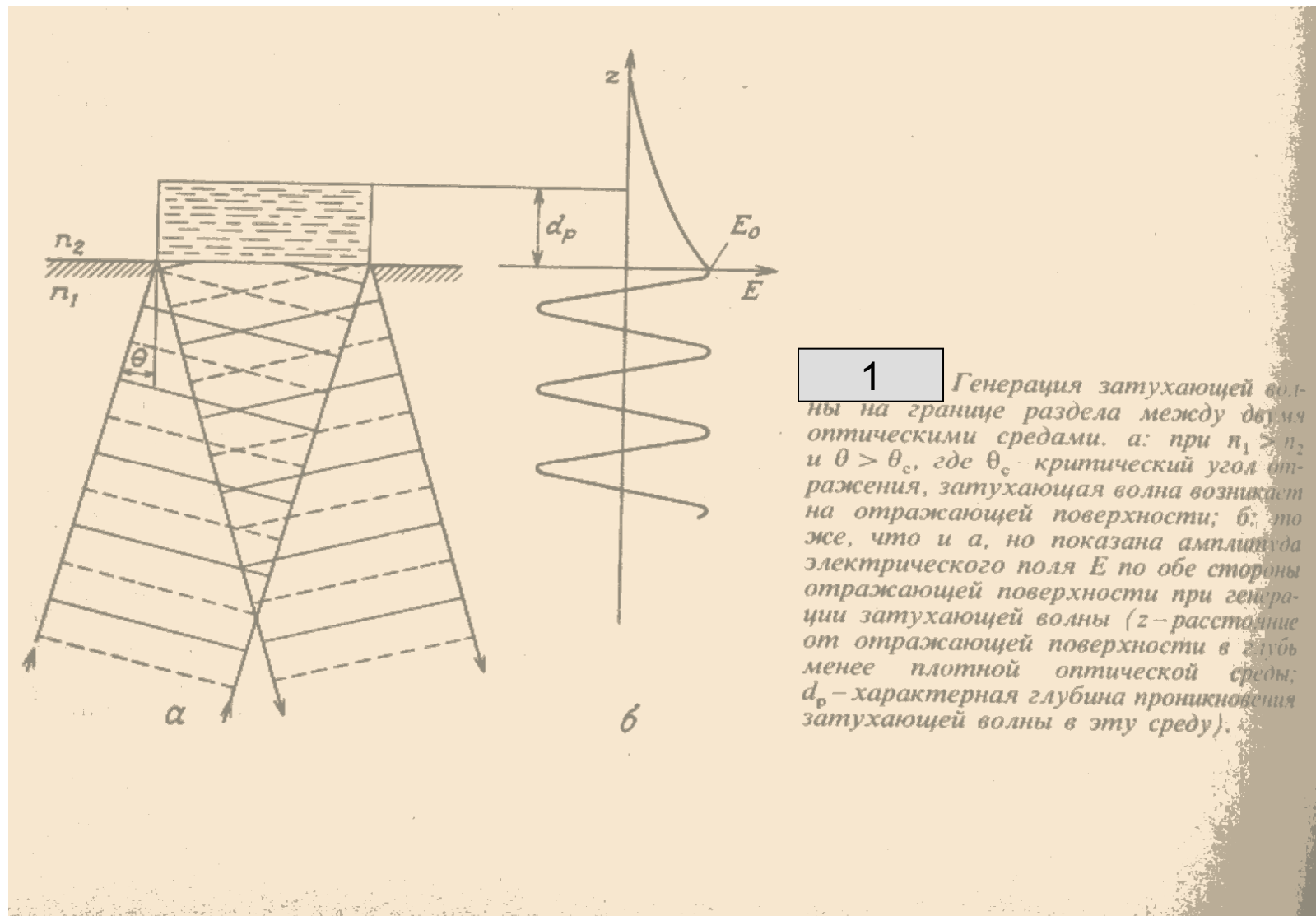
Недостатки:

- Масса, определяемая методом QCM(D) включает в себя связанные компоненты раствора (вода, ионы и проч.)
- Получаемые характеристики являются усредненными по площади, для более корректной интерпретации данных QCM(D) необходимо использовать в сочетании с АСМ или электронной микроскопией
- Высокая стоимость оборудования, что ограничивает использование QCM(D) в биоаналитических целях

Спектроскопия внутреннего отражения (СВО)



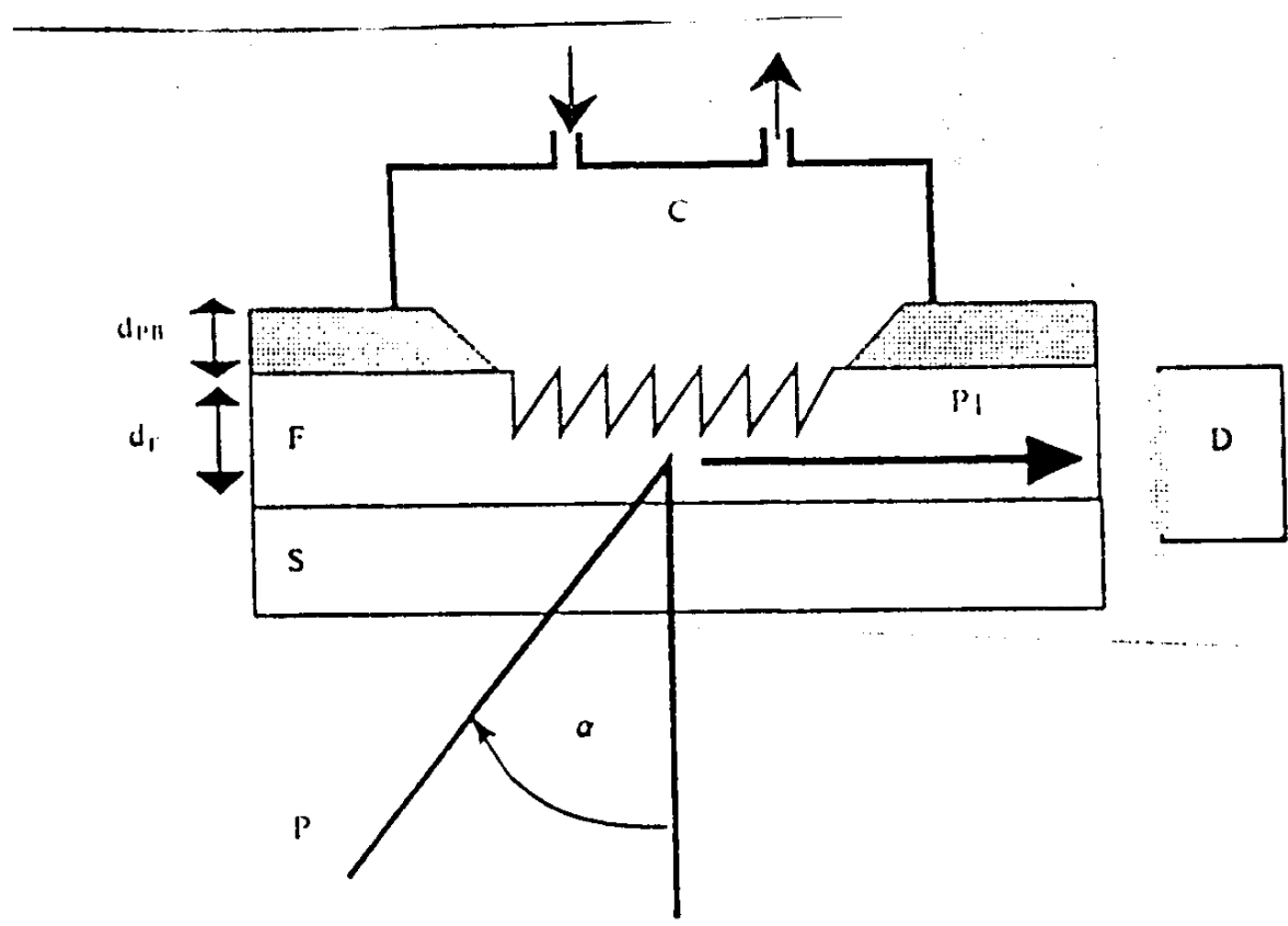
Спектроскопия внутреннего отражения (СВО)



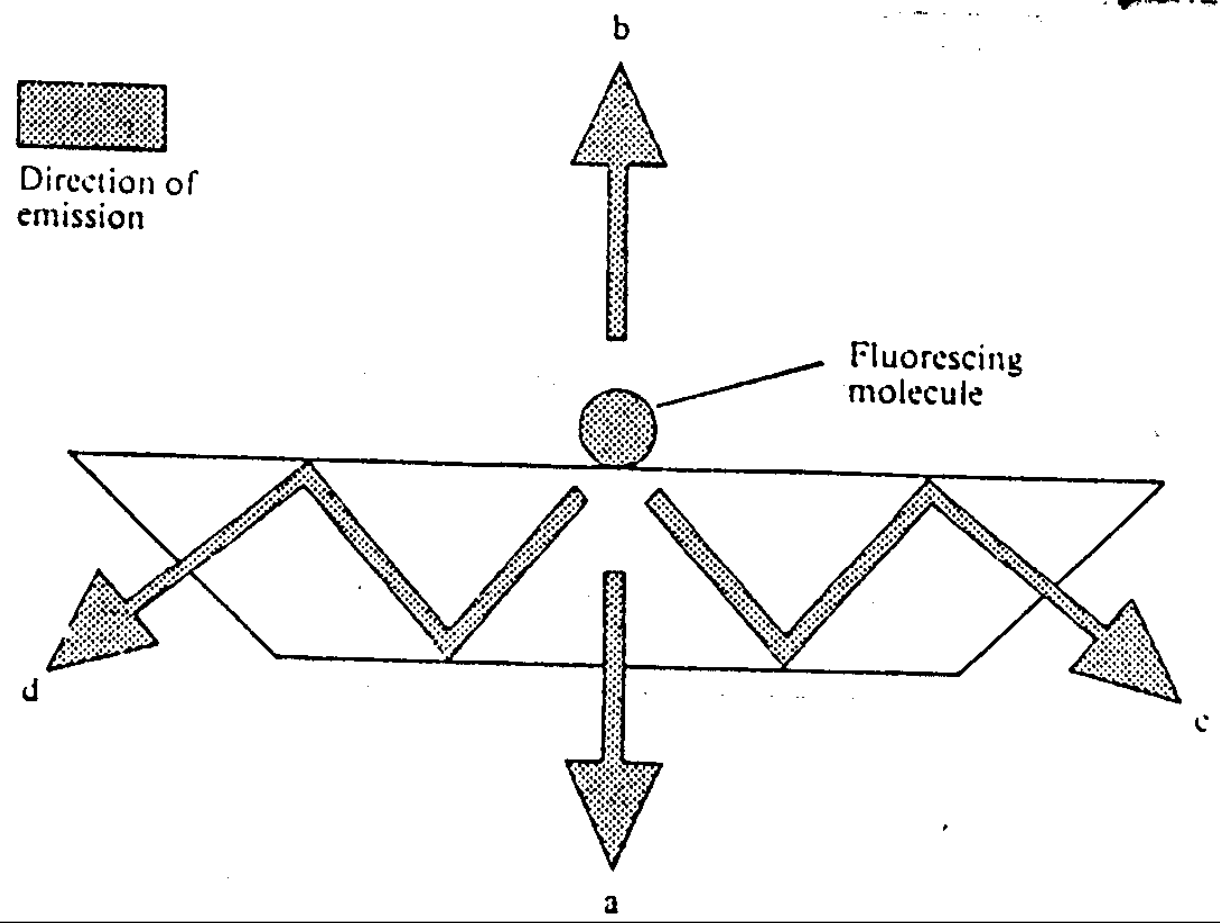
Нарушенное полное внутреннее отражение (НПВО) и НПВО с флуоресценцией (НПВОФ)



- 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



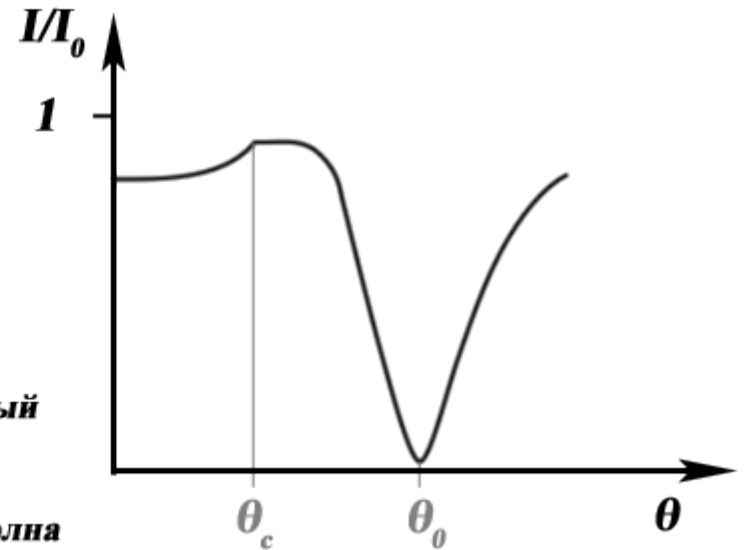
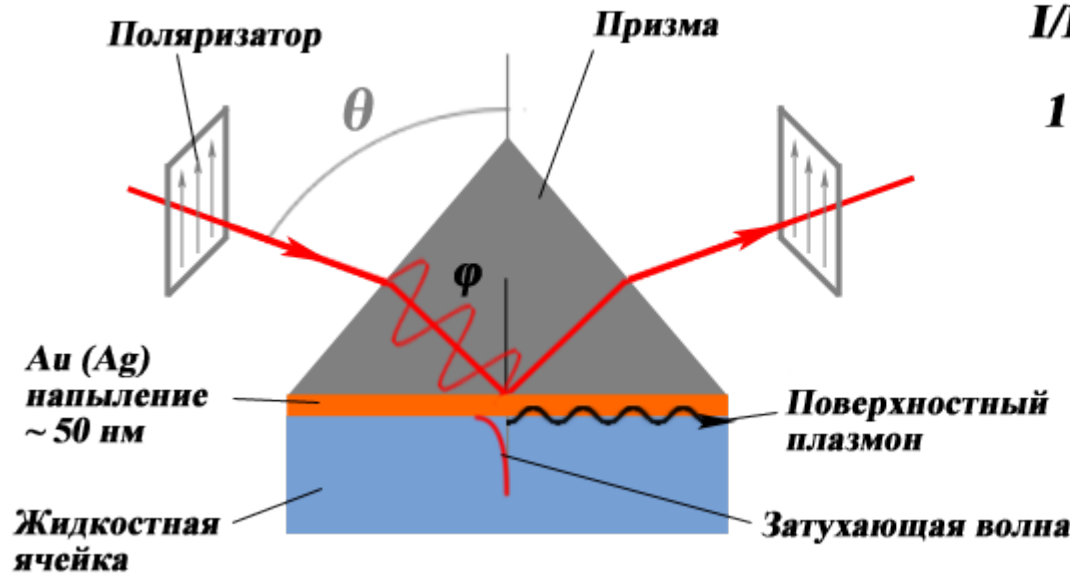
НПВОФ ячейка

Поверхностный плазмонный резонанс



Surface Plasmon Resonance (SPR)

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



Волновой вектор поверхностного плазмона:

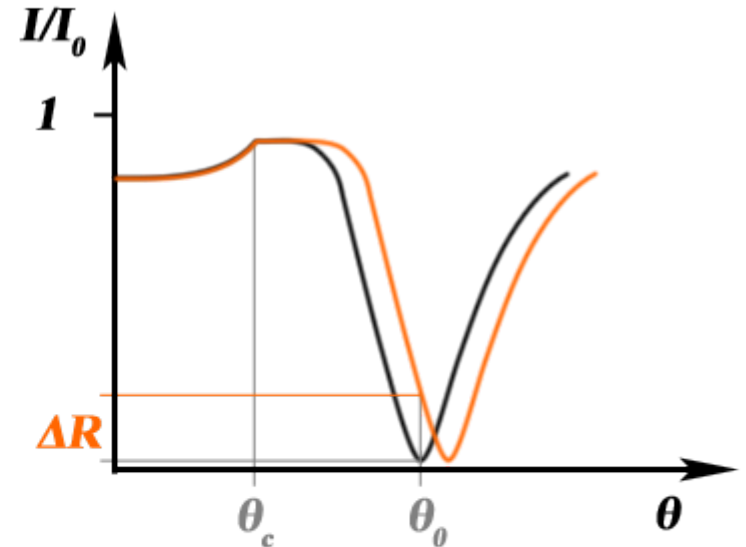
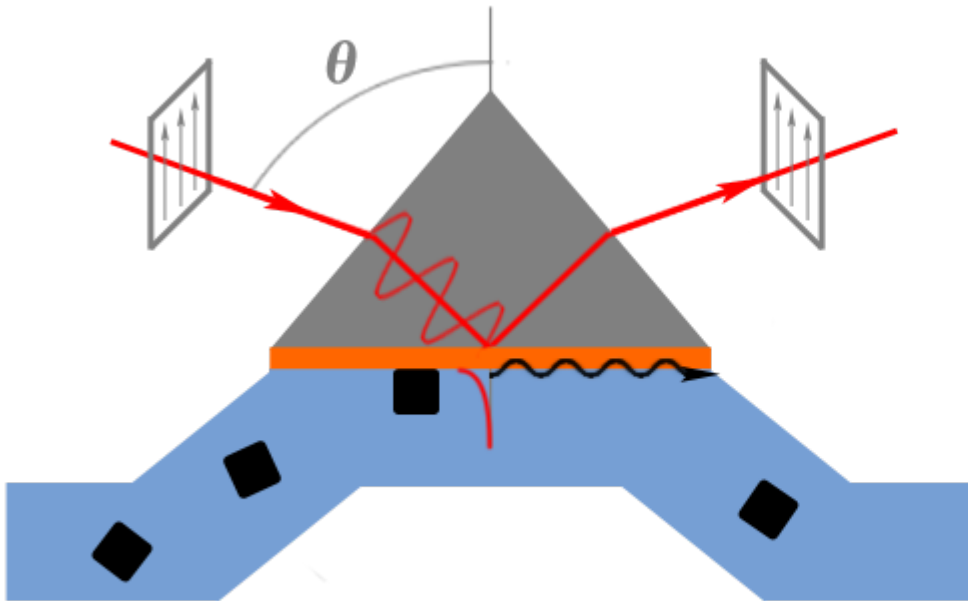
$$k_{sp} = \frac{2\pi}{\lambda} \sqrt{\frac{\epsilon_{Au} \epsilon_{p-ra}}{\epsilon_{Au} + \epsilon_{p-ra}}}$$

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

Поверхностный плазмонный резонанс

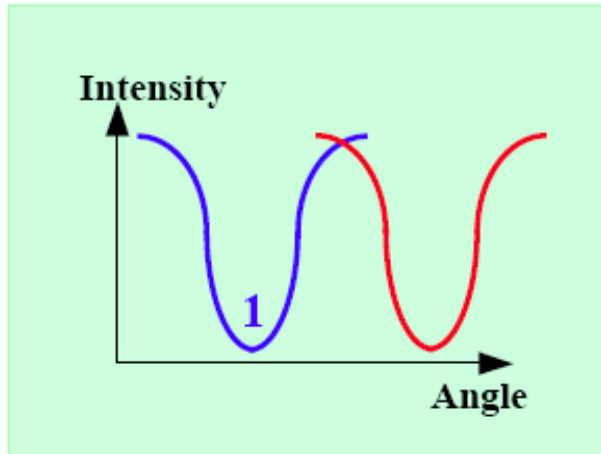


Изменение локальной диэлектрической проницаемости вблизи поверхности вследствие, например, взаимодействия свободного лиганда с иммобилизованным рецептором вызывает сдвиг положения резонанса

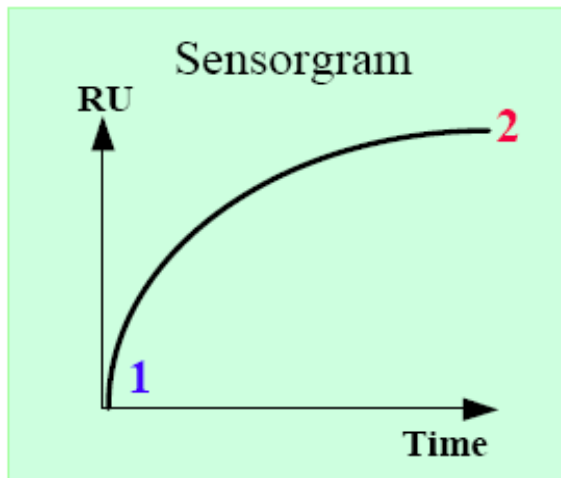


Чувствительность метода SPR составляет около 0.1 - 1 пг/мм²

Сенсограмма

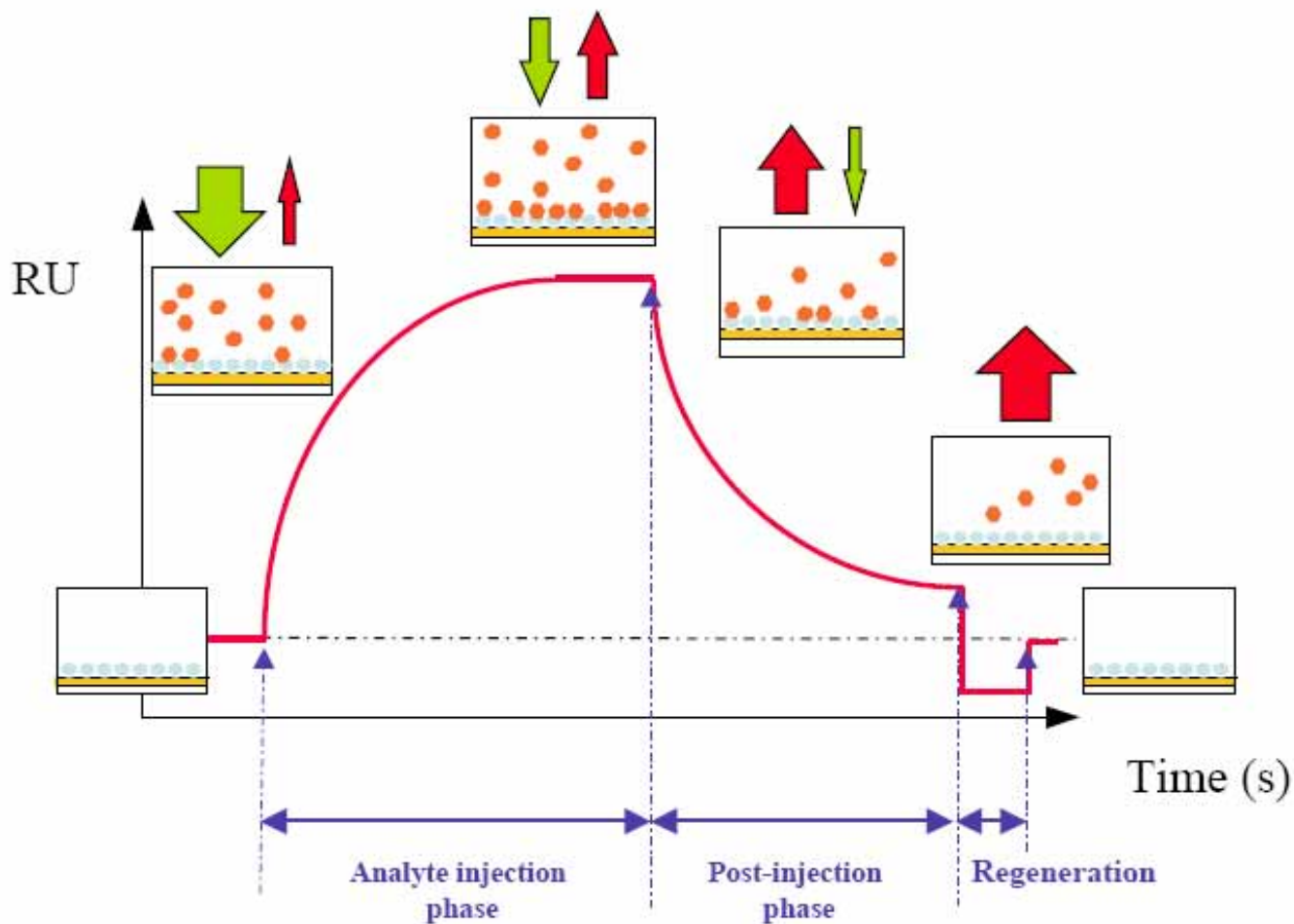


2



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

Фазы сенсограммы

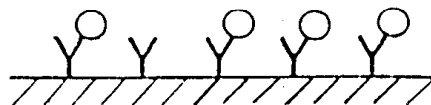
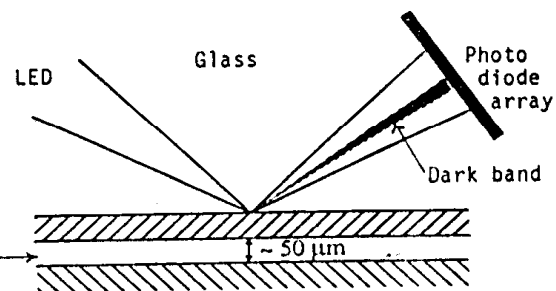
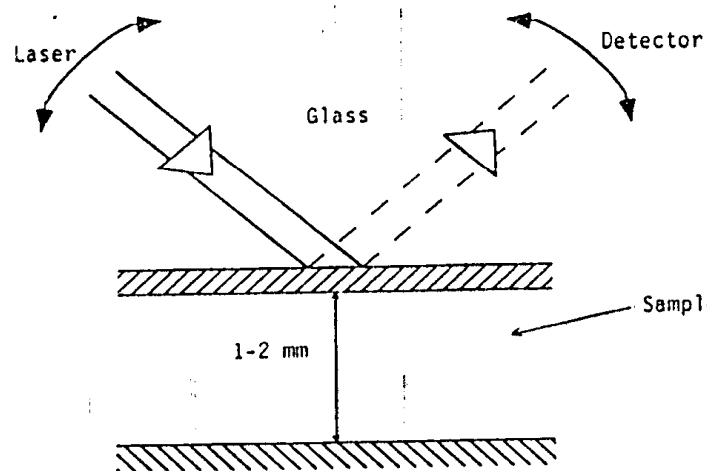


Подготовка поверхности

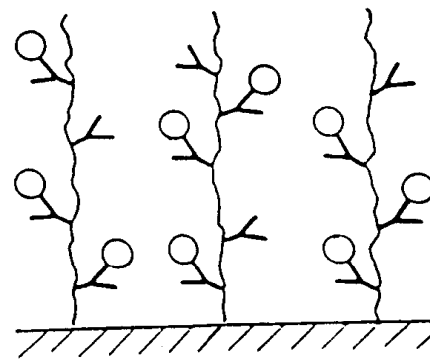


B. Liedberg et al.

Biosensors & Bioelectronics

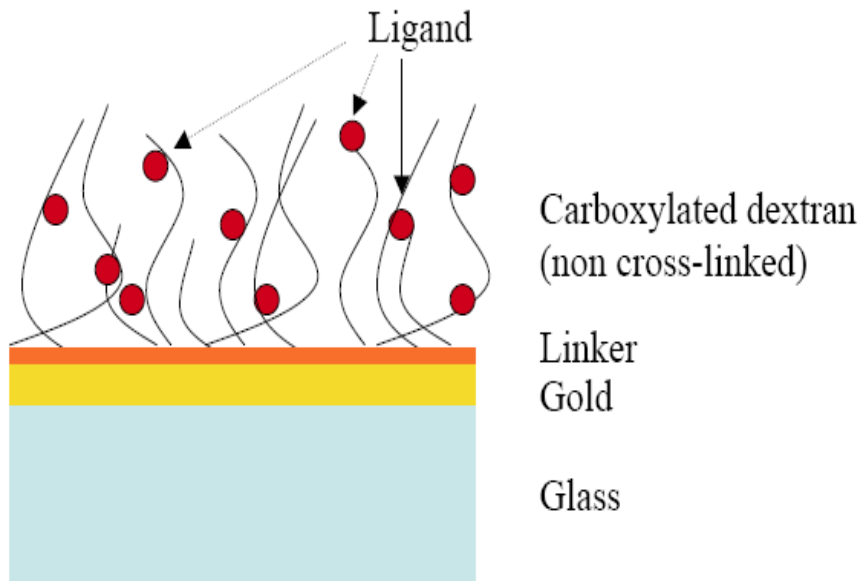


Sensing surface



Sensing surface

Подготовка поверхности



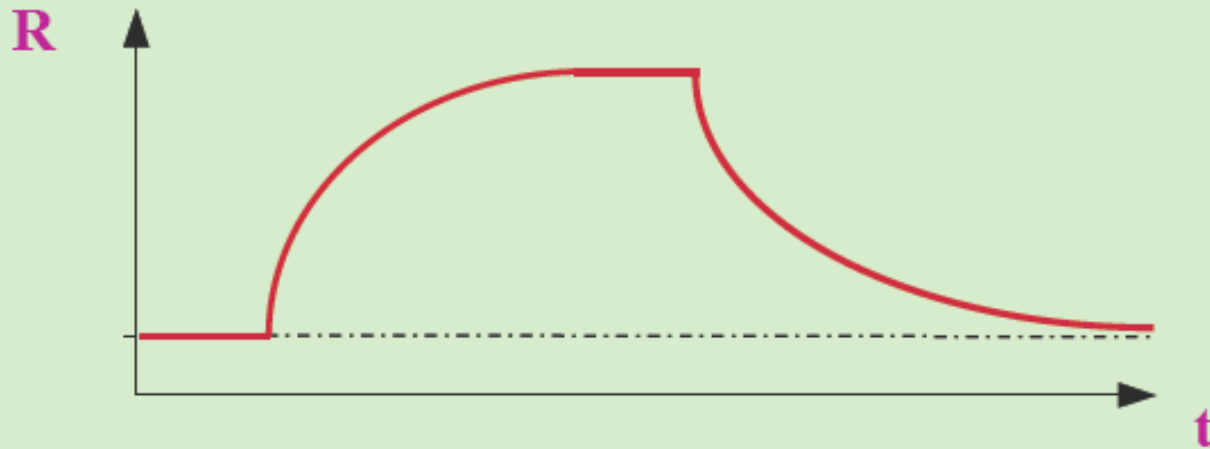
- Водное окружение (гидрогель, содержащий 97-98% воды).
- Мобильность (цепи не «прошиты»).
- Эффективное использование «эванесцент»-поля (толщина около 100нм).
- Увеличение чувствительности (больше мест связывания, чем на гладкой поверхности).
- Возможность ковалентной иммобилизации через карбоксильные группы.

Анализ сенсограмм



$$\frac{dR}{dt} = k_a C (R_{\max} - R) - k_d R \quad (\text{in kinetic conditions})$$

$$R = \frac{k_a \cdot C \cdot R_{\max}}{k_a \cdot C + k_d} \times (1 - e^{-(k_a \cdot C + k_d) \cdot t})$$



Области применения SPR



В целом те же, что и у QCM(D), за небольшими исключениями

Изучение межмолекулярных взаимодействий

Количественное определение скоростей реакций ассоциации и диссоциации, констант связывания, быстрый скрининг партнеров

Изучение и контроль процессов формирования тонких пленок

Ленгмюровские пленки, пленки, образованные по технологии слой-за-слоем (LBL)

Сенсорные устройства

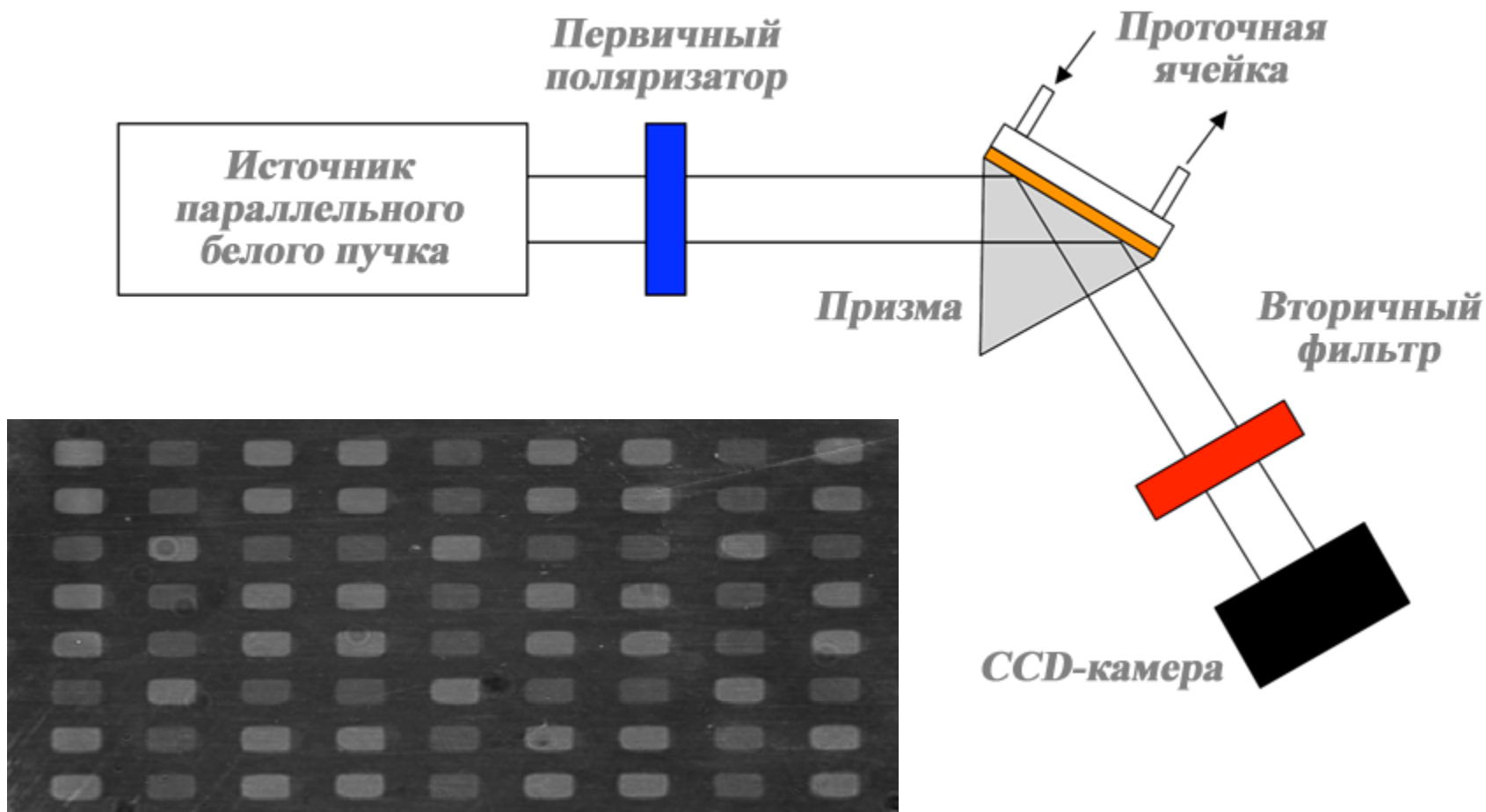
Биосенсоры и химические сенсоры

Биосовместимые материалы

Взаимодействие клеток с поверхностью, адсорбция белков и полимеров, биodeградация поверхностей и пленок



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

«+» и «-» SPR



Достоинства:

- Дает возможность в реальном времени наблюдать за процессами, происходящими на поверхности, в частности за взаимодействием биомолекул в физиологических условиях без использования каких-либо меток
- Высокая чувствительность (до 0.1 пг/мм^2), что позволяет изучать даже относительно низкомолекулярные вещества (от 400 Да)
- В случае SPR Imaging - высокая производительность за счет проведения одновременно до нескольких сот измерений.

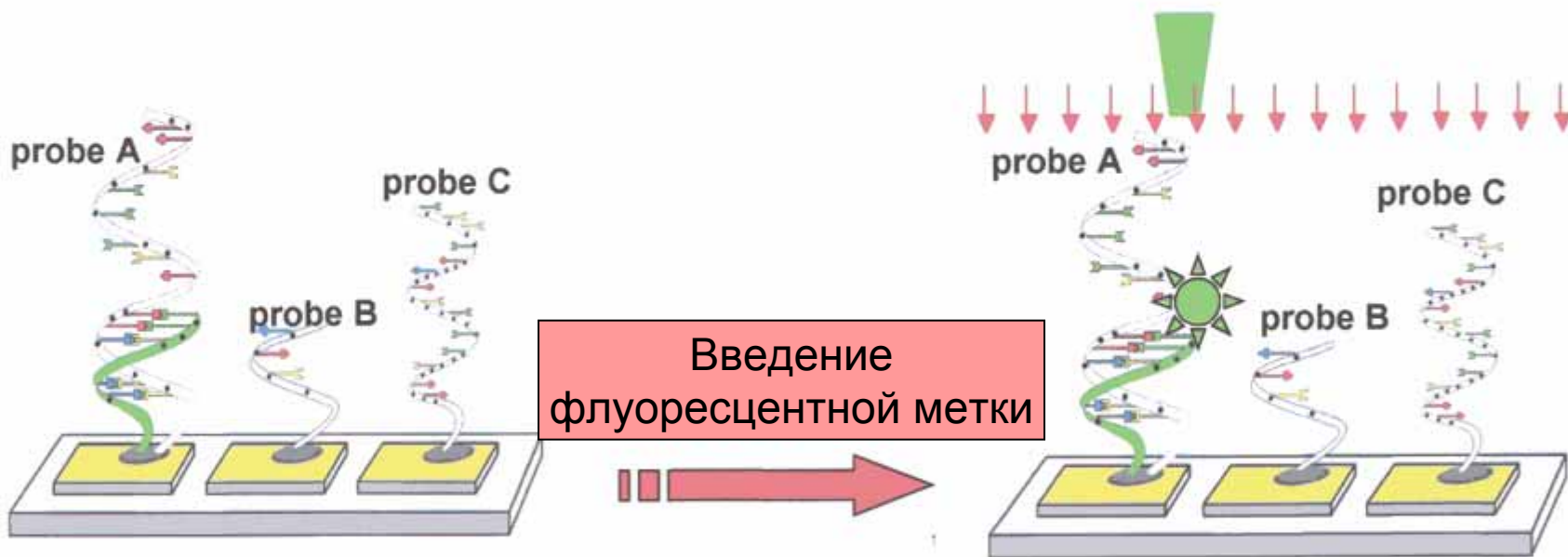
Недостатки:

- Как и в случае QCM-D, получаемые характеристики являются усредненными по площади, для более корректной интерпретации данных SPR необходимо использовать в сочетании с АСМ или электронной микроскопией

ДНК -чипы

Гибридизация образцов

Детекция образовавшихся комплексов

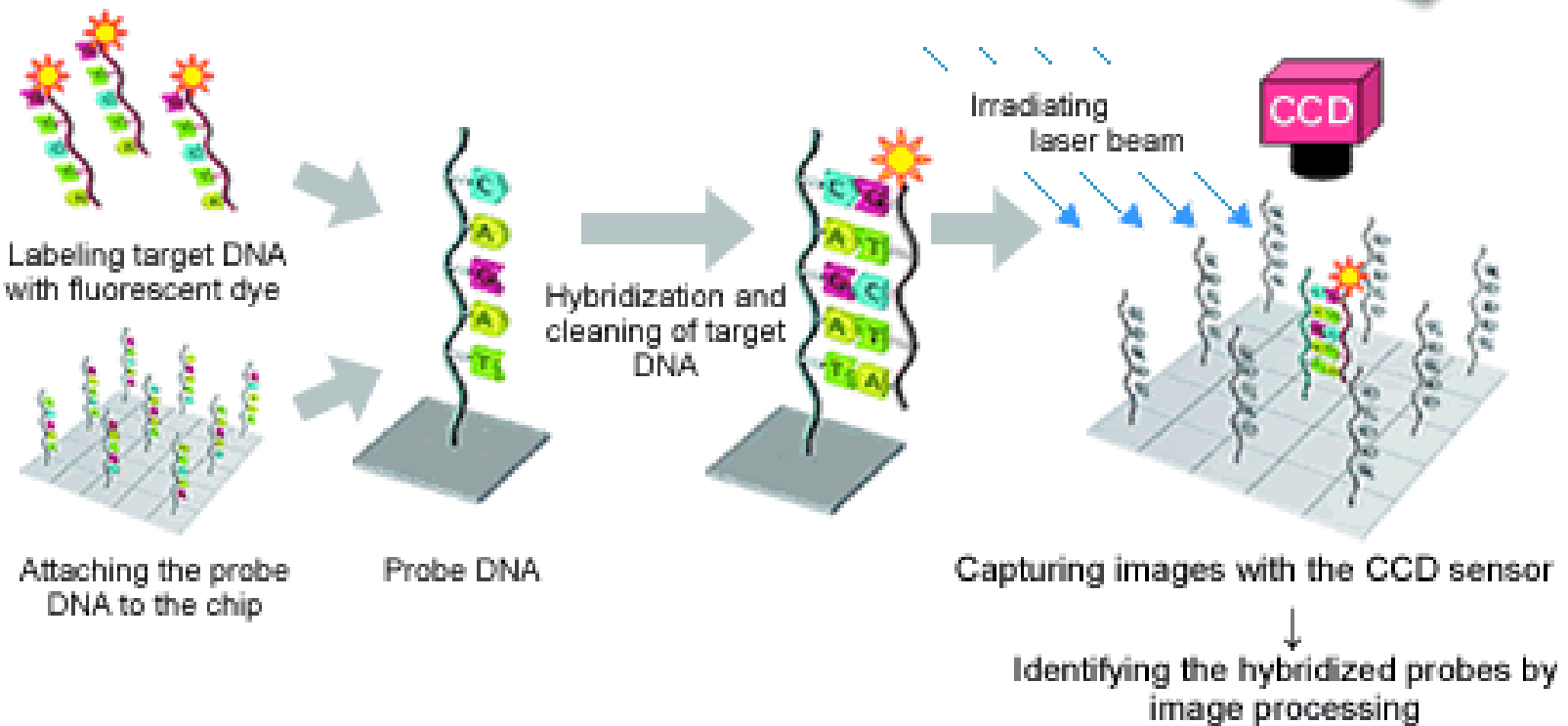




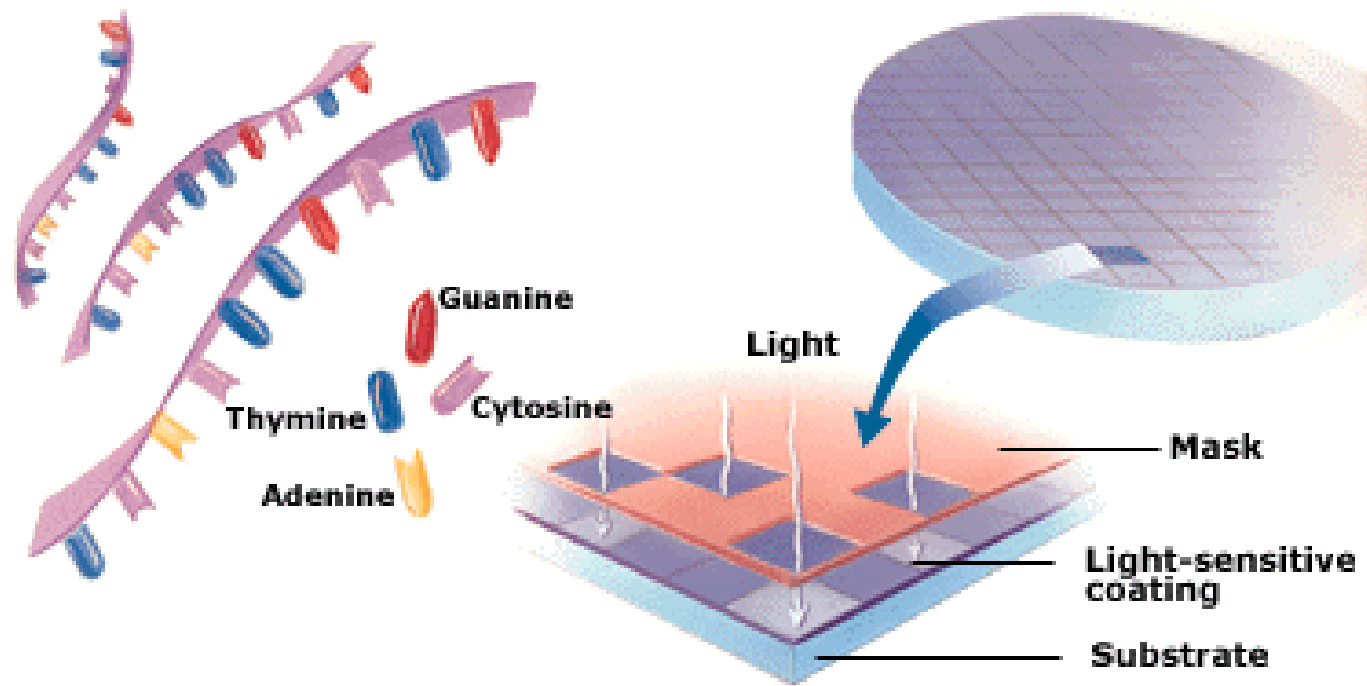
Предварительное введение флуоресцентной метки



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.



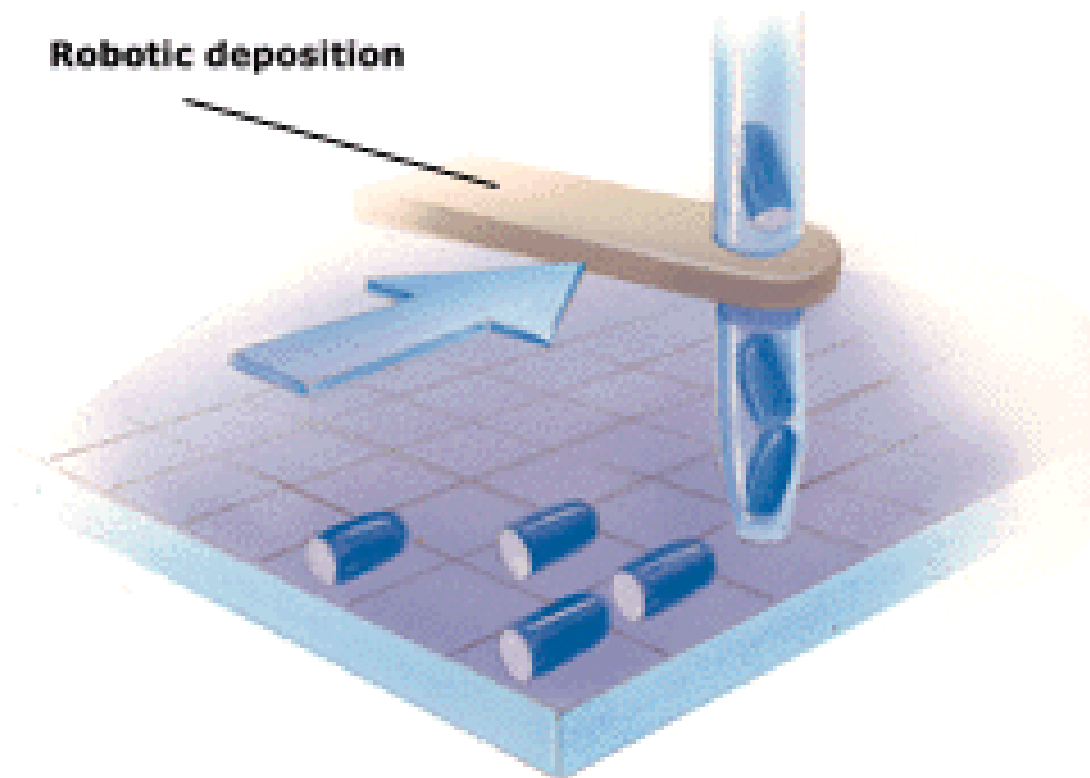
Изготовление ДНК-чипов



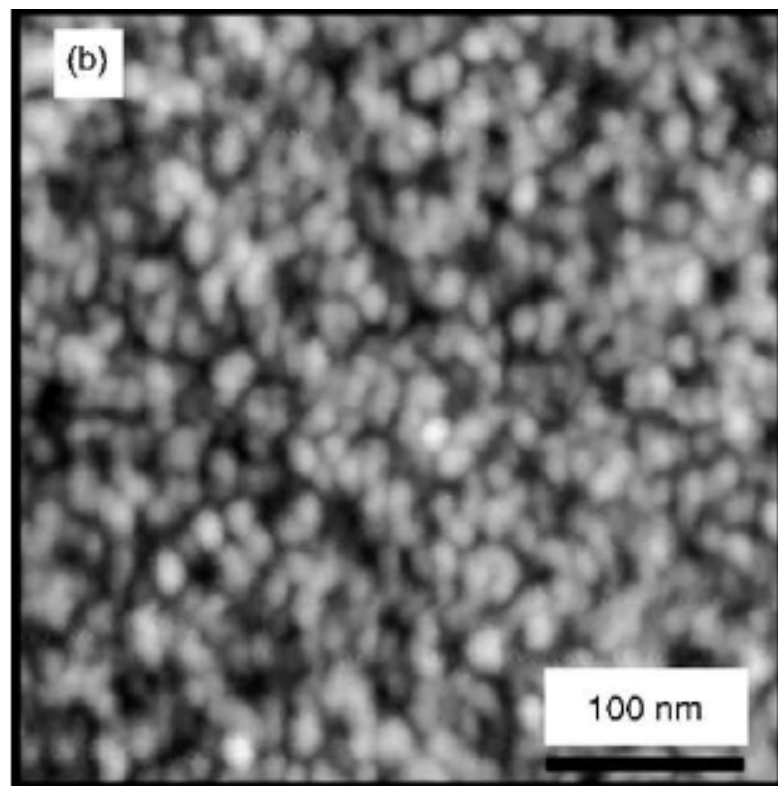
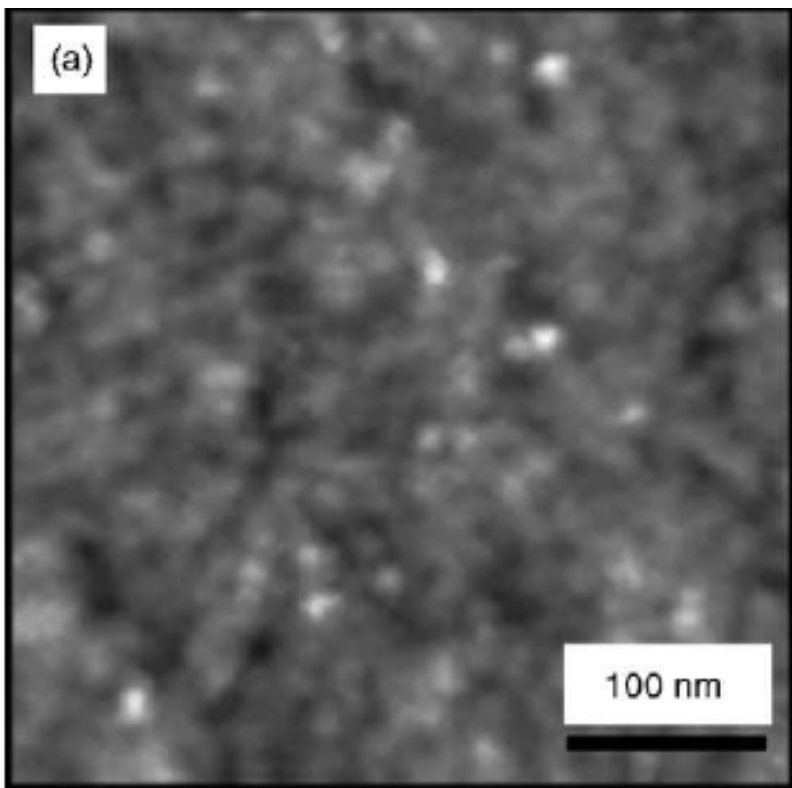
Нанесение генетического материала



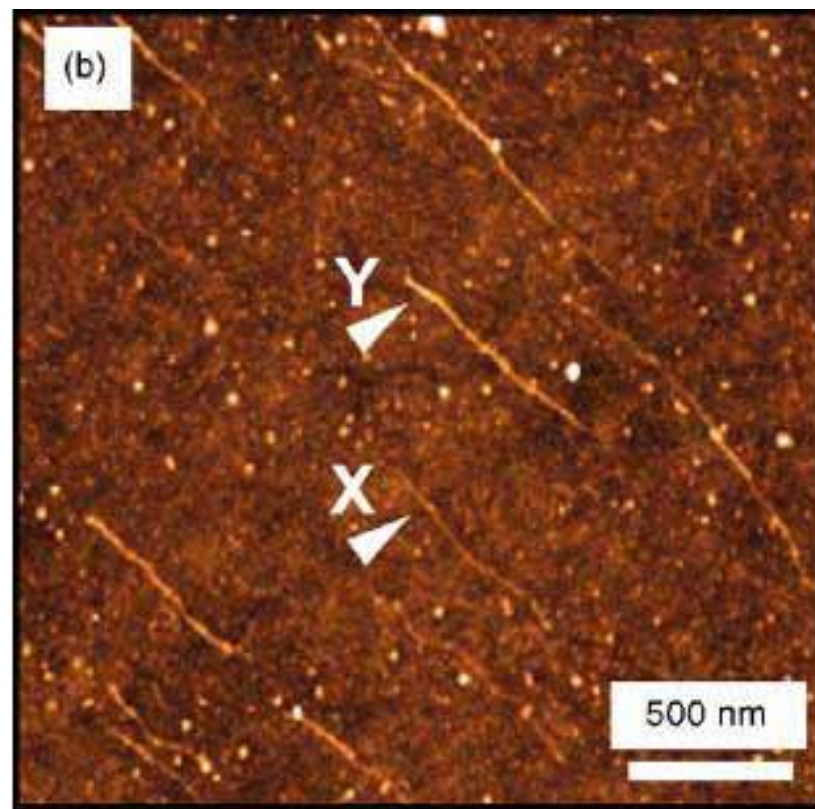
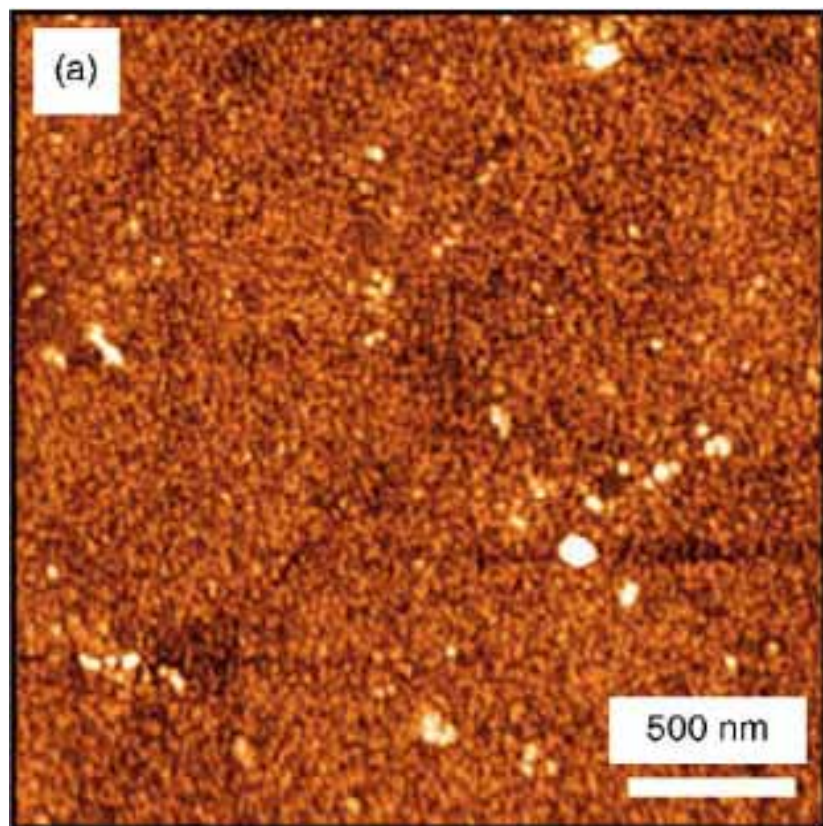
Robotic deposition



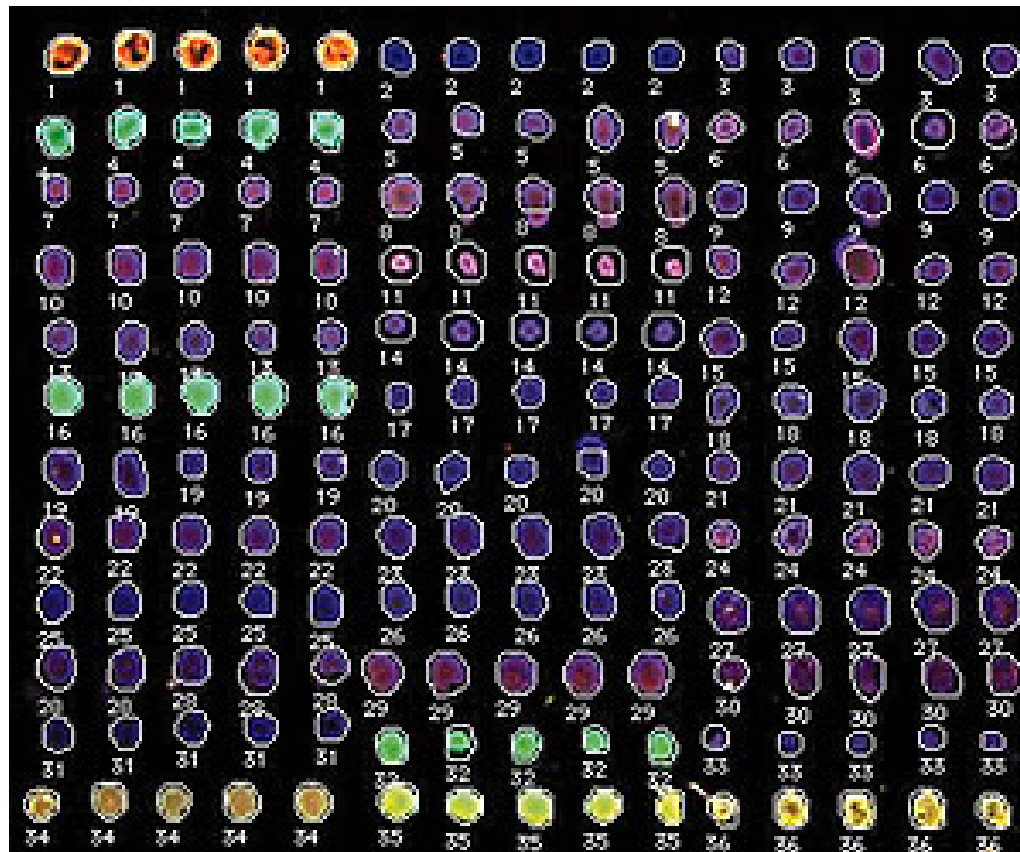
АСМ-изображение поверхности ДНК-чипа до и после иммобилизации зонда



АСМ-изображение поверхности ДНК-чипа до и после гибридизации



Типичный вид ДНК-чипа после анализа



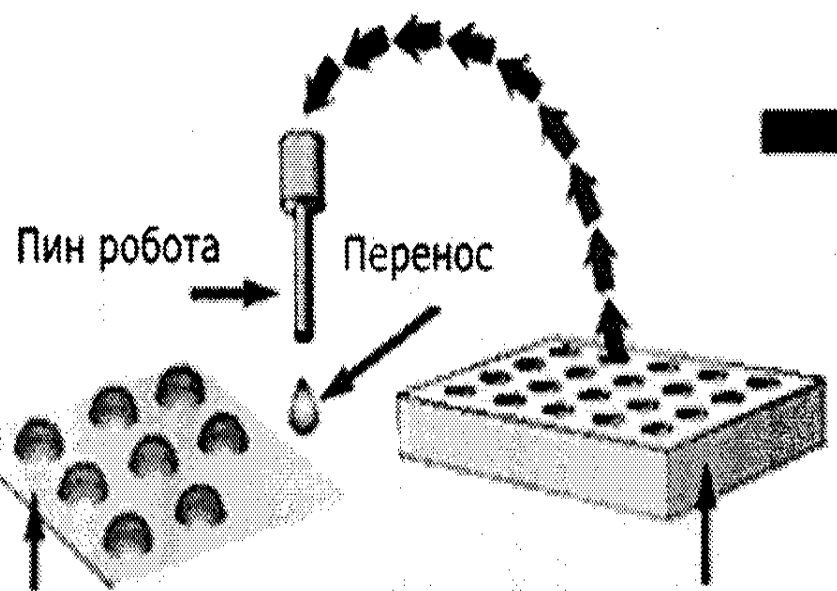


Биологические микрочипы, содержащие иммобилизованные в гидрогеле нуклеиновые кислоты, белки и другие соединения и частицы

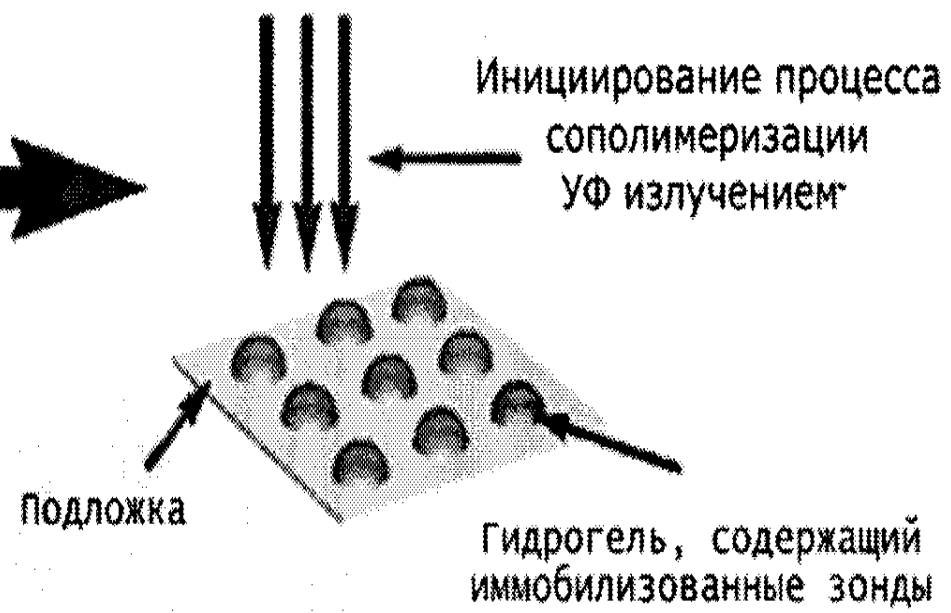
- **МАГИК – чип (Матрица Гель-Иммобилизованных Компонентов на микрочипе)**



Робот переносит растворы зондов из планшета на подложку

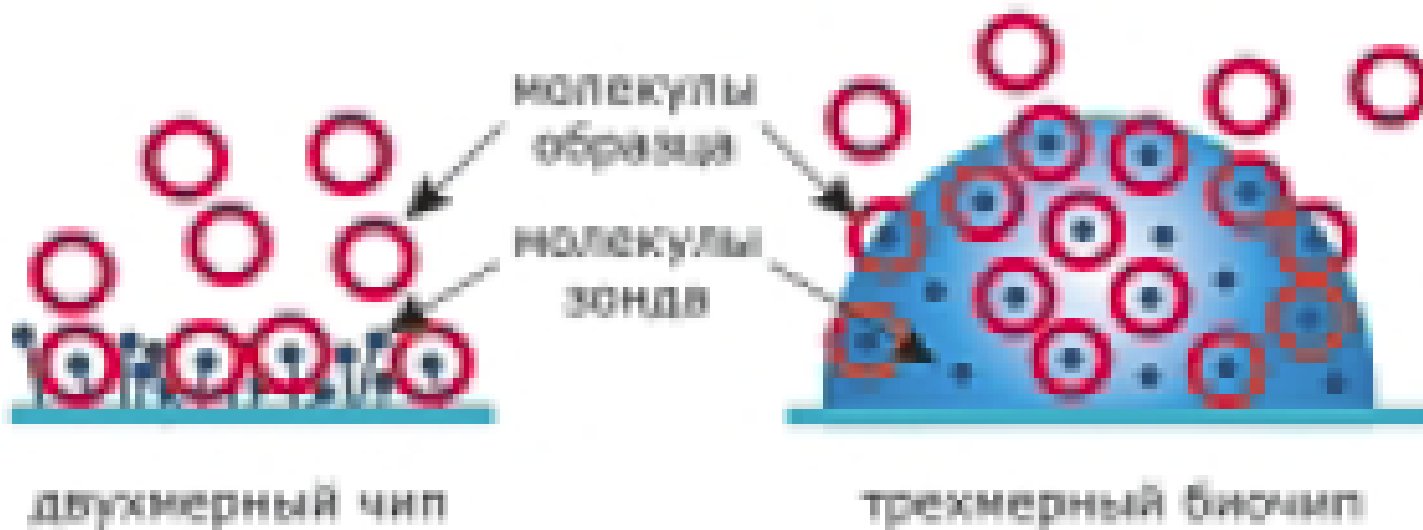


УФ излучение



Диаметр капли-150 мкм, период-350 мкм

Молекулярные взаимодействия на поверхностных и МАГИК-микрочипах





Анализатор биочипов с портативным флуоресцентным микроскопом, разработанный в ИМБ РАН



Сравнение характеристик поверхностных и гелевых биочипов



- **Поверхностные**

- Быстрая кинетика гибридизации.
- Подложка вносит существенную неоднородность в процессы гибридизации и детекции.
- Хранение при комнатной температуре – 2 месяца.

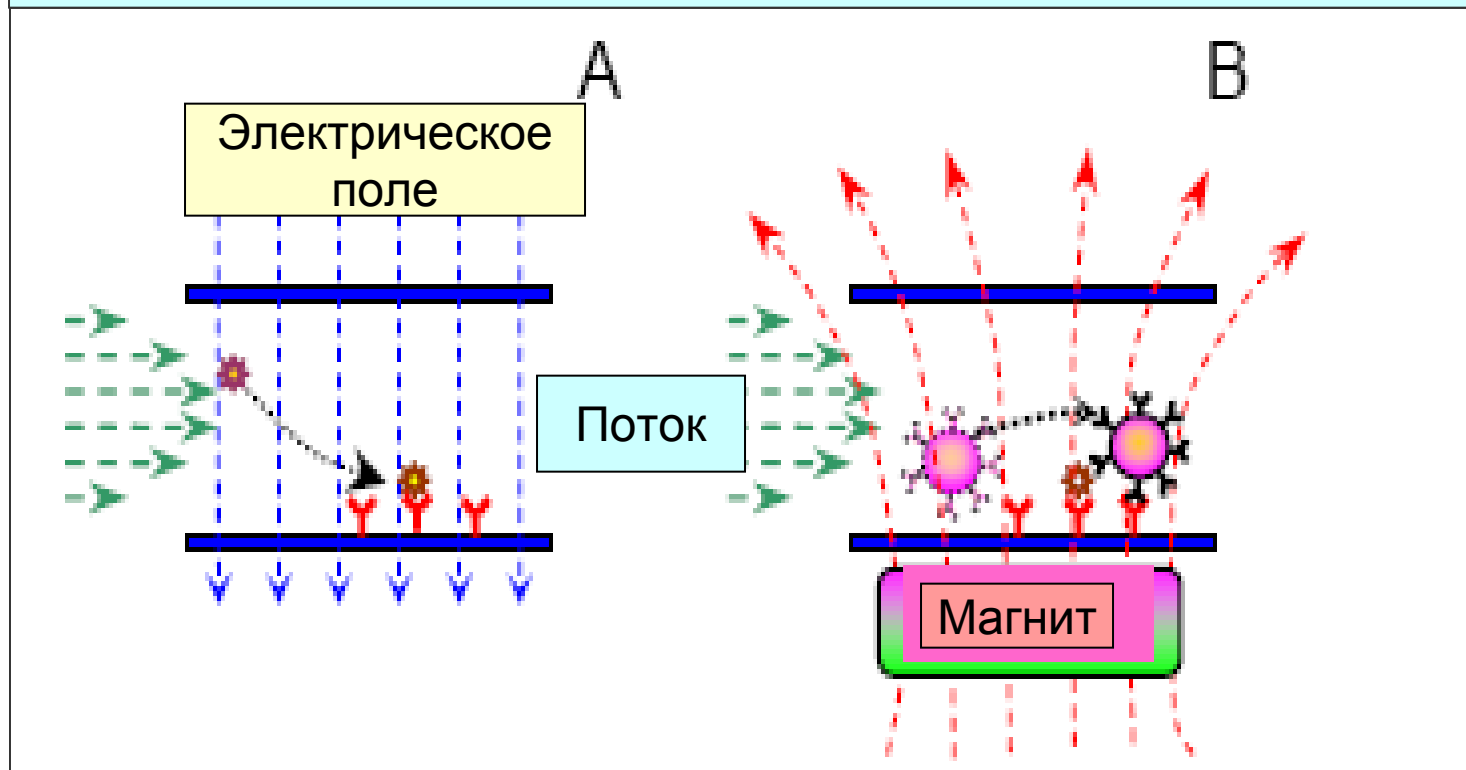
- **Гелевые**

- Взаимодействие между молекулами ДНК примерно такое же, как в растворе (не требуется линкер длиной около 15-30 п.н.).
- Общее число иммобилизуемых зондовых молекул на 2-3 порядка выше, более сильный флуоресцентный сигнал.
- Сигналы флуоресценции, дискриминация между совершенными и несовершенными комплексами выше уже на ранней стадии гибридизации.
- Хранение при комнатной температуре – 1 год.

Ускорение иммунореакций за счёт электрического и магнитных полей



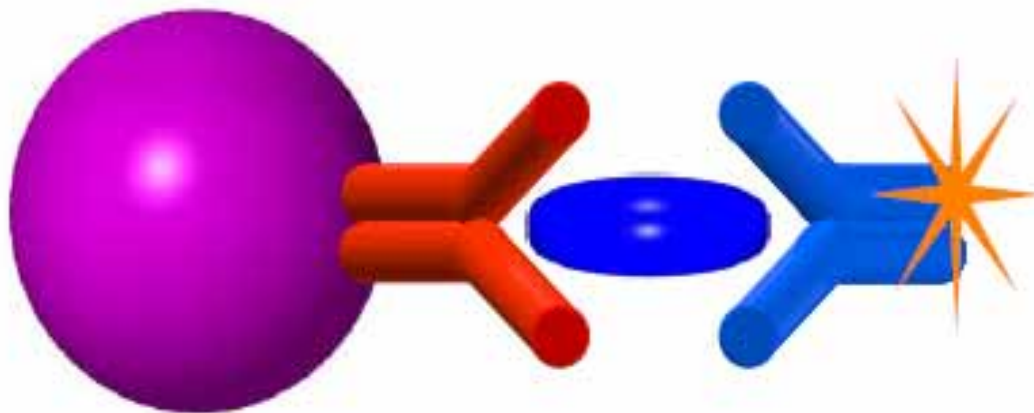
Ускорение реакций на поверхности чипов



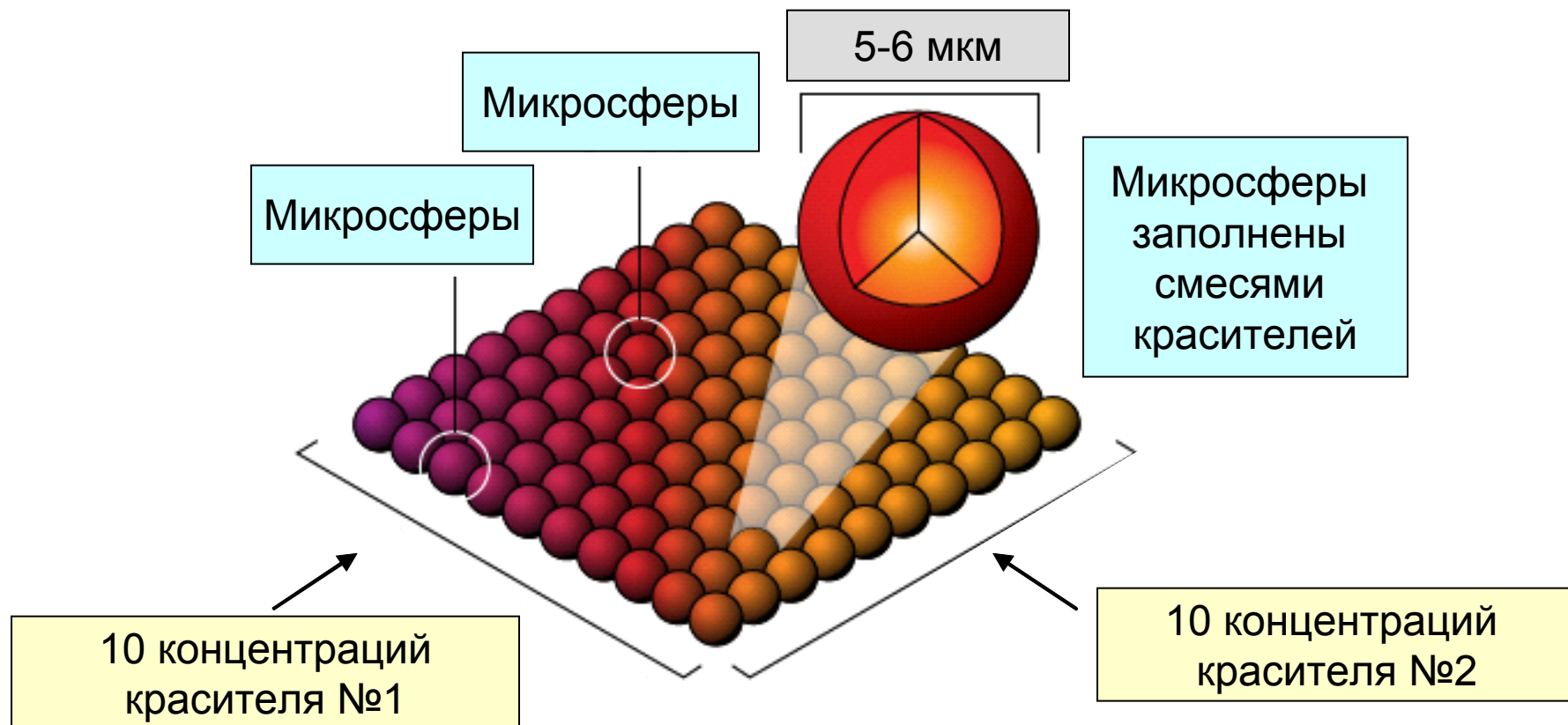
Микросферы



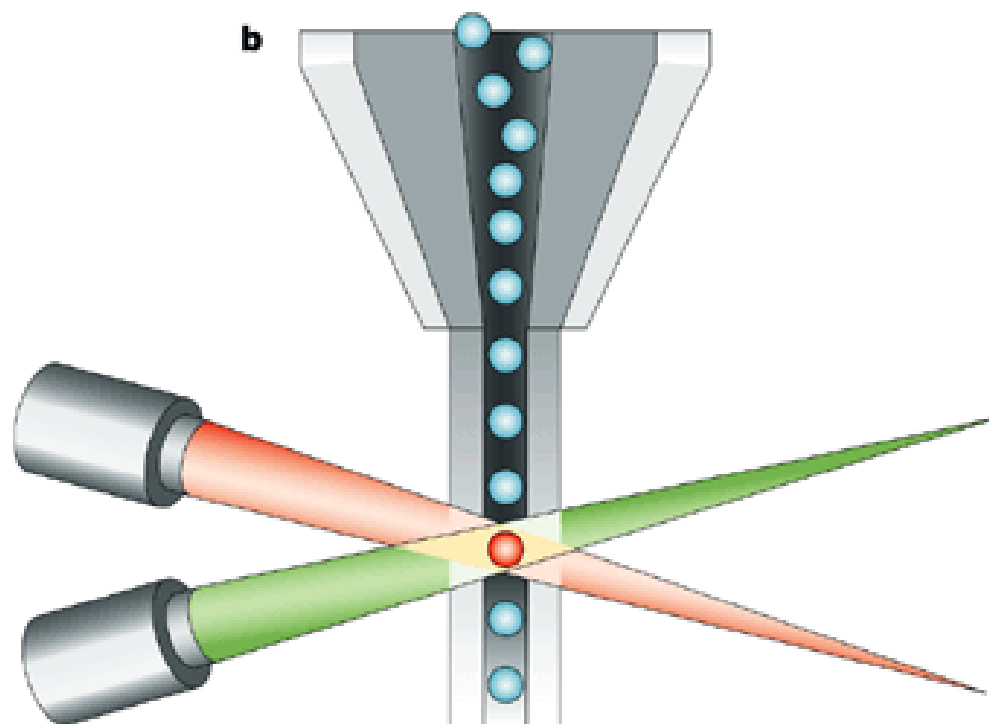
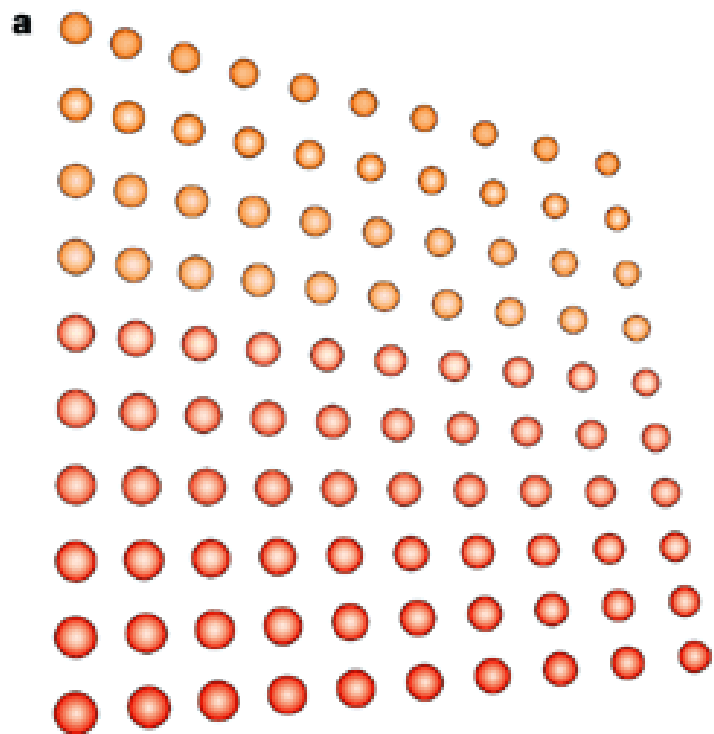
Иммуноанализ с использованием микросфер



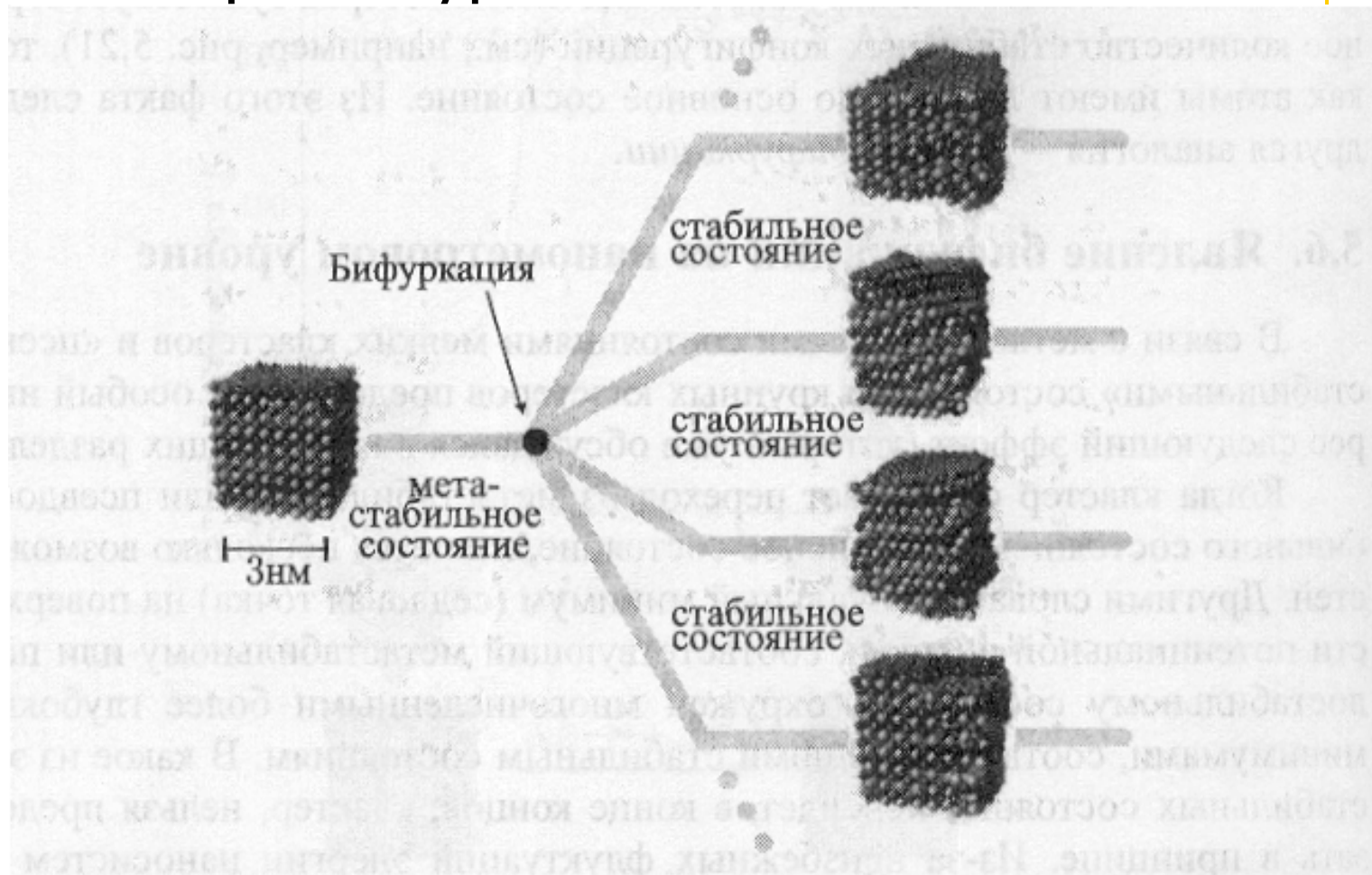
Микросферы



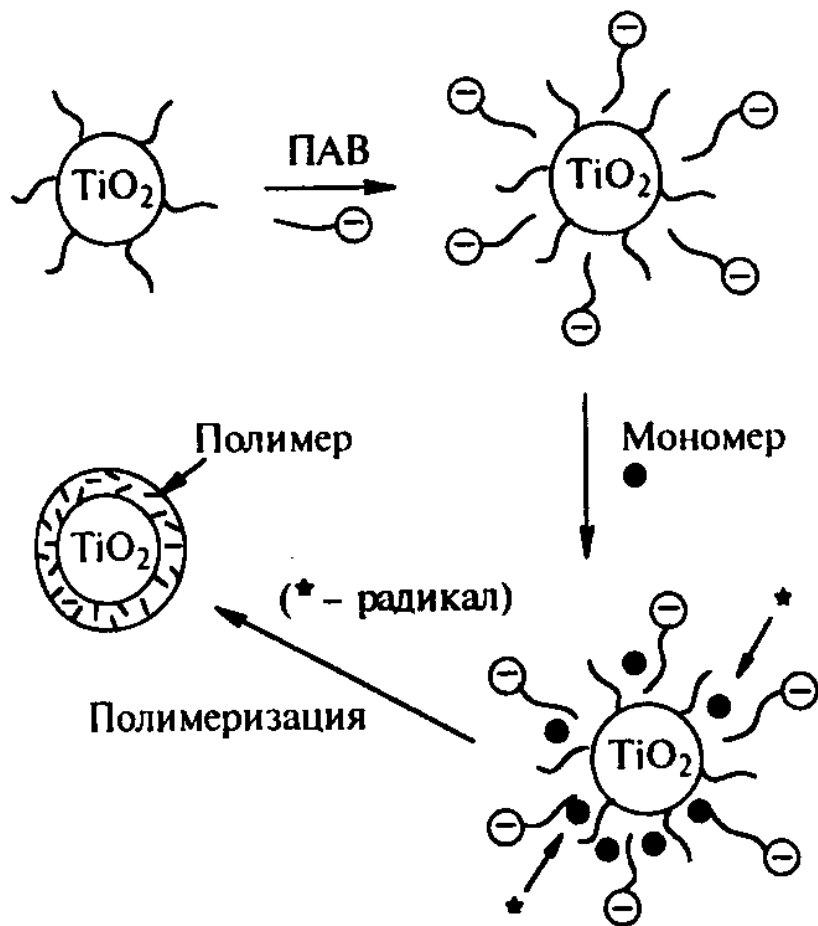
Регистрация сигналов от микросфер



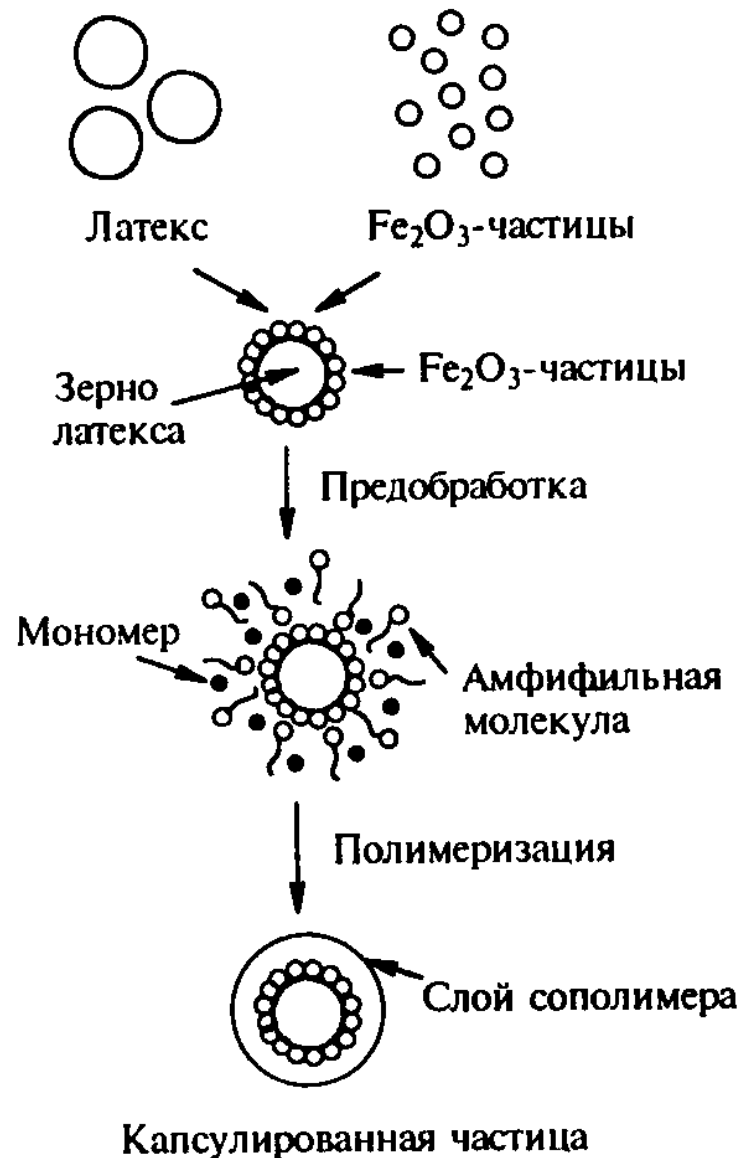
Получение наночастиц. Явление бифуркации на нанометровом уровне



- Стабильное состояние, в которое, в конце концов, перейдет метастабильный кластер, предсказать невозможно.
- Образно говоря, в точке бифуркации природа бросает жребий, чтобы решить, в каком из различных ответвлений останется кластер.



a



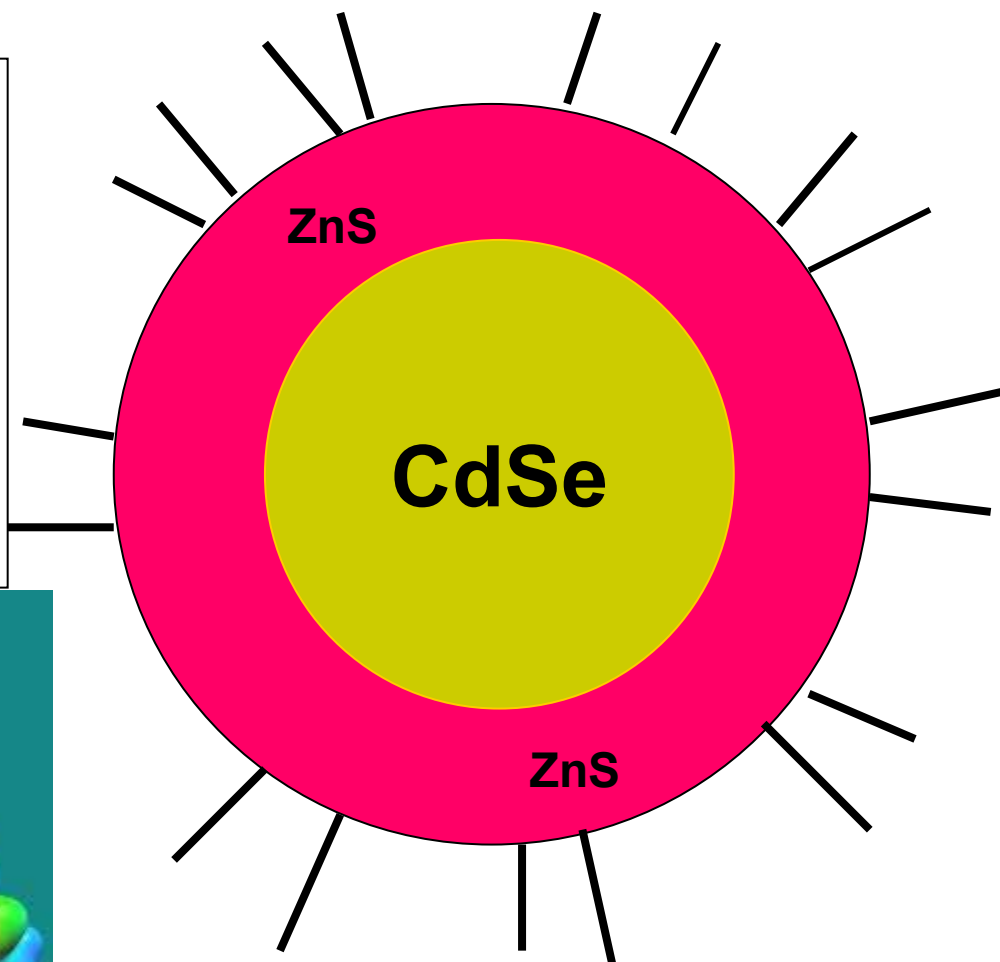
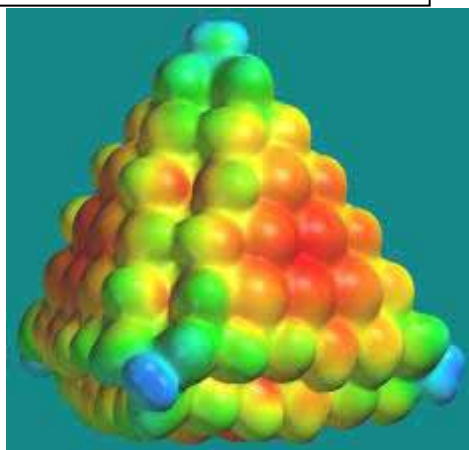
b

Эмульсионная полимеризация на поверхности НРЧ и их инкапсулирование

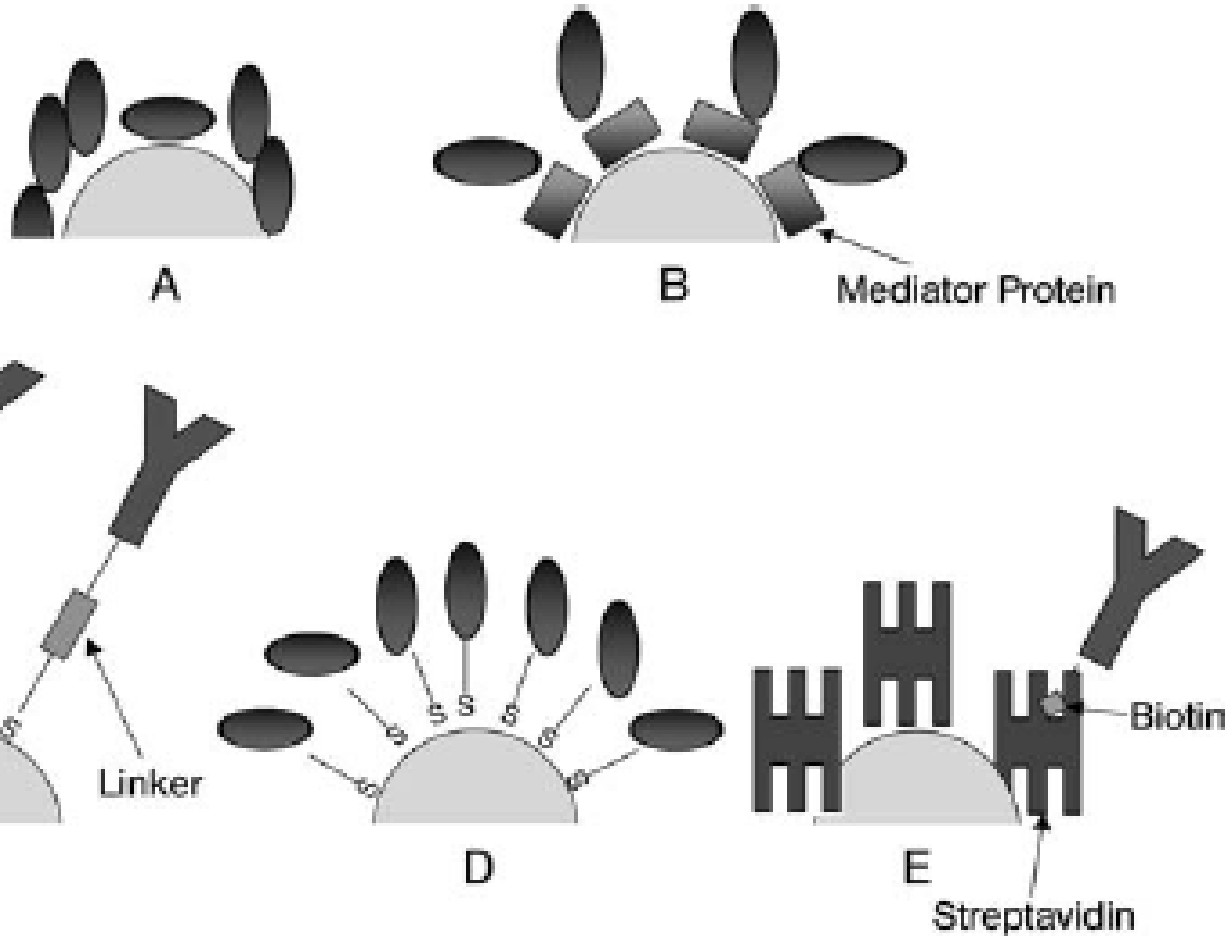
Полупроводниковые наночастицы – квантовые точки



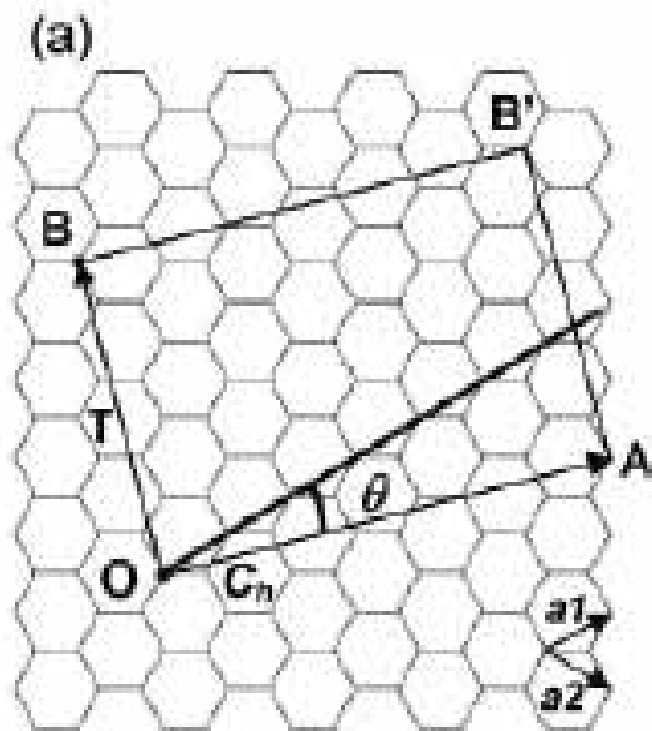
- InAs
- CdS
- CdSe
- CdTe



Стратегия получения конъюгатов наночастиц и биомолекул



Углеродные нанотрубки: образование из графеновых листов



(b)



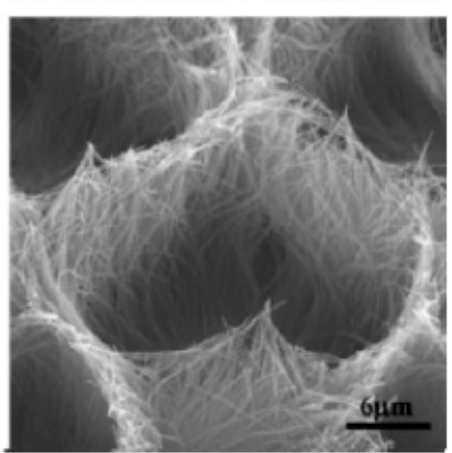
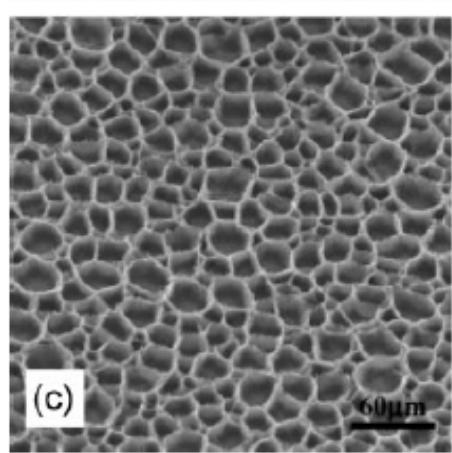
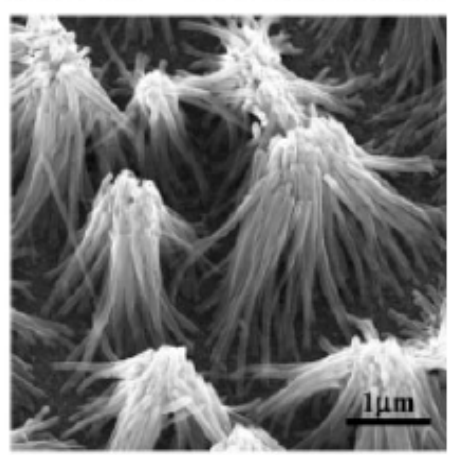
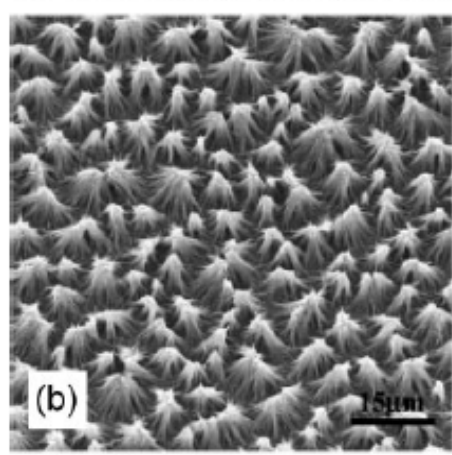
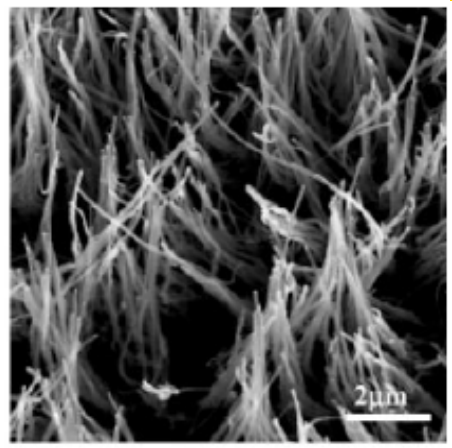
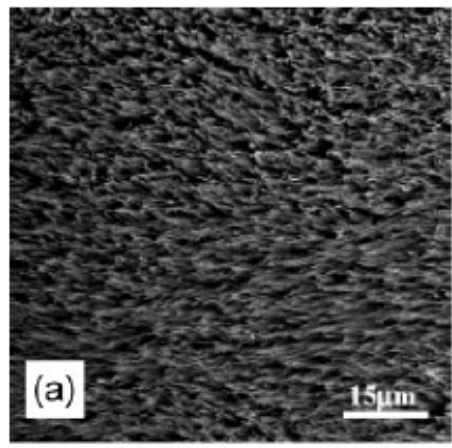
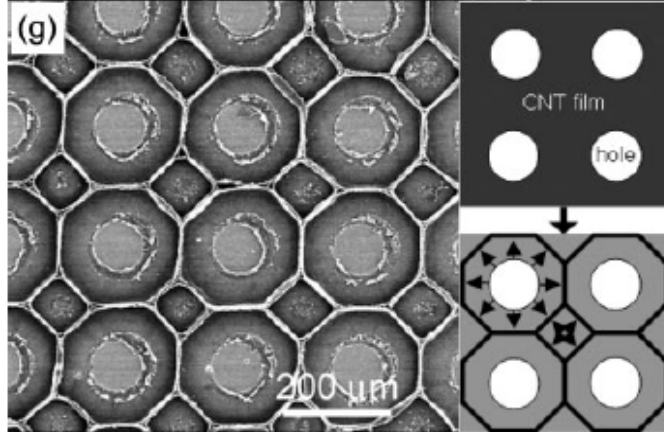
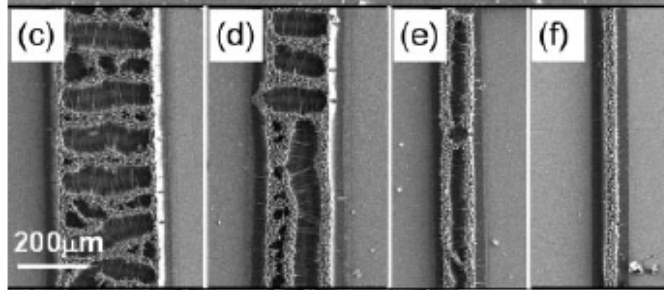
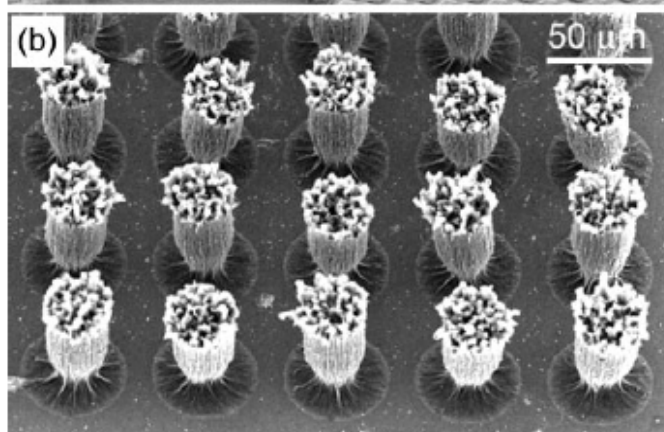
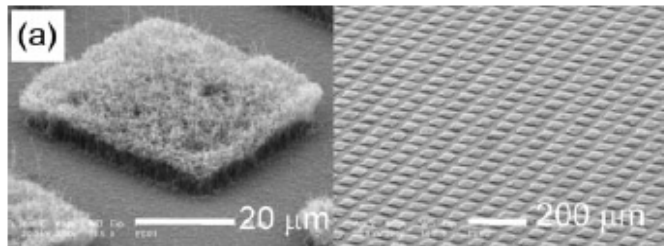
armchair
 $(n, m) = (5, 5)$



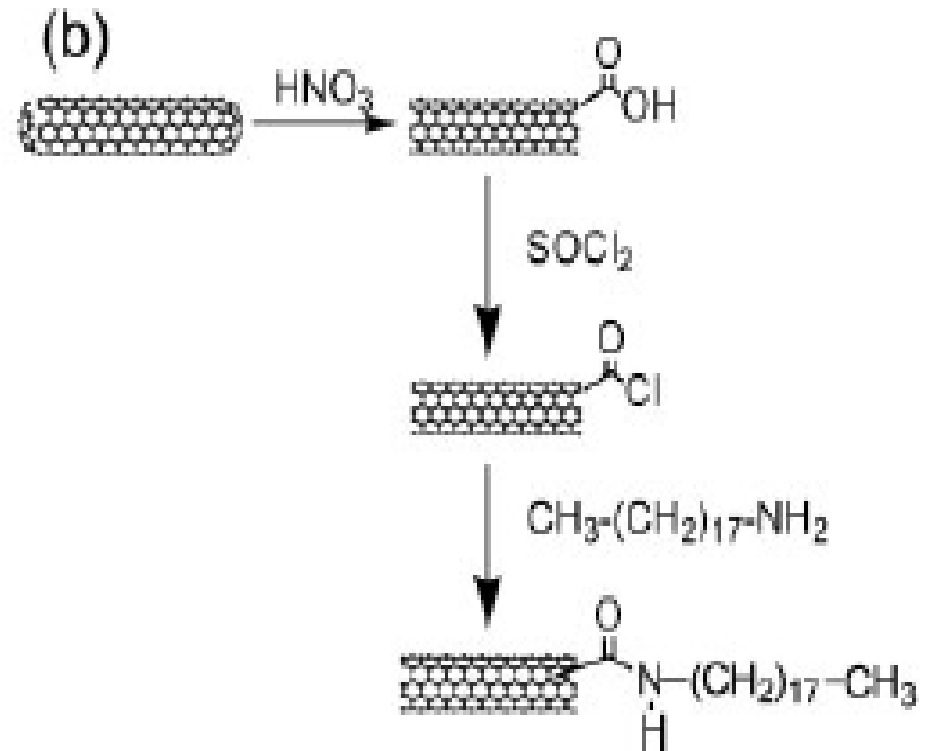
zig-zag
 $(n, m) = (9, 0)$

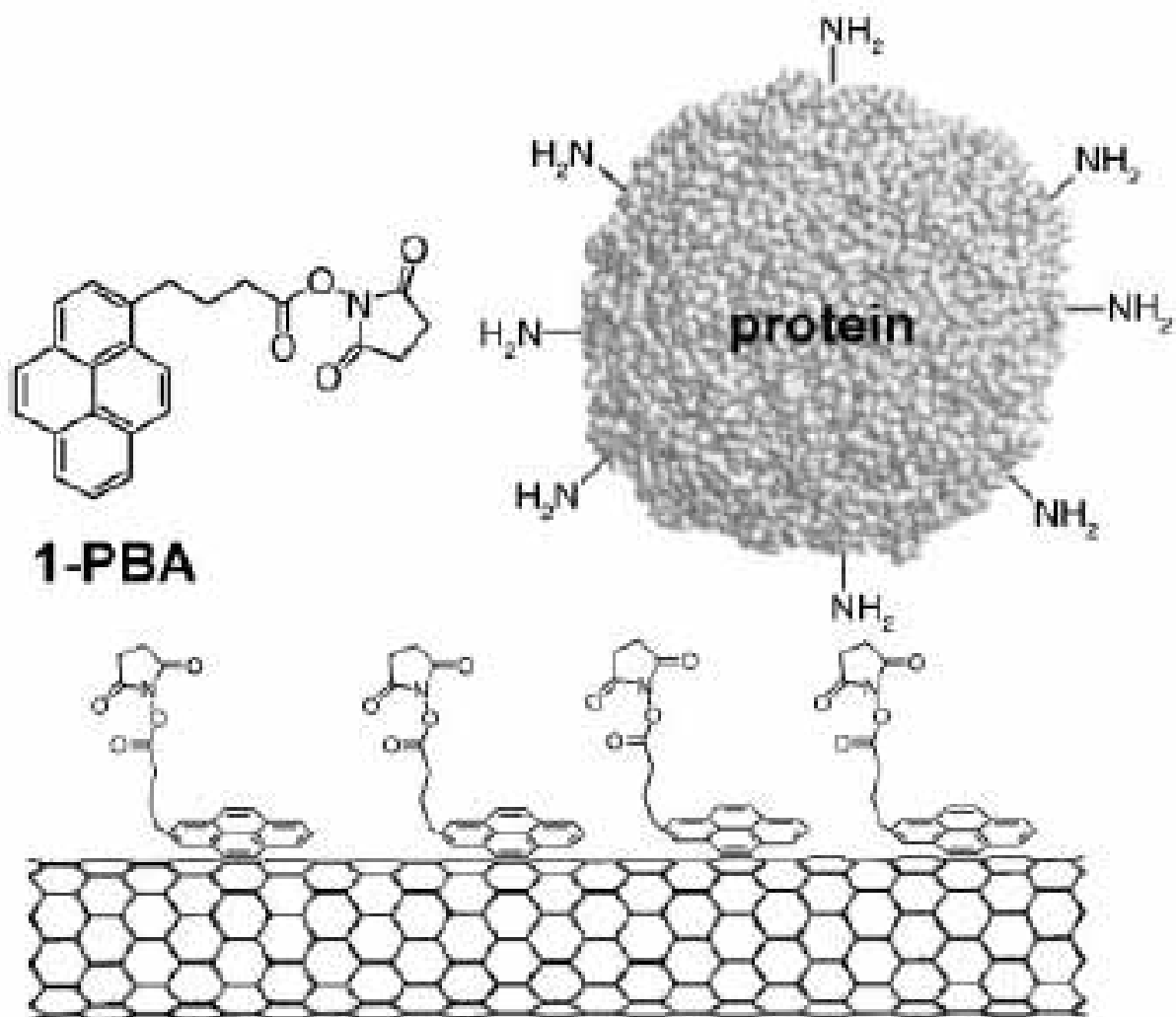


chiral
 $(n, m) = (10, 5)$



Раствор SWNT, модифицированных октадециламином

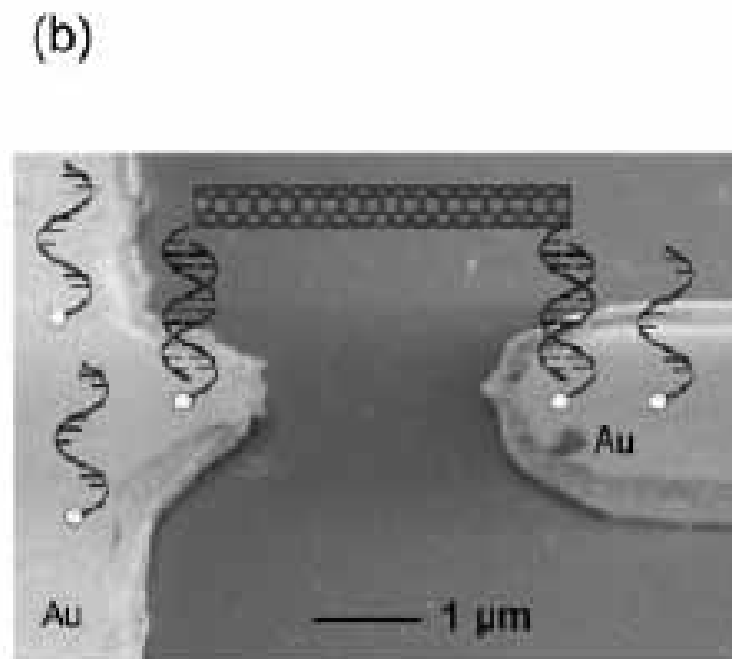
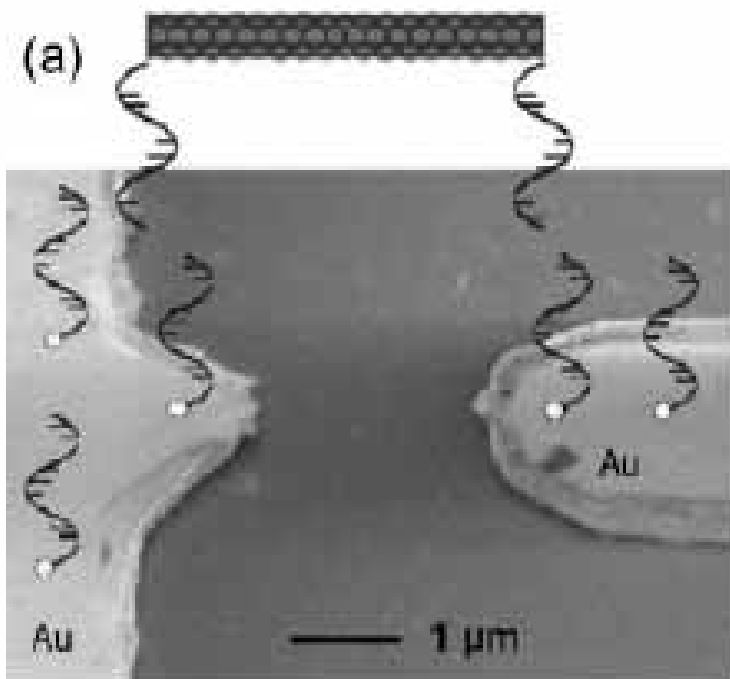




1-PBA

1-Pyrenebutanoic acid succinimidyl ester (1-PBA),
адсорбированный на стенки SWNT,
используется для иммобилизации белков.

Функционализация УНТ ДНК для нанесения на золотые электроды



Модификация наночастиц золота

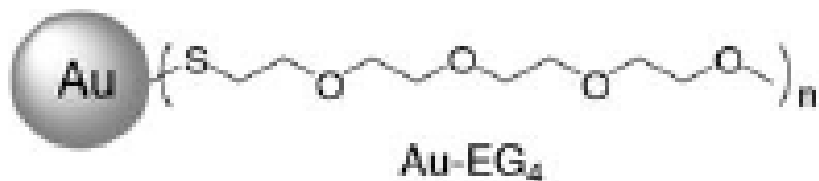
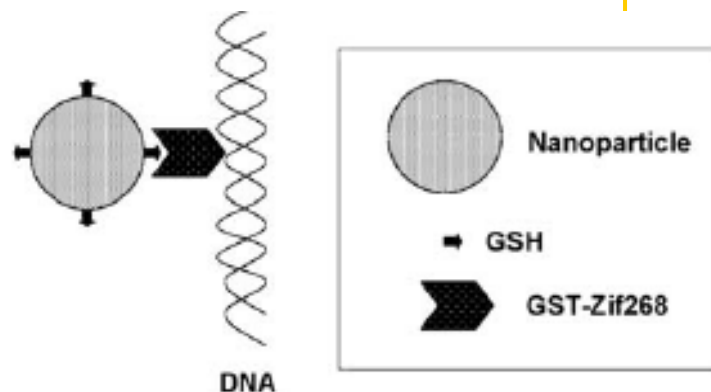
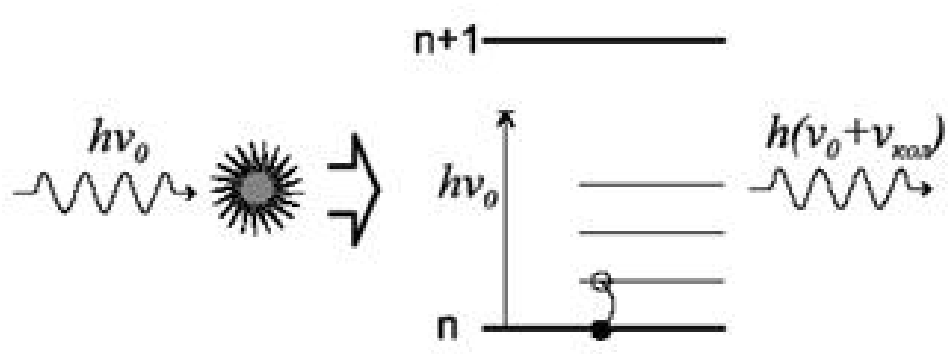
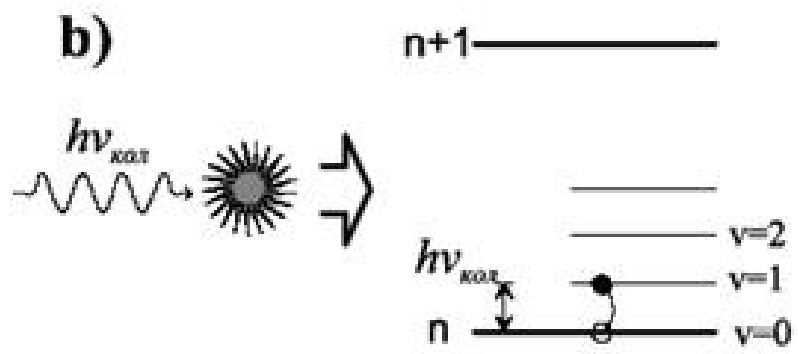
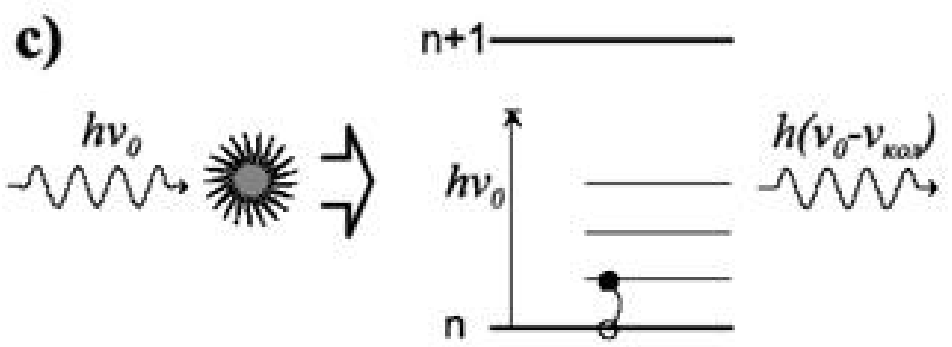
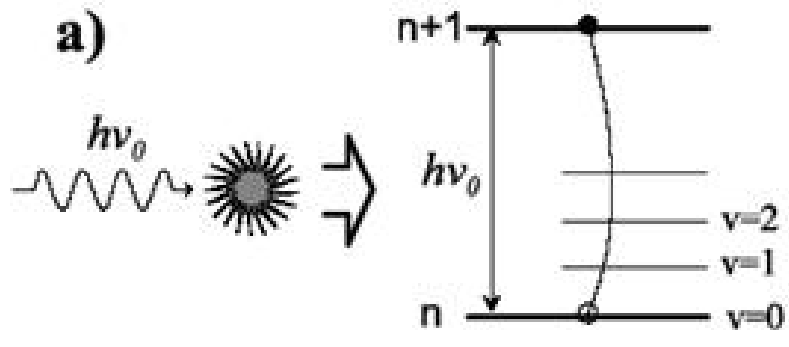




Схема процессов при взаимодействии излучения с веществом: а – поглощение в оптической области; б – поглощение в ИК-области; с – комбинационное рассеяние света, вверху – стоксово, внизу – антистоксово (рисунок с сайта <http://www.phys.nsu.ru>)





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

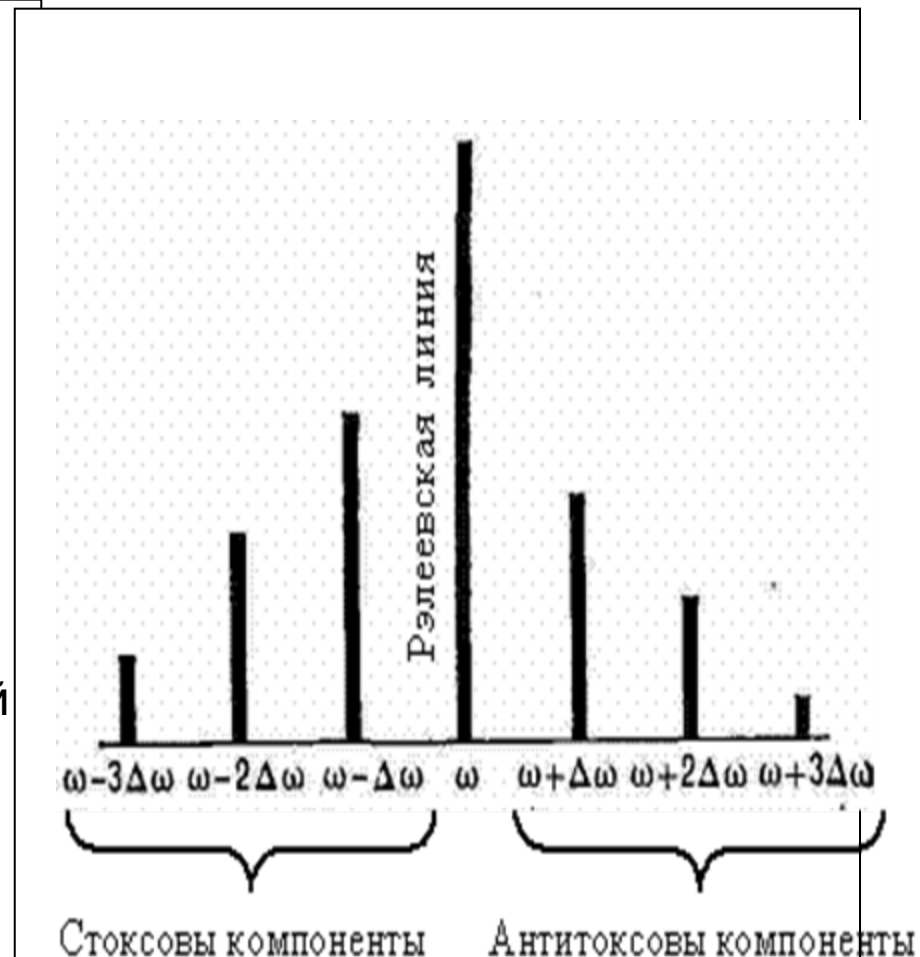
Г. С. Ландсберг

*Л. И.
Мандельштам*

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.





- 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)

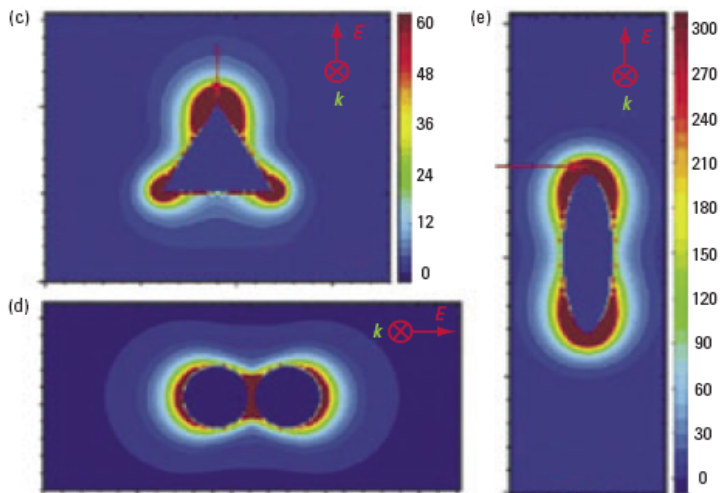
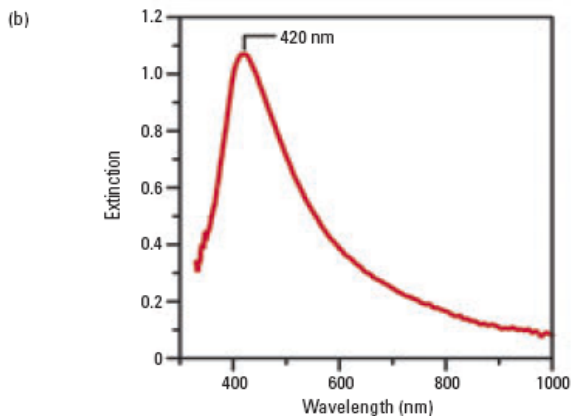
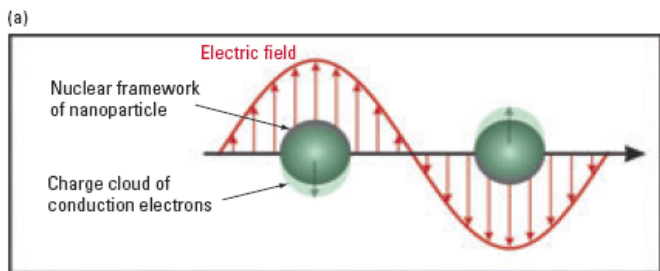


FIGURE 1. SERS phenomenon.

(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.)

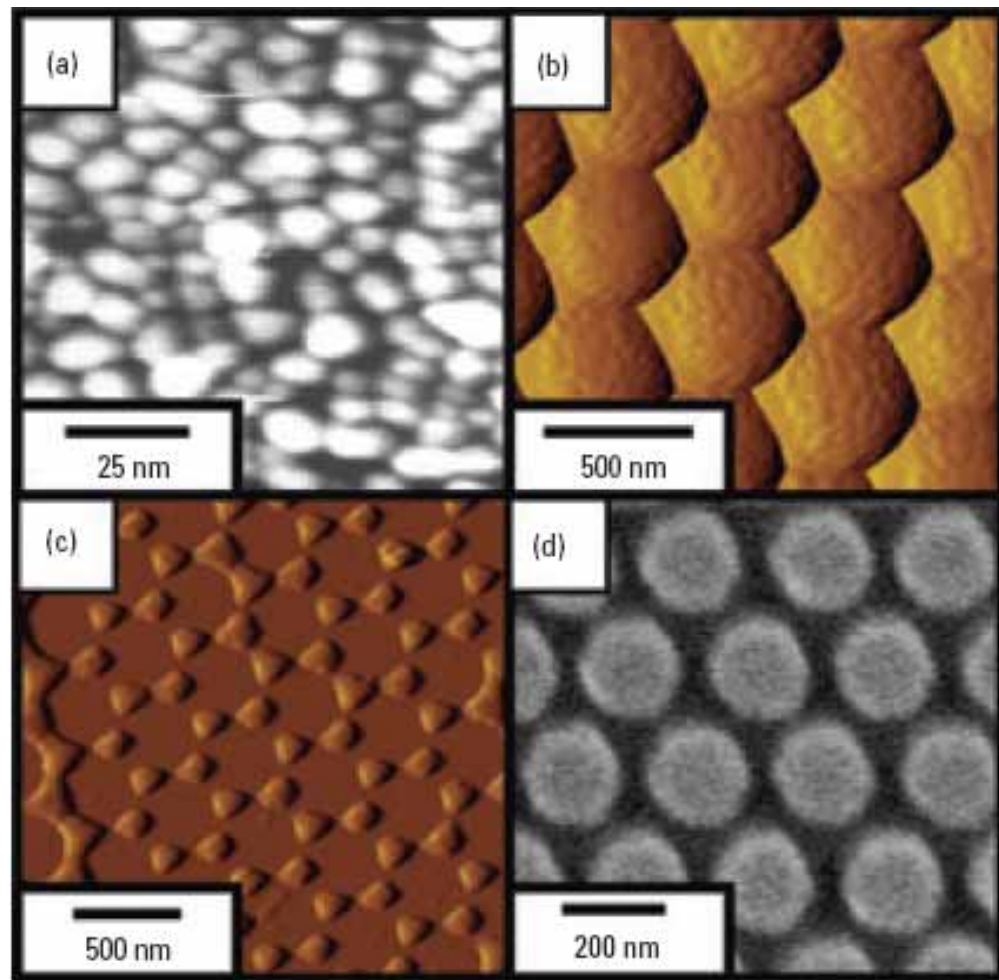


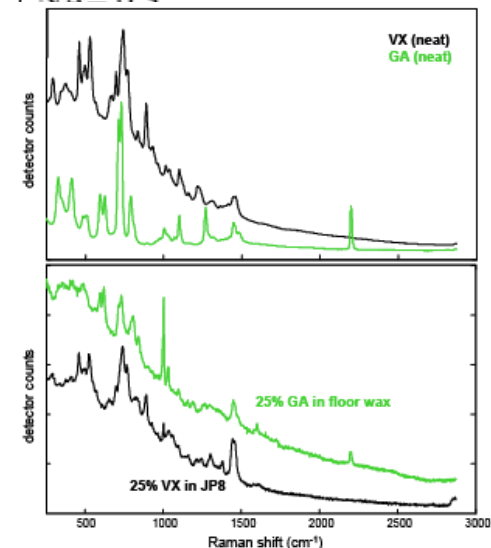
FIGURE 2. Sample substrates.

(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.

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 = 0.3 |



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

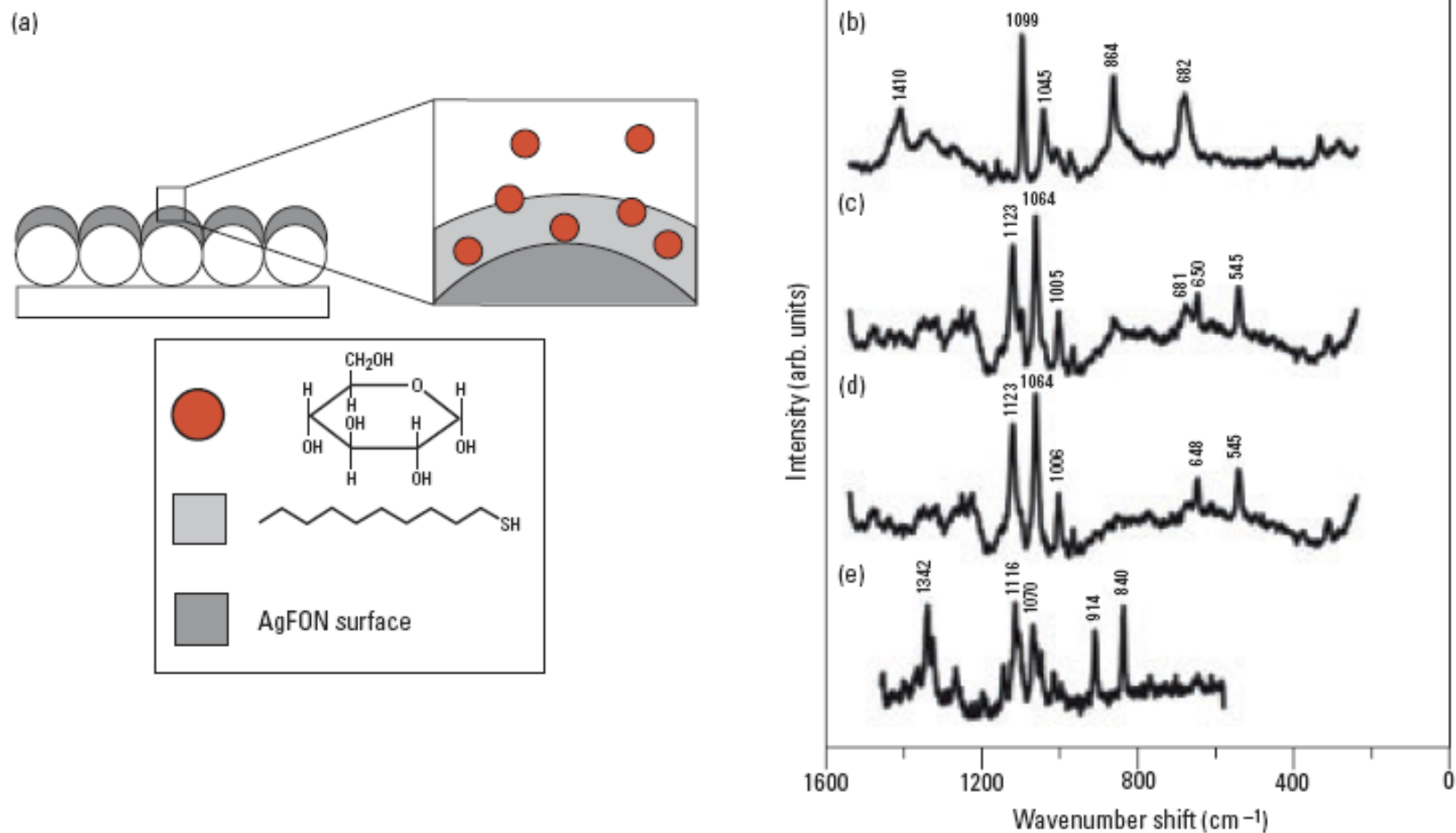


FIGURE 4. Prototype of an implantable glucose sensor.

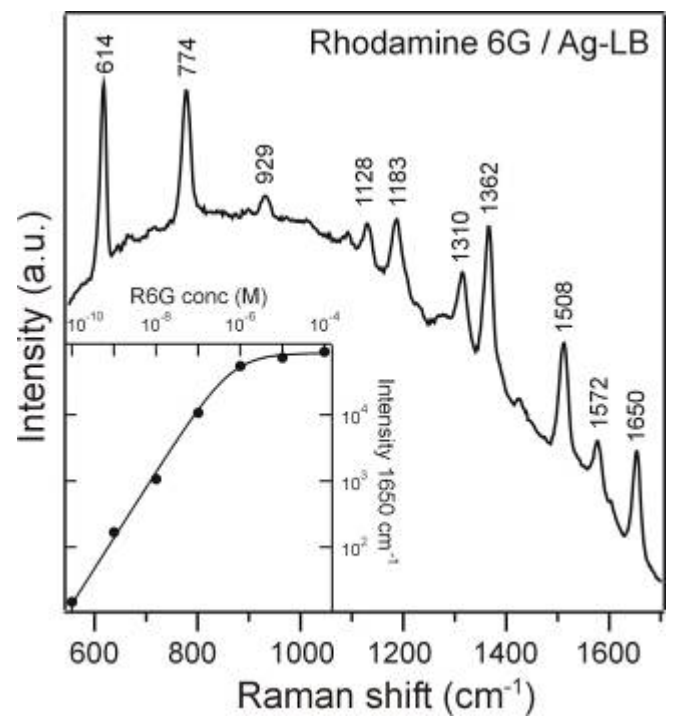
(a) Schematic illustrating the use of a partition layer for detecting glucose. SER spectra of (b) a 1-decanethiol monolayer on a silver film over a nanosphere substrate and (c) the substrate during exposure to a 100-mM glucose solution. (d) The residual spectrum of glucose obtained by subtracting (b)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



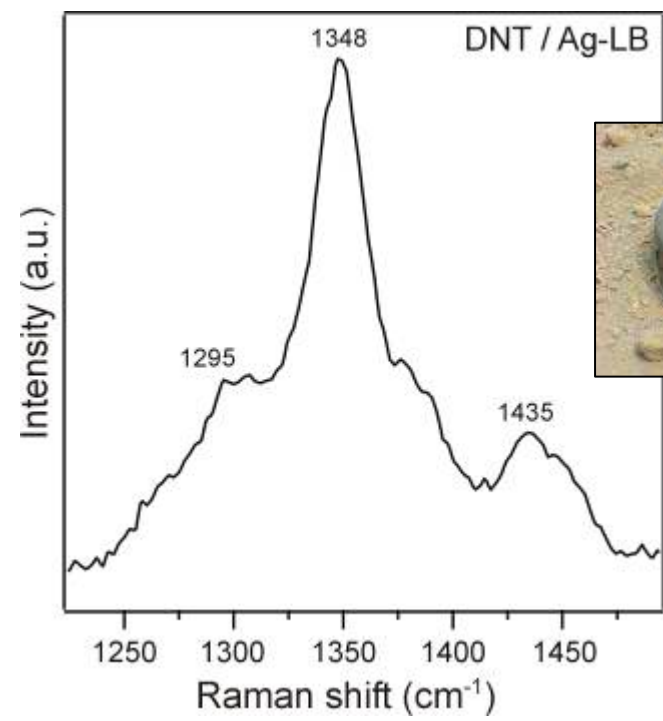
Высококчувствительное и специфическое определения ВВ

Dye detection

Landmine detection

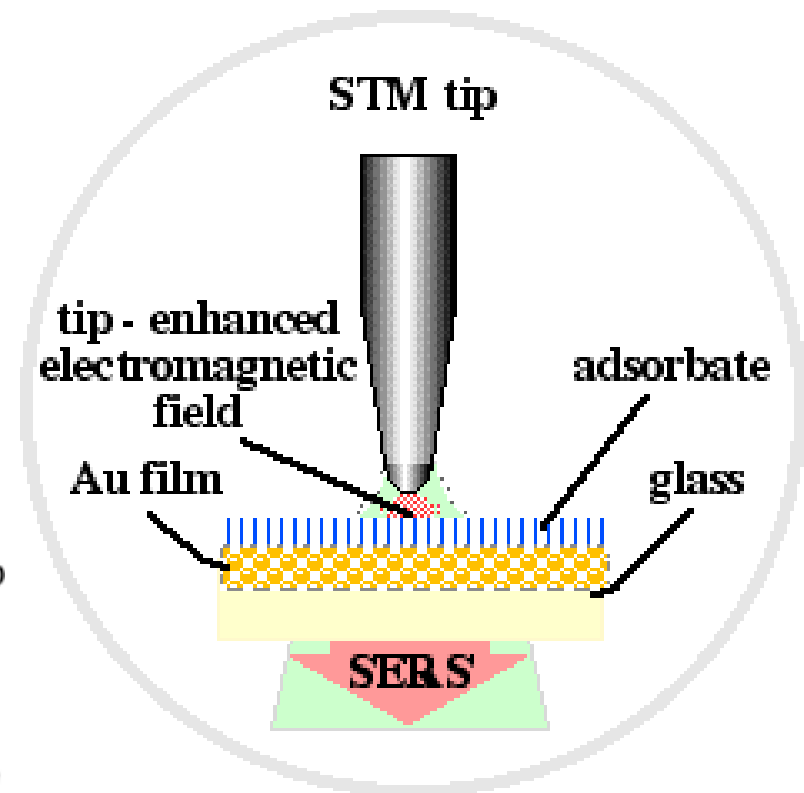
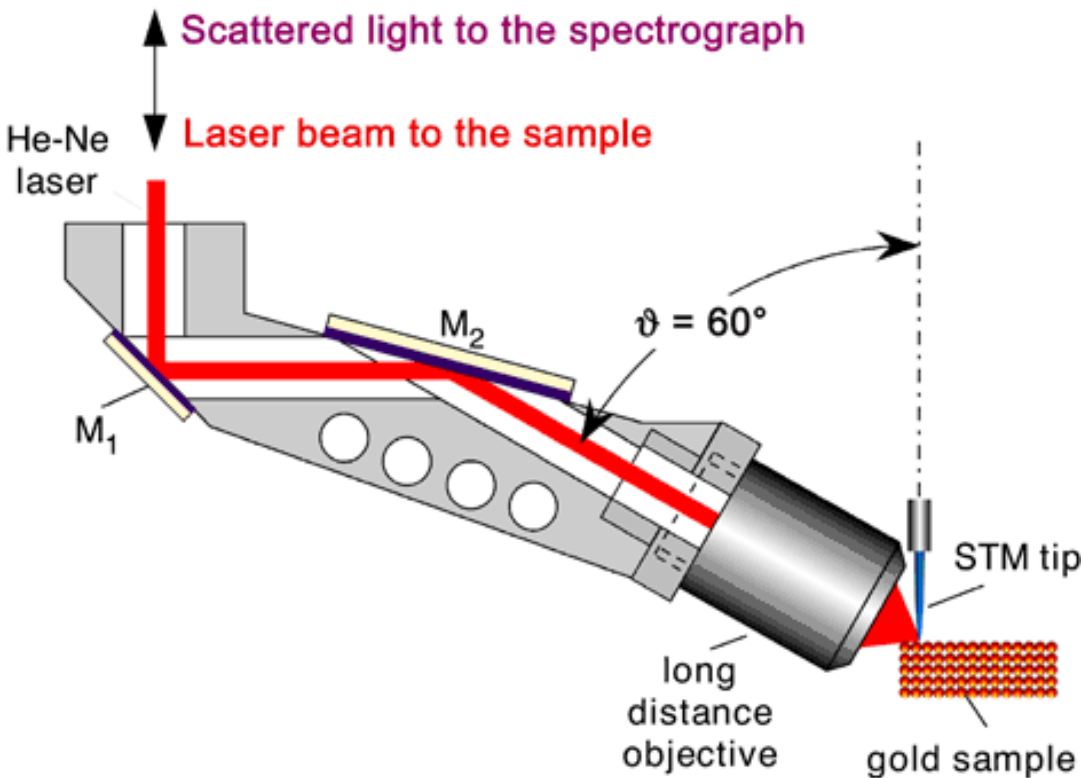


EF = 2 x 10⁹



EF = 2 x 10⁵

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



TERS

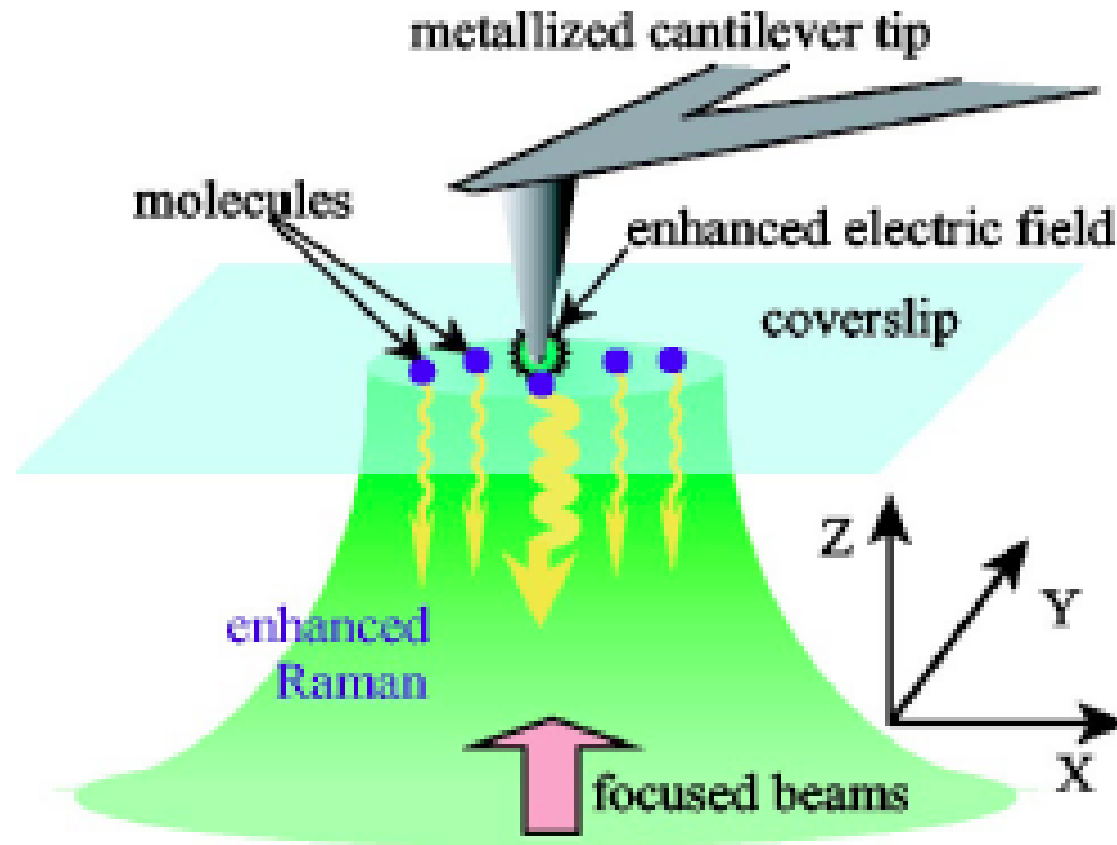
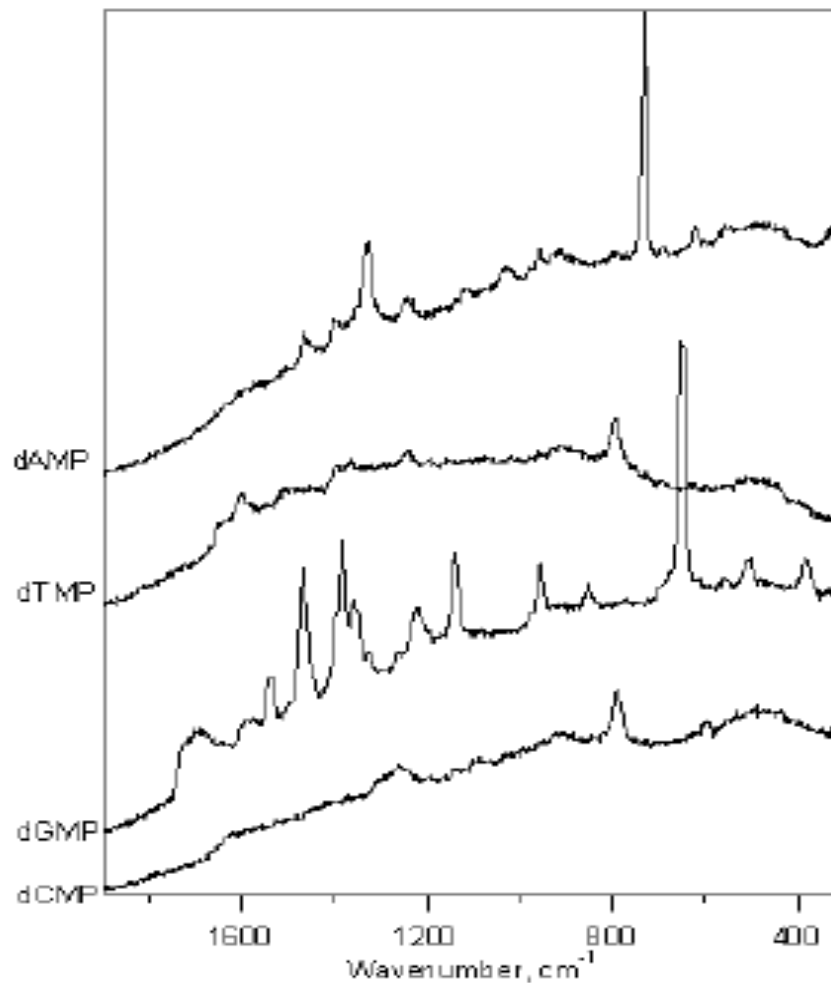


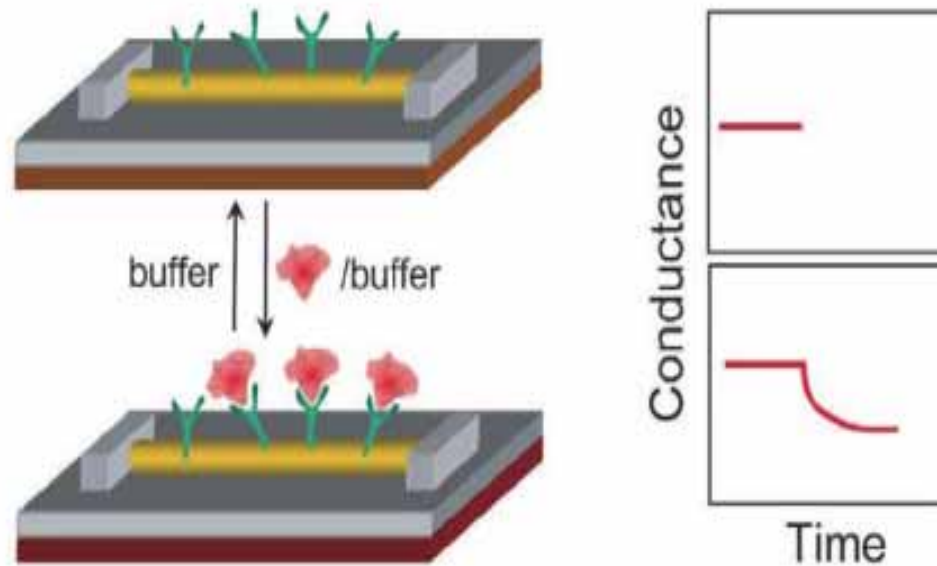
FIG. 1. Concept of tip-enhanced Raman spectroscopy.

TERS для определения единичных молекул ДНК



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

Иммуносенсоры на основе нанотрубок



Schematic of a Si nanowire-based FET device configured as a sensor with antibody receptors (green), where binding of a protein with net positive charge (red) yields a decrease in the conductance



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

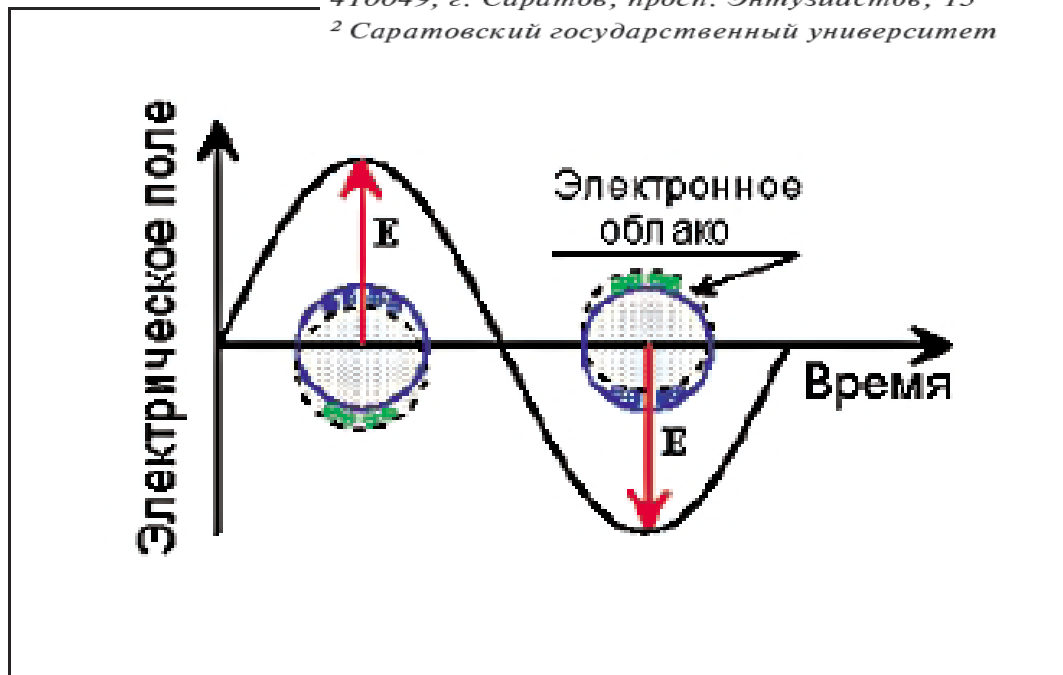


РИСУНОК 1 | Схематическое представление поверхностного плазмонного резонанса малой металлической частицы. Переменное электрическое поле вызывает когерентные колебания электронного облака около положения равновесия благодаря возвращающим силам нескомпенсированных зарядов на поверхности.



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

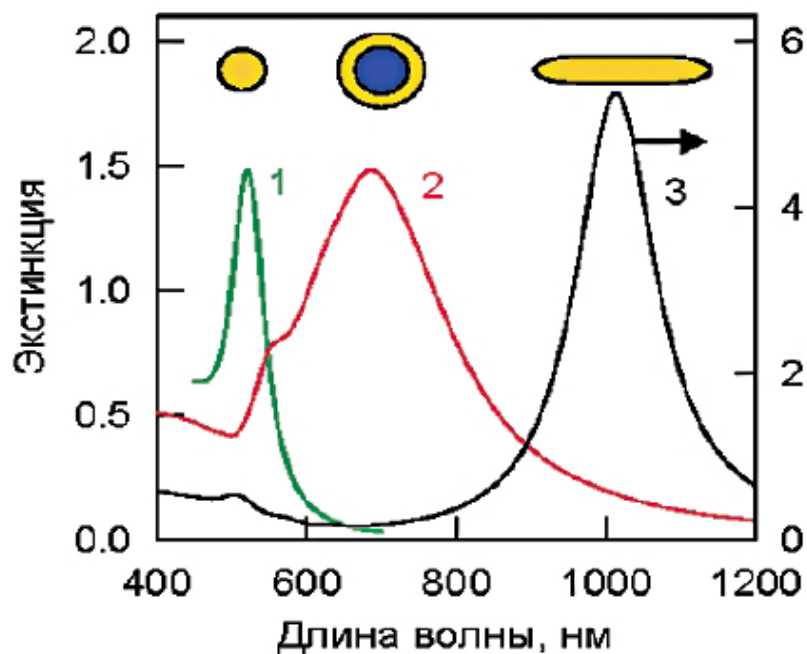
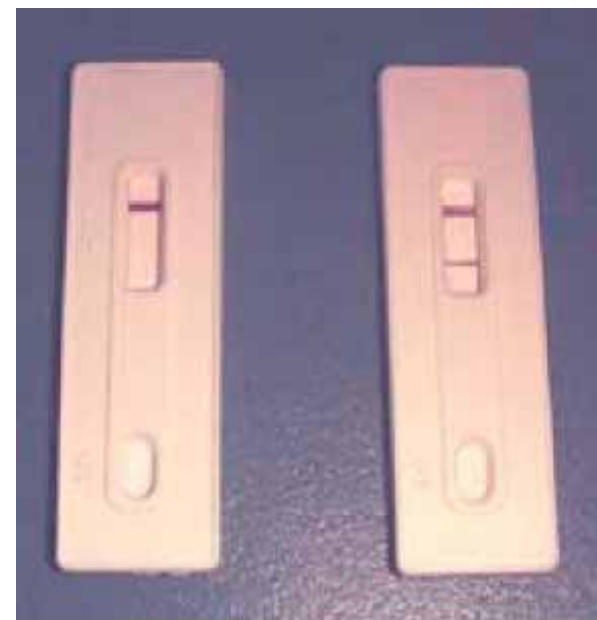
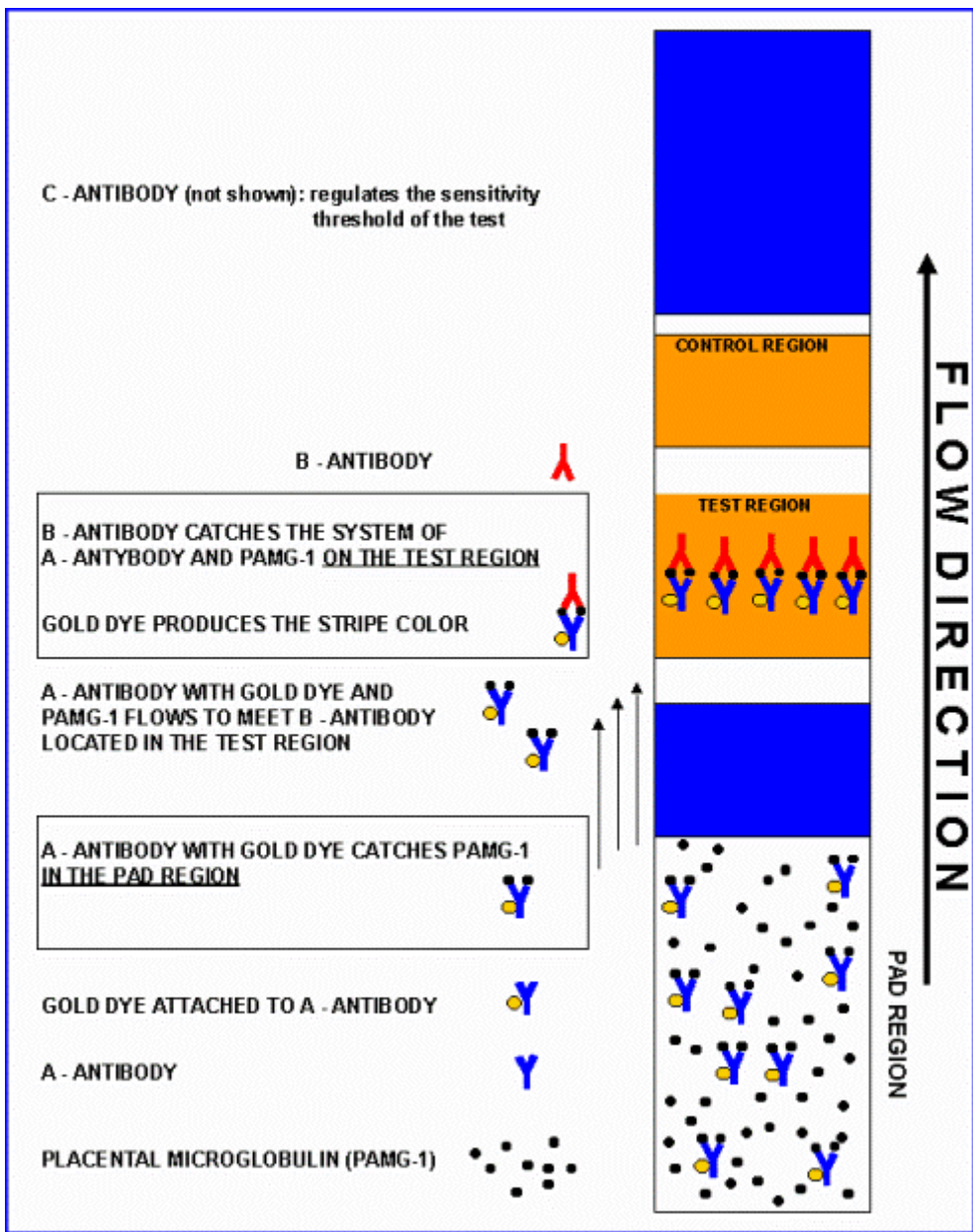


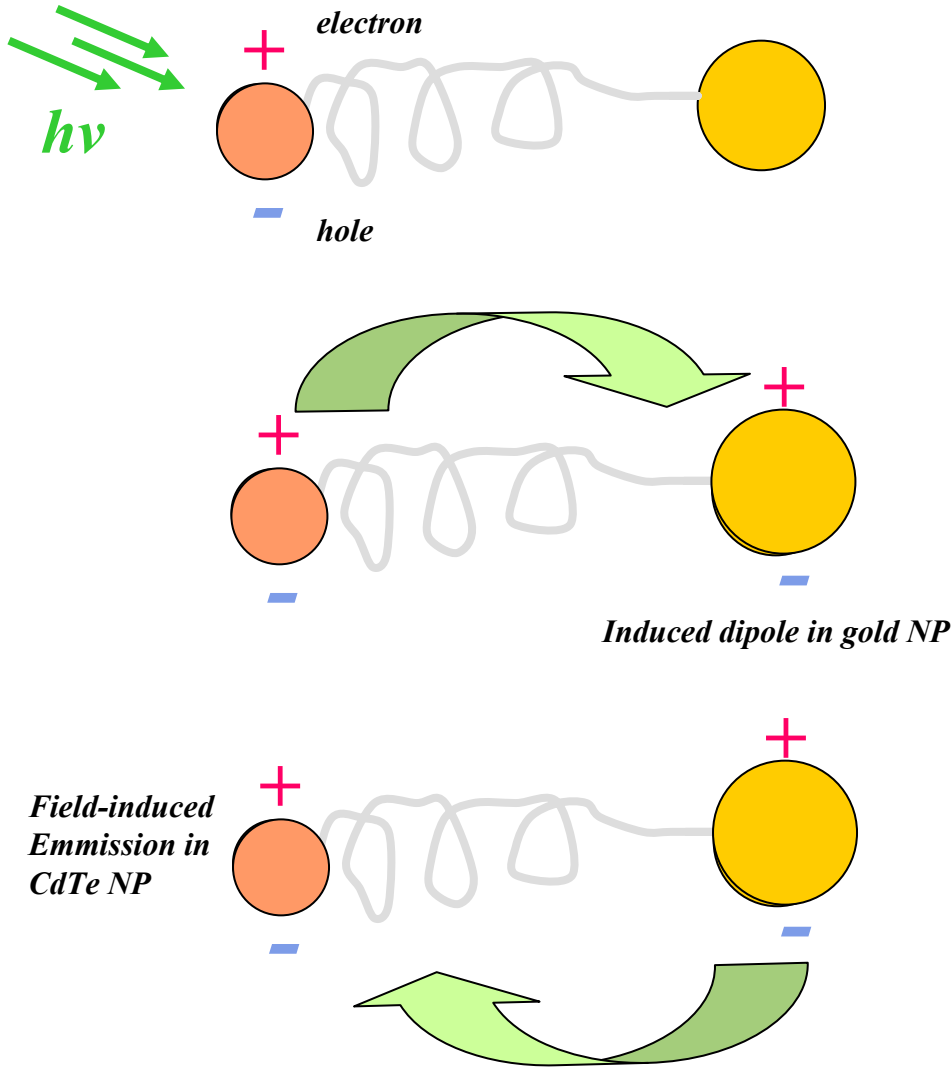
РИСУНОК 2 | Теоретические спектры оптической плотности водных коллоидных растворов золотых наносфер (1, диаметр 40 нм), оболочек (2, диаметр ядра SiO_2 100 нм, толщина золота 20 нм) и золотых наностержней (3, эквивалентный диаметр 20 нм, отношение осей 6, хаотическая ориентация). Концентрация золота 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 оболочек видно квадрупольное плечо около 580 нм, правая ось ординат для наностержней увеличена в 3 раза.



Иммунохроматография



Плазмон-экситонные взаимодействия



Characteristic time of emission is 0.1-30 ns

Characteristic time of PEG relaxation is micro sec.

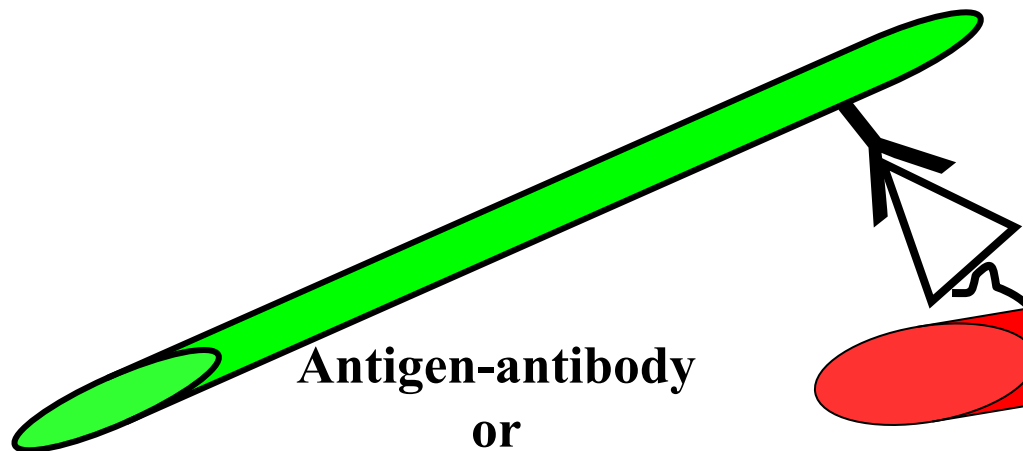
Optical emission probes the original state of the yo-yo conjugate.

Jaebeom (Jim) Lee, Alexander Govorov, Nicholas A. Kotov
University of Michigan, Ann Arbor, MI

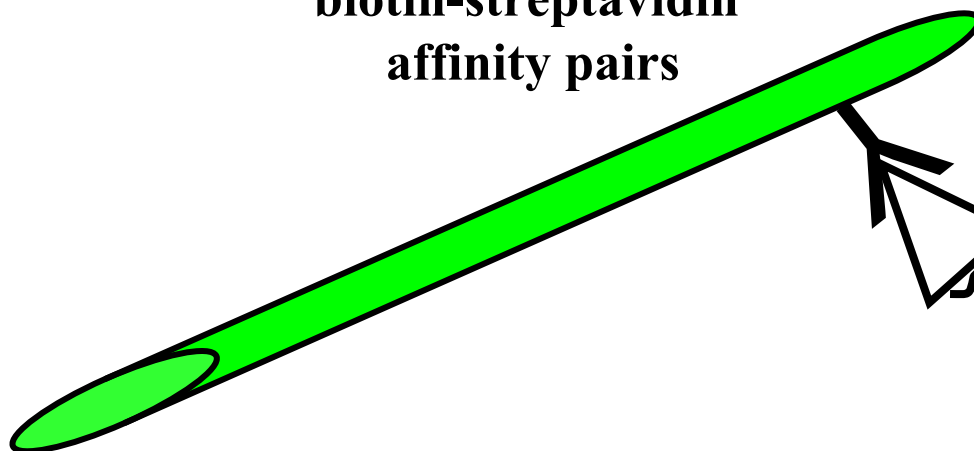
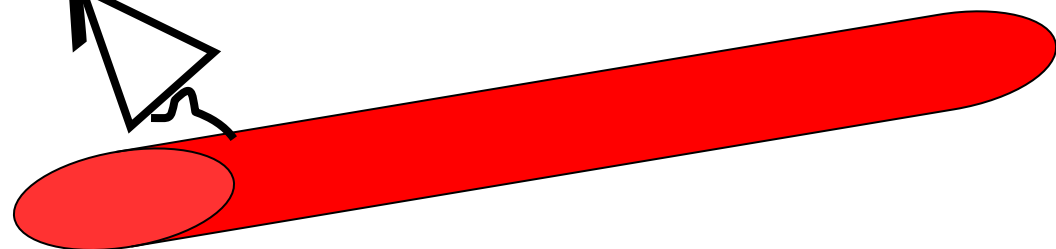
Биоспецифические конъюгаты



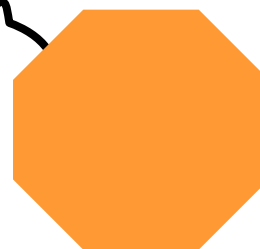
Different pairs of
CdTe, Te, CdSe, Ag, Se
nanowires



Antigen-antibody
or
biotin-streptavidin
affinity pairs



CdTe and Te nanowires with
CdTe and Au nanoparticles

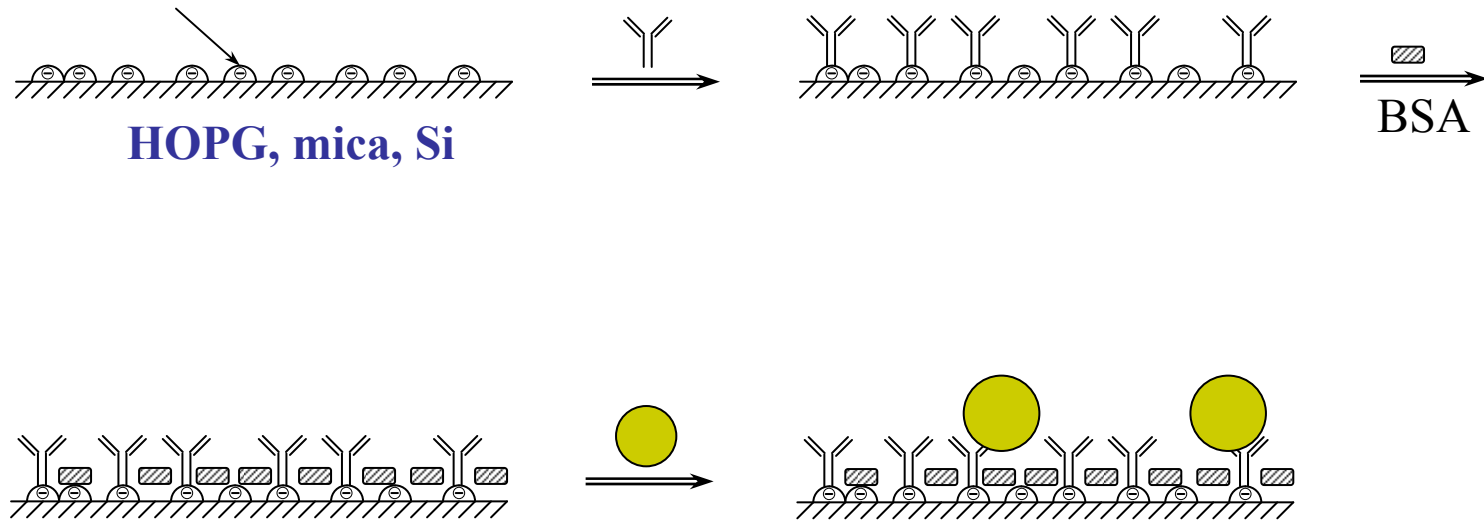


Jaebeom (Jim) Lee,
Alexander Govorov,
Nicholas A. Kotov
*University of Michigan,
Ann Arbor, MI*



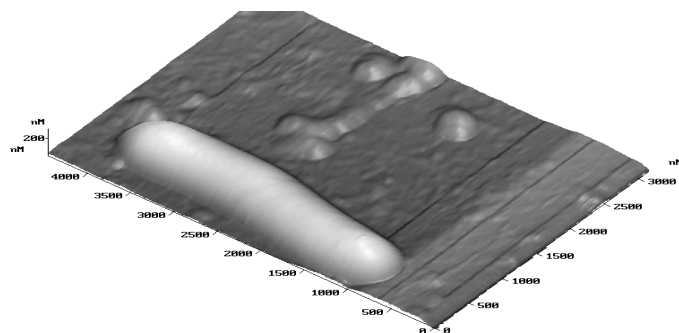
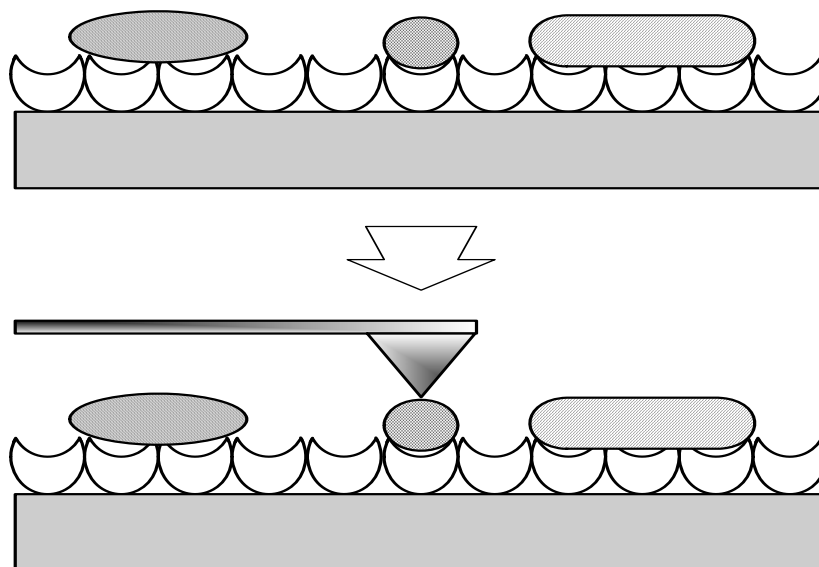
Биосенсорные системы на основе СЗМ для определения крупных белковых антигенов

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

