

На правах рукописи

Кротова Елена Алексеевна

Разработка подходов к созданию рецепторных слоев жидкостных биосенсоров на основе органических полевых транзисторов с электролитическим затвором

1.4.7. - Высокомолекулярные соединения

АВТОРЕФЕРАТ
на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва
2026 год

Работа выполнена в Лаборатории молекулярных сенсорных технологий и устройств Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова Российской академии наук (ИСПМ РАН)

Научный руководитель:

Агина Елена Валериевна

Доктор химических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий Лабораторией молекулярных сенсорных технологий и устройств Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова Российской академии наук (ИСПМ РАН), г. Москва

Официальные оппоненты:

Калинина Мария Александровна

доктор химических наук, профессор РАН, главный научный сотрудник Лаборатории биоэлектрохимии Института физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН (ИФХЭ РАН), г. Москва

Федоров Федор Сергеевич

доктор химических наук, доцент Лаборатории наноматериалов Центра фотоники и фотонных технологий Автономной некоммерческой образовательной организации высшего образования «Сколковский институт науки и технологий», г. Москва

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ордена Трудового Красного Знамени Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева Российской академии наук (ИНХС РАН), г. Москва

Защита состоится «26» ноября 2026 г. в 11:00 на заседании диссертационного совета 24.1.116.01 (Д 002.085.01) в ФГБУН Институте синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова РАН по адресу: 117393, Москва, ул. Профсоюзная, 70.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУН Института синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова РАН и на сайте института: <http://www.ispm.ru/>

Автореферат разослан «__» _____ 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета 24.1.116.01 (Д 002.085.01)

Д.х.н.



Борщев О.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. В реалиях современного мира особое внимание уделяется разработке и созданию универсальных диагностических платформ, способных обнаруживать широкий спектр биологических и химических аналитов в растворах, в т.ч. в биологических жидкостях. Такие системы позволяют существенно повысить эффективность ранней диагностики заболеваний человека, сельскохозяйственных животных и растений, а также обнаруживать загрязнение пищевых продуктов, воды и почвы различными токсинами. Ключевым фактором при создании сенсорных устройств является возможность их использования для обнаружения аналитов в жидких электролитах, в т.ч. при низких и сверхнизких концентрациях. Биосенсоры на основе органических полевых транзисторов с электролитическим затвором (ОПТЭЗ) представляют собой одну из универсальных платформ для решения поставленных задач, поскольку они адаптированы к применению в растворах электролитов, в том числе, биологических жидкостей, а также способны эффективно работать при низких напряжениях, что позволяет избежать деградации биомолекул в исследуемых средах (слюна, кровь, пот, слеза, сыворотка крови). Ключевым моментом изготовления биосенсора на основе ОПТЭЗ является иммобилизация биоузнающего слоя, специфичного к определяемому аналиту, на поверхности полупроводника или затвора, призванная обеспечить специфическое связывание с целевым аналитом и гарантировать селективность изготовленного устройства. К современным методам иммобилизации можно отнести физическую адсорбцию, формирование самоорганизующегося монослоя (SAM), поэтапное осаждение биологических частиц с противоположными зарядами, биоаффинную иммобилизацию на основе меченных биотином биоузнающих элементов и стрептавидина, иммобилизованного на твердой поверхности, а также биоаффинную иммобилизацию, используемую для ориентации биомолекул на твердой поверхности. Главными недостатками, ограничивающими применение ОПТЭЗ-биосенсоров на рынке, являются недостаточная стабильность устройств, а также влияние pH и ионной силы исследуемых растворов на воспроизводимость сенсорного отклика. Таким образом, актуальной задачей является разработка подхода к созданию стабильных, в т.ч. многоцветных устройств, способных к эффективному биообнаружению аналитов непосредственно в реальных биологических жидкостях сложного состава.

Степень разработанности темы. На момент планирования цели и задач данного исследования в лаборатории молекулярных сенсорных технологий и устройств ИСПМ РАН был разработан подход к функционализации полупроводниковой поверхности ОПТЭЗ, изготовленной из смеси 2,7-диоктилбензотиено[3,2-b][1]бензотиофена (**C8-ВТВТ-C8**) и полистирола методом дозирующего лезвия путем нанесения биорецепторного слоя. Биорецепторный слой наносили методом Ленгмюра-Шеффера поверх полупроводника с использованием смеси силоксанового димера

[1]бензотиено[3,2-В][1]бензотиофена (ВТВТ) - 1,3-бис{11-(7-гептил[1]бензотиено[3,2-в] [1] бензотио-2-ил)гексил}-1,1,3,3-тетраметилдисилоксана, **D2-Hept-VTBT-Hex** и биотинилированного производного ВТВТ (**Und-VTBT-Hex-biotin**), обеспечивая так называемые «якоря» для биоаналитов на поверхности полупроводника, что позволило создать универсальную платформу для дальнейшей биомодификации поверхности. Был продемонстрирован специфический отклик изготовленных ОПТЭЗ-устройств на вирус гриппа А (штамм H7N1). Нерешенными оставались задачи оптимизации разработанного подхода к созданию биорецепторного слоя с целью увеличения технологичности процесса и обеспечения работы устройства в широком спектре реальных биологических жидкостей, создания ОПТЭЗ-устройств, способных к многократному использованию, а также создания мультисенсорного устройства на одном чипе, что и послужило основанием для проведения данной работы.

Цель и задачи исследования. Целью работы являлась разработка подходов к созданию рецепторных (полимерных и низкомолекулярных) слоев жидкостных биосенсоров на основе органических полевых транзисторов с электролитическим затвором для селективного обнаружения и определения содержания различных вирусов в растворах, в т.ч. в биологических жидкостях. В качестве материалов для создания полупроводниковых слоев выбрали органические соединения, имеющие в своем составе сопряженное ядро на основе [1]бензотиено[3,2-В][1]бензотиофена. Рецепторными слоями служили полимерные и низкомолекулярные производные ВТВТ, содержащие биотиновый фрагмент, а также трековые мембраны из полиэтилентерефталата (ПЭТФ). Узнающими элементами для целевых и контрольных аналитов (вирусы гриппа А и Б, болезни Ньюкасла, аллантоисная жидкость) являлись ДНК-аптамеры. (**Рисунок 1**).

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Установить влияние химического строения рецепторного и полупроводниковых материалов, а также различных методов изготовления рецепторного слоя на электрические и сенсорные характеристики ОПТЭЗ;
2. Разработать подход к изготовлению биосенсорных ОПТЭЗ-устройств для многократного использования, в т.ч. в биологических жидкостях;
3. Разработать подход к созданию мультисенсорного ОПТЭЗ-устройства на одном чипе для одновременного определения нескольких аналитов.

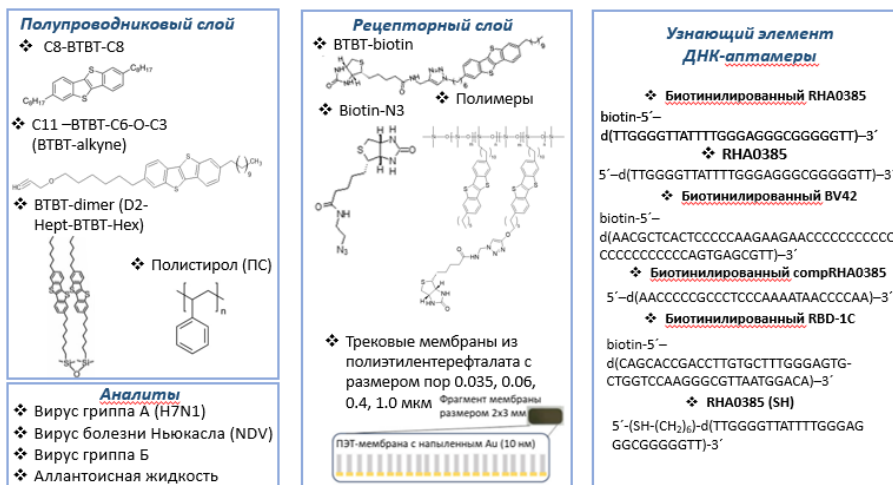


Рисунок 1 – Объекты исследования: материалы для полупроводниковых и рецепторных слоев; узнающие элементы; целевые и контрольные аналиты

Научная новизна. 1) Впервые исследовано влияние химического строения и метода формирования рецепторного слоя, а также толщины полупроводникового слоя на электрические свойства и сенсорный отклик ОПТЭЗ; 2) Разработан новый подход к нанесению рецепторного слоя ОПТЭЗ с использованием методов «клик»-химии; 3) Разработан и успешно продемонстрирован универсальный подход к изготовлению многоразовых аптасенсоров на основе ОПТЭЗ с использованием трековых мембран в качестве рецепторного слоя; 4) Впервые для изготовления сенсора на основе ОПТЭЗ использован аптамер, имеющий структуру i-мотив, что позволило создать аптасенсор, способный обнаруживать аналиты различной природы при изменении условий детектирования.

Практическая значимость работы. Разработанные подходы к изготовлению рецепторных и узнающих слоев ОПТЭЗ открывают возможности для создания жидкостных биосенсоров на основе таких ОПТЭЗ, способных обнаруживать широкий спектр биологических и химических аналитов, в т.ч. в реальных биологических жидкостях, в т.ч. с использованием одного чипа. Осуществленная разработка многоразового ОПТЭЗ-аптасенсора позволит значительно удешевить производство таких устройств без изменения набора анализируемых веществ. Представленные в работе подходы открывают путь к изготовлению универсальных, миниатюрных, многоразовых мультисенсоров для простого, недорогого экспресс-обнаружения широкого спектра аналитов.

Методология и методы исследования. Методология работы заключалась в комплексном анализе взаимосвязей между химическим

строением и методами формирования рецепторных слоев, а также толщиной полупроводниковых слоев органических полевых транзисторов с электролитическим затвором и их биосенсорными свойствами. Базовая архитектура ОПТЭЗ-устройства представляла собой трехэлектродную систему на кремниевой или стеклянной подложках, состоящую из нижних золотых контактов стока и истока, нанесенных методом вакуумного напыления, слоя органического полупроводника, и платиновой проволоки (электрода затвора), помещенной в раствор электролита. В ходе исследований полупроводниковый слой в базовой структуре модифицировали, формируя поверх него рецепторные и узнающие слои, либо используя в качестве таких слоев полимерную трековую мембрану с иммобилизованными в поры ДНК-аптамерами (Рисунок 1). Для нанесения полупроводниковых и рецепторных слоев использовали методы дозирующего лезвия (МДЛ) и Ленгмюра-Шеффера (ЛШ). Морфологию функциональных поверхностей исследовали с использованием современных методов анализа: атомно-силовой микроскопии (АСМ), поляризационно-оптической микроскопии (ПОМ), измерения контактного угла смачивания поверхности. Вольтамперные характеристики изготовленных ОПТЭЗ измеряли при помощи зондовой станции. Статистическую достоверность результатов обеспечивали путем измерения образцов, каждый из которых содержал по 20 (для кремниевой подложки) или 5 (для стеклянной подложки) единичных транзисторов на одной подложке; полученные данные усредняли.

Положения, выносимые на защиту. 1. Использование как низкомолекулярных, так и полимерных производных бензотиенобензотиофена, содержащих в своем составе фрагменты биотина, позволяет создать специфические «якоря» для иммобилизации на поверхность ОПТЭЗ стрептавидина, что открывает путь к изготовлению жидкостных биосенсоров, способных селективно обнаруживать широкий спектр биологических и химических аналитов; 2. Адекватный выбор состава рецепторного слоя и метода его нанесения позволяет создавать биосенсоры, обладающие чувствительностью, превышающей чувствительность ИФА-тестов, и демонстрирующие воспроизводимые результаты; 3. Использование трековых мембран в качестве рецепторных слоев позволяет создавать многократные аптасенсоры; 4. Использование в качестве узнающего элемента аптамера со структурой i-мотив позволяет создать на одном чипе систему мультицелевого обнаружения аналитов различной природы (на примере вируса гриппа А, ионов серебра и pH).

Личный вклад соискателя. Автор принимал личное участие во всех этапах выполнения работы: постановке задач, разработке плана выполнения работ, непосредственном выполнении экспериментальной части, обработке и анализе полученных данных, формулировании заключения и выводов.

Степень достоверности результатов исследования. Многократное воспроизведение полученных результатов в нескольких сериях экспериментов, а также большой набор накопленных статистических данных

подтверждают правильный выбор методик изготовления и исследования ОПТЭЗ-биосенсоров. Результаты проведенного исследования были неоднократно представлены на всероссийских и международных конференциях, а также полностью опубликованы в высокоцитируемых журналах, входящих в перечень ВАК и Web of Science, и прошли тщательную экспертную проверку рецензентов указанных журналов.

Апробация работы. Результаты работы были представлены на 7 международных и российских научных конференциях в виде устных и стендовых докладов: Международных Школах по органической электронике: IFSOE-2023, IFSOE-2024 (Москва, **2023**, Московская обл., **2024**); Международной конференции «Актуальные проблемы физики твердого тела» (Минск, **2023**); Всероссийской научной конференции МФТИ (Москва, **2024**); Всероссийских Школах-конференциях по биосовместимой электронике и робототехнике (Каспийск, **2023**, Петрозаводск, **2024**, Псков, **2025**)

Публикации. По теме диссертации опубликовано 5 научных статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК, из них 2 - в журналах первого квартиля по Web of Science.

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 170 страницах печатного текста, включает 75 рисунков, 3 таблицы и список цитируемой литературы из 235 наименований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

«**Введение**» содержит комплексную характеристику исследования. Представлены актуальность и значимость выбранной темы, определены и сформулированы цели и задачи работы, а также новизна научного исследования. Описано практическое применение результатов и методология исследования, подтверждена достоверность данных, приведена апробация результатов. **Обзор литературы (Глава 1)**, состоит из пяти разделов. В первом описаны архитектура и принцип действия ОПТЭЗ, рассмотрены материалы, используемые для создания полупроводниковых, рецепторных и узнающих слоев ОПТЭЗ, приведены примеры использования ОПТЭЗ для обнаружения отдельных молекул. Второй и третий раздел посвящены, соответственно, применению синтетических полимеров и ДНК-аптамеров для создания биосенсоров различных типов. В четвертом разделе описаны «клик»-реакции для биофункционализации различных поверхностей, включая сенсорные. Пятый раздел посвящен рассмотрению подходов к созданию многоцветных биосенсоров. **Экспериментальная часть (Глава 2)** включает детальное описание методик, использованных при изготовлении и исследовании биосенсоров на основе органических полевых транзисторов с электролитическим затвором. Описаны использованные материалы, методы и оборудование для анализа морфологии поверхности, изучения электрических

и сенсорных свойств изготовленных ОПТЭЗ. **Результаты и их обсуждение (Глава 3)** содержит три раздела, в которых описаны основные результаты проведенных исследований. Первый раздел посвящен влиянию химического строения полупроводниковых и рецепторных материалов, а также методов формирования рецепторных слоев на сенсорные характеристики ОПТЭЗ. Во втором разделе описан подход к изготовлению многоразовых ОПТЭЗ-биосенсоров с использованием полимерных трековых мембран в качестве рецепторного слоя. В третьем разделе представлен подход к изготовлению ОПТЭЗ-аптасенсора, способного к многоцелевому обнаружению аналитов различной природы за счет использования в качестве узнающего элемента аптамера со структурой i-мотив. В **Заключении** сформулированы рекомендации по выбору материалов полупроводникового, рецепторного и биоузнающего слоев, а также методов изготовления ОПТЭЗ-биосенсоров для достижения требуемых сенсорных характеристик. Рассмотрены перспективные направления развития представленной тематики.

Раздел 3.1. Влияние полупроводниковых и рецепторных материалов на сенсорные характеристики ОПТЭЗ-устройств

Раздел посвящен изучению влияния химического строения полупроводниковых и рецепторных материалов, толщины полупроводниковых слоев, а также методов формирования рецепторных слоев на сенсорные свойства органических полевых транзисторов с электролитическим затвором. Полученные результаты опубликованы в [1,3].

3.1.1. Влияние химического строения и толщины полупроводникового материала на сенсорные характеристики ОПТЭЗ-устройства

В работе исследовали три типа ОПТЭЗ-устройств, различающихся толщиной и материалом полупроводникового слоя, а также содержанием биотинового фрагмента в рецепторном слое. Химическое строение материалов было выбрано на основе ранее опубликованных работ. Архитектура ОПТЭЗ приведена на **вкладках к рисунку 2**. Первые два типа различались толщиной и материалом полупроводникового слоя (толстый слой **C8-BTBT-C8** либо тонкий слой **D2-Hept-BTBT-Hex**), тогда как рецепторный слой в обоих случаях представлял собой смесь **D2-Hept-BTBT-Hex** и **BTBT-биотина** в соотношении 70% : 30%. Третий тип не содержал отдельного полупроводникового слоя, его роль играл рецепторный слой с пониженным до 5% содержанием **BTBT-биотина**.

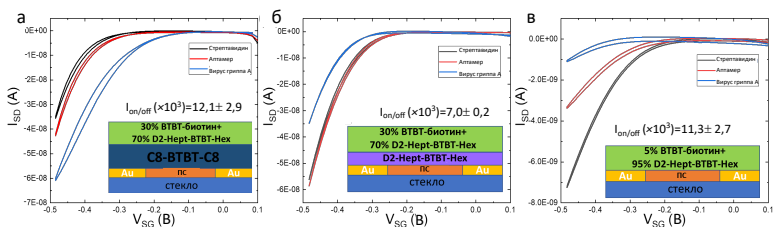


Рисунок 2 – Архитектура и передаточные характеристики ОПТЭЗ-биосенсоров с различными полупроводниковыми слоями: (а) **C8-BTBT-C8**; (б) **D2-Hept-BTBT-Hex**; (в) рецепторный слой вместо полупроводникового

Морфология поверхности полупроводниковых слоев **C8-BTBT-C8** и **D2-Hept-BTBT-Hex** соответствовала ранее опубликованным литературным данным (**рисунок 3а,б**). Морфология поверхности рецепторных слоев всех устройств была типична для ЛШ монослоя **D2-Hept-BTBT-Hex** и практически не зависела от наличия, толщины и химического строения нижележащего полупроводникового слоя (**рисунок 3в-д**). Продольные трещины на **рисунке 3в** соответствуют трещинам в слое полупроводника **C8-BTBT-C8**, как это показано на **рисунке 3а**. Все изготовленные устройства показали хорошие вольтамперные характеристики, низкий гистерезис, низкие пороговые напряжения и высокую стабильность на воздухе, в деионизованной воде или фосфатно-буферном солевом растворе (**рисунок 2**). Далее все ОПТЭЗ модифицировали биоузнающим слоем на основе стрептавидина и ДНК-аптамера, специфически чувствительного к вирусу гриппа А, обнаружение которого проводили в диапазоне концентраций от 10^4 до 10^9 вирусных частиц на мл (ВЧ/мл) в сравнении с контрольными аналитами - вирусами болезни Ньюкасла и гриппа В, аллантоисной жидкостью.

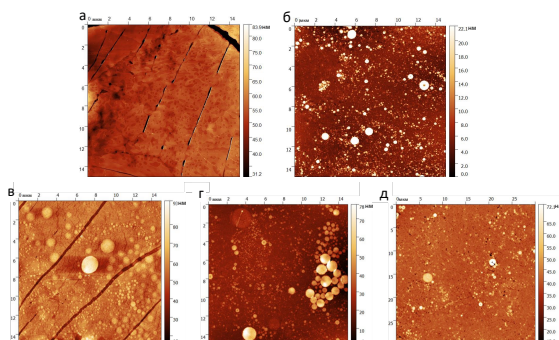


Рисунок 3 – АСМ изображения поверхности ОПТЭЗ: (а) **C8-BTBT-C8**; (б) **D2-Hept-BTBT-Hex**; (в) 30% BTBT-биотина+70% D2-Hept-BTBT-Hex с подслоем **C8-BTBT-C8**; (г) 30% BTBT-биотина+70% D2-Hept-BTBT-Hex с подслоем **D2-Hept-BTBT-Hex** (д) 5% BTBT-биотина+90% D2-Hept-BTBT-Hex без полупроводника

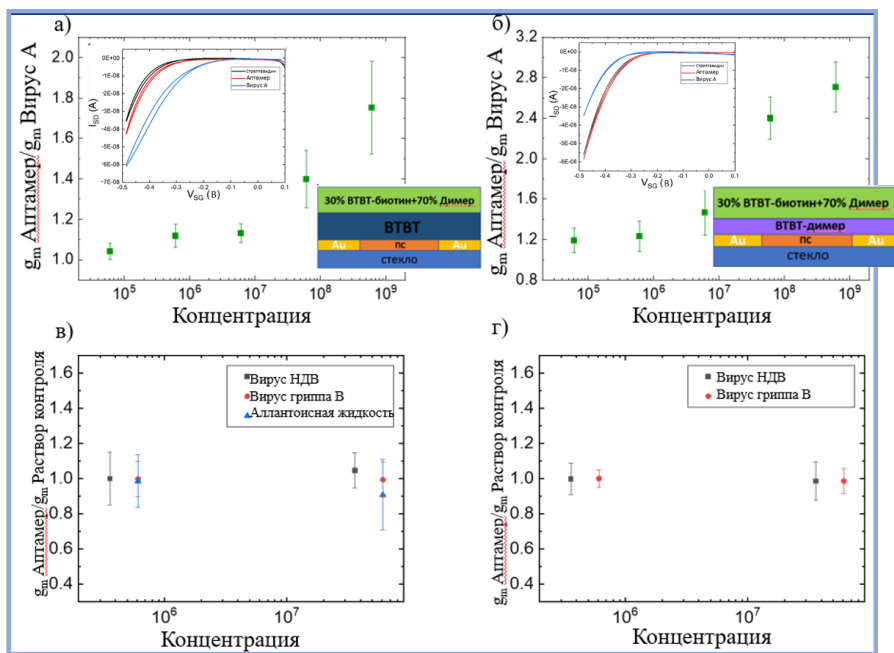


Рисунок 4 – Концентрационные зависимости отклика ОПТЭЗ биосенсоров на вирус гриппа А (а,б) и контрольные вирусы болезни Ньюкасла, гриппа В и аллантоисной жидкости (в,г) для устройств с различными полупроводниками: С8-ВТВТ-С8 (а,в) и D2-Нерт-ВТВТ-Нех (б,г)

ОПТЭЗ как с толстым, так и с тонким полупроводниковыми слоями и 30%-м содержанием ВТВТ-биотина сохраняли хорошие электрические характеристики на всех этапах работы. ОПТЭЗ без полупроводника с 5%-м содержанием ВТВТ-биотина не обладали достаточной воспроизводимостью и быстро деградировали в процессе работы. Порог обнаружения вируса гриппа А для ОПТЭЗ с толстым слоем полупроводника составил $6,1 \cdot 10^5$ ВЧ/мл, для ОПТЭЗ с тонким слоем полупроводника - $6,1 \cdot 10^4$ ВЧ/мл. Тонкий полупроводниковый слой в ОПТЭЗ обеспечил в 1,5 раза более интенсивный отклик на вирус и на порядок величины большую чувствительность.

Таким образом, разработан подход к быстрой специфической детекции вирусных частиц (на примере вируса гриппа А) с возможностью их количественного определения, используя ОПТЭЗ-аптасенсоры.

3.1.2. Влияние метода формирования рецепторного слоя на сенсорные свойства ОПТЭЗ-устройств

В качестве альтернативного подхода к формированию рецепторного слоя ОПТЭЗ был применен метод «клик»-химии, а именно реакция азид-

алкинового циклоприсоединения, катализируемая Cu (I), для получения биотинсодержащего слоя непосредственно на поверхности полупроводника **C8-VTBT-C8**. Использование такого подхода позволяет избавиться от одной из стадий создания рецепторного слоя - переноса биотинилированного производного VTBT на поверхность полупроводника методом Ленгмюра-Шеффера, который недостаточно технологичен для промышленного производства. Реакция азид-алкинового циклоприсоединения, катализируемая Cu (I), имеет простой механизм, обеспечивающий быстрое, эффективное, селективное взаимодействие при комнатной температуре.

В качестве полупроводникового слоя использовали смесь **C8-VTBT-C8**, полистирола (ПС) и производного [1]бензотиено[3,2-b][1]бензотиофена с концевой алкиновой функциональной группой (**VTBT-alkyne**), в концентрациях, равных 0%, 1%, 10% и 20% от концентрации **C8-VTBT-C8**. Клик-реакцию проводили между алкиновым производным VTBT на поверхности ОПТЭЗ-устройства и молекулой биотина с азидной функциональной группой (**рисунок 5**). Подтверждением того, что реакция прошла, и на поверхности полупроводника появились фрагменты биотина, является изменение контактного угла смачивания поверхности (КУС) (**рисунок 6**). После проведения «клик»-реакции КУС уменьшался по мере роста содержания **VTBT-alkyne** в полупроводниковой пленке, что обусловлено появлением на поверхности биотина, увеличивающего ее гидрофильность. Для 10 и 20%-го содержания **VTBT-alkyne** значение КУС совпадает в пределах погрешности измерения, т.е. максимальное заполнение поверхности биотином достигается при 10%-м содержании алкинной компоненты в слое и далее не может быть увеличено, вероятно, из-за стерических затруднений.

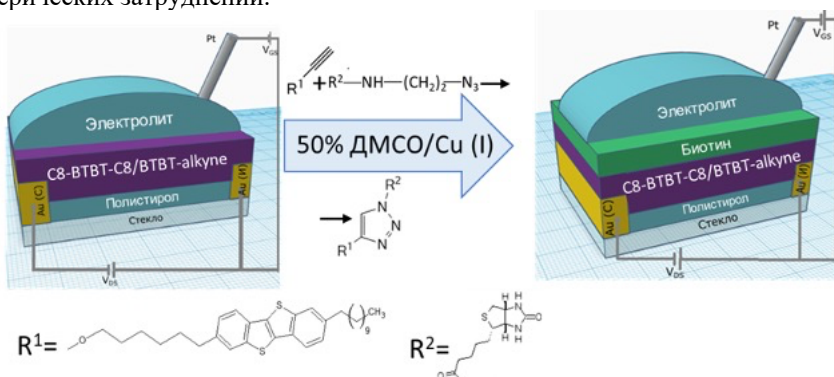


Рисунок 5 – Схематическое изображение архитектуры ОПТЭЗ до «клик»-реакции и после «клик»-реакции (V_{GS} - напряжение затвор-исток, V_{DS} - напряжение сток-исток)

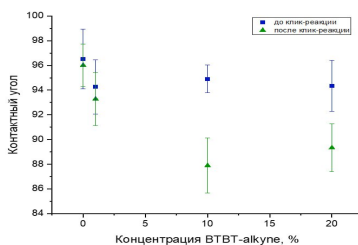


Рисунок 6 – Контактный угол смачивания деионизованной водой, измеренный на поверхности ОПТЭЗ до и после проведения «клик» реакции

Морфология формирующихся поверхностей ОПТЭЗ-устройств была исследована методом атомно-силовой микроскопии на каждом этапе изготовления биосенсора (**рисунок 7**). Обнаружено, что после проведения «клик»-реакции увеличивается шероховатость слоя (RMS), причем для пленок с 10 и 20% алкинной компоненты (**рисунок 7в,г,ж,з**), изменение RMS выражено сильнее, чем для пленок с 0% и 1% алкинной компоненты (**рисунок 7а,б,д,е**). Данная тенденция также косвенно подтверждает появление биотининовых фрагментов, увеличивающих шероховатость поверхности. Все изготовленные устройства как до, так и после «клик»-реакции сохраняли работоспособность в качестве ОПТЭЗ в диапазоне рабочих напряжений V_{GS} от -0,1 В до -0,5 В, в т.ч. в 0,1 М растворе NaCl. Наилучшие электрические свойства после «клик»-реакции показал ОПТЭЗ, содержащий 10% **ВТБТ-алкуне**, поэтому далее его поверхность была последовательно функционализирована стрептавидином и биотинилированным ДНК-аптамером. Затем определяли отклик полученного сенсора на целевой вирус гриппа А и контрольный вирус болезни Ньюкасла в концентрации 6×10^6 ВЧ/мл (**Рисунок 8**). Показано, что существенное изменение порогового напряжения ОПТЭЗ наблюдалось только для целевого вируса гриппа А.

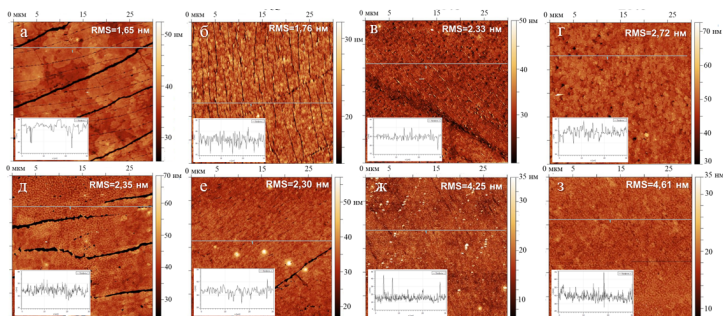


Рисунок 7 – АСМ-изображения морфологии поверхности ОПТЭЗ до (а-г) и после (д-з) «клик» реакции для слоев с различным содержанием алкильной компоненты (а, д) 0% C11-ВТБТ-С6-О-С3, (б, е) 1% C11-ВТБТ-С6-О-С3, (в, ж) 10% C11-ВТБТ-С6-О-С3, (г, з) 20% C11-ВТБТ-С6-О-С3

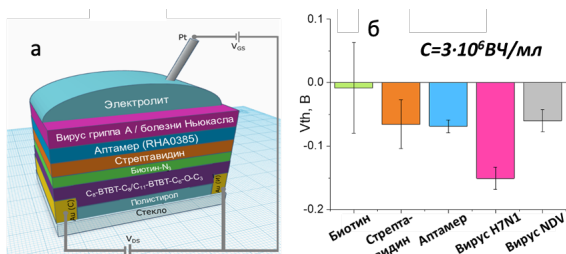


Рисунок 8 – Архитектура ОПТЭЗ-биосенсора (а); сенсорный отклик ОПТЭЗ, содержащего 10% **VTBT-alkyne** на целевой и контрольные вирусы (б).

Таким образом, разработан технологически простой и эффективный подход к созданию рецепторных слоев ОПТЭЗ методом клик-химии (азид-алкинового циклоприсоединения), позволивший изготовить ОПТЭЗ-аптасенсор к вирусу гриппа А с порогом обнаружения 6×10^6 ВЧ/мл, что соответствует чувствительности ИХА тест-полосок на основе антител.

3.1.3. Влияние химического строения VTBT-содержащих сополимеров на формирование рецепторного слоя ОПТЭЗ-устройств

Опираясь на литературные данные, была проверена гипотеза о возможности использования сополимеров в качестве рецепторных слоев в ОПТЭЗ-биосенсорах. В качестве объектов исследования были использованы статистические силоксановые гребнеобразные сополимеры различного состава, содержащие в своем составе боковые группы 2-ундецил-7-гексилбензотиено[3,2-b][1]бензотиофена, а также боковые группы биотинзамещенного 2-ундецил-7-гексилбензотиено[3,2-b][1]бензотиофена. Показано, что все сополимеры образуют на поверхности воды устойчивые Ленгмюровские слои, которые могут быть перенесены при помощи метода Ленгмюра-Шеффера на полупроводниковый слой **C8-VTBT-C8** (рисунок 9). Измеренные величины КУС в пределах ошибки измерений не зависят от содержания биотинового фрагмента в составе сополимера. Данные АСМ подтвердили, что исследованные сополимеры образуют на поверхности воды кристаллический монослой, который может быть перенесен методом ЛШ на твердую подложку. Ленгмюровский слой самопроизвольно кристаллизуется на поверхности воды раньше, чем оказывается плотно сжат, поэтому на поверхности полупроводникового слоя имеет неоднородную структуру с неполным заполнением поверхности и отчетливо выраженными разрывами вне зависимости от содержания биотиновых фрагментов в составе сополимера.

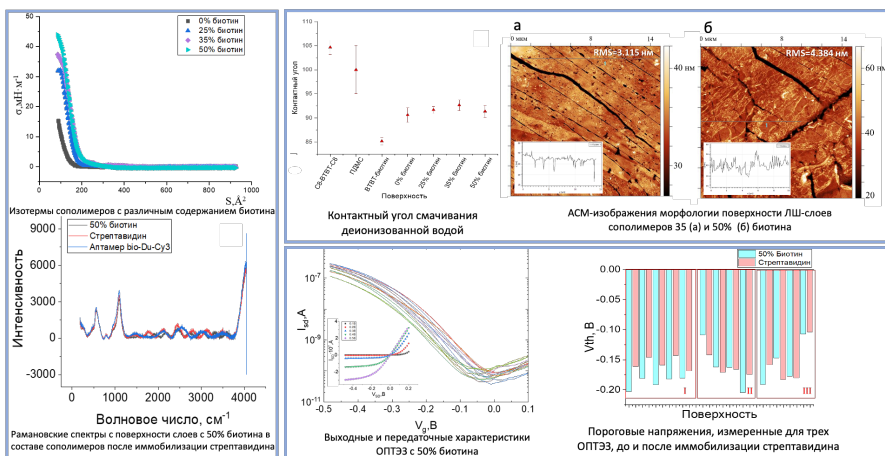


Рисунок 9 – Формирование рецепторного слоя ОПТЭЗ из сополимеров ВТВТ

Перенос ЛШ-слоя сополимеров не оказывает негативного влияния на электрические свойства ОПТЭЗ, для всех составов сополимеров были получены вольтамперные кривые, типичные для электролитических транзисторов р-типа. Сравнение электрических характеристик трех одинаковых ОПТЭЗ с ЛШ слоем из сополимера, содержащего 50% биотина, до и после иммобилизации стрептавидина показало, что только для малого количества пикселей наблюдалось изменение порогового напряжения после иммобилизации стрептавидина. Данные рамановской спектроскопии не подтвердили появление стрептавидина на поверхности ЛШ слоев ни для одного из исследованных сополимеров.

Это позволяет сделать вывод, что вне зависимости от состава сополимера, его силоксановые фрагменты в лэнгмюровских слоях обращены к воде, тогда как боковые группы, содержащие ВТВТ-фрагмент, самопроизвольно кристаллизуются на поверхности воды, оставаясь обращенными к воздуху. При ЛШ переносе такого слоя, биотиновые фрагменты, ответственные за дальнейшее взаимодействие со стрептавидином, расположены внутри ЛШ-монослоя и не обеспечивают следующий шаг модификации. Взаимодействие со стрептавидином происходит только на дефектах (разрывах) ЛШ-монослоя, где биотиновые фрагменты оказываются доступны, даже не находясь на его поверхности. Возможным решением проблемы может стать использование основных полимерных цепей другой химической природы, например, полистирольных, которые будут достаточно гидрофобными, чтобы не взаимодействовать с поверхностью воды.

3.2. Разработка подхода к изготовлению биосенсорных устройств на основе ОПТЭЗ для многоразового использования

Раздел посвящен разработке подхода к изготовлению ОПТЭЗ-биосенсоров для обнаружения вируса гриппа А, подходящих для многоразового использования, и проверке работоспособности предложенной концепции в реальных биологических жидкостях. Результаты опубликованы в [4].

В качестве базового устройства использовали ОПТЭЗ на основе **C8-BTBT-C8**, в качестве узнающих элементов - полимерные трековые мембраны из полиэтилентерефталата (ПЭТФ) с иммобилизованным на них аптамером, расположенные в электролите между полупроводником и затвором (**рисунок 10**).

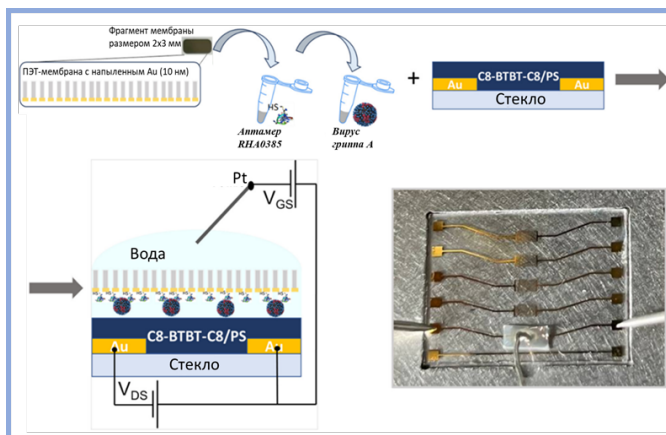


Рисунок 10 – Схема изготовления многоразового ОПТЭЗ-аптасенсора и фотография процесса измерений

Выбор трековых мембран обусловлен их термической и химической стабильностью, контролируемым размером пор и хорошей способностью к микрофильтрации в сложных биосистемах. На поверхность мембран был нанесен слой золота толщиной 10 нм методом вакуумного напыления. Показано, что использование трековой мембраны в составе ОПТЭЗ, в т.ч. с осажденным на одну сторону золотом, не оказывает критического влияния на электрические характеристики устройства (**Рисунок 11а**). При этом при размещении на поверхности ОПТЭЗ пленки ПЭТФ, не содержащей пор, передаточная характеристика не регистрируется (**рисунок 11а**, синяя кривая), т.е. только наличие пор в трековых мембранах позволяет использовать их как элементы ОПТЭЗ благодаря проникновению ионов через мембрану на полупроводниковую поверхность.

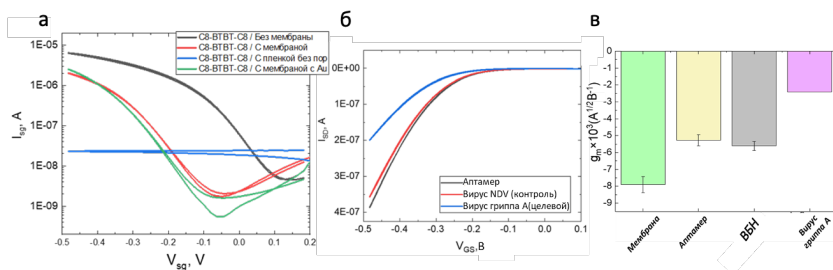


Рисунок 11 – Передаточные характеристики ОПТЭЗ с трековыми мембранами и без них (а); передаточные характеристики (б) и передаточная проводимость (в) ОПТЭЗ-аптасенсора с трековой ПЭТФ мембраной с размером пор 60 нм, позолоченной стороной к каналу транзистора.

На мембрану последовательно инкубировали аптамер, затем целевой вирус гриппа А или контрольный вирус болезни Ньюкасла (**рисунок 11б**). Для определения влияния ориентации мембраны на отклик устройства сравнивали расположение позолоченной стороны мембраны по направлению к каналу транзистора или от него. Отклик устройства наблюдался только для первого варианта. Передаточная проводимость была выбрана в качестве параметра отклика (**рисунок 11в**).

Для обеспечения высокой чувствительности ОПТЭЗ-аптасенсора и выбора оптимального размера пор мембраны исследовали широкий диапазон размеров пор (d) мембран, полученных методом трекового травления, в т.ч. поры диаметром 35, 60 и 400 нм. Сенсорный отклик на вирус гриппа А проявили все ОПТЭЗ (**рисунок 12**), однако монотонная зависимость отклика от концентрации вируса и его высокая воспроизводимость наблюдались только для ОПТЭЗ с мембраной, имеющей диаметр пор 60 нм. Частица вируса гриппа А имеет размер около 100 нм, поэтому не может проникнуть через поры с $d = 35$ нм, но беспрепятственно проходит через поры с $d = 400$ нм, а при $d = 60$ нм может пройти через пору только под действием приложенного электрического поля и капиллярных сил.

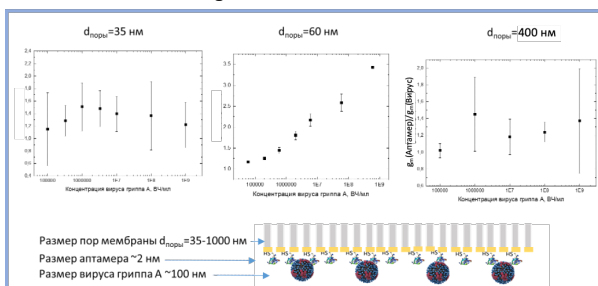


Рисунок 12 – Зависимость величины сенсорного отклика ОПТЭЗ-аптасенсора на вирус гриппа А от концентрации вируса для мембран с различными размерами пор

Высказанная гипотеза подтверждается СЭМ-изображениями мембран с разными размерами пор (**рисунок 13**). На обеих сторонах мембраны с размером пор 60 нм наблюдаются агломераты частиц вируса гриппа А, расположенные как на поверхности между порами, так и внутри пор (**рисунок 13а,б**). Обратная сторона не была покрыта золотом, на ней не было аптамера, поэтому появление на ней вирусных частиц можно объяснить только их проникновением через поры за счёт капиллярного и электростатического эффектов. Контрольный эксперимент с вирусом болезни Ньюкасла показал полное отсутствие частиц вируса на обеих сторонах мембраны с размером пор 60 нм из-за отсутствия взаимодействия аптамера с неспецифическим вирусом (**рисунок 13 в,г**). Также видно, что биомолекулы не задерживаются внутри пор размером 400 нм или на обратной стороне такой мембраны (**рисунок 13д,е**).

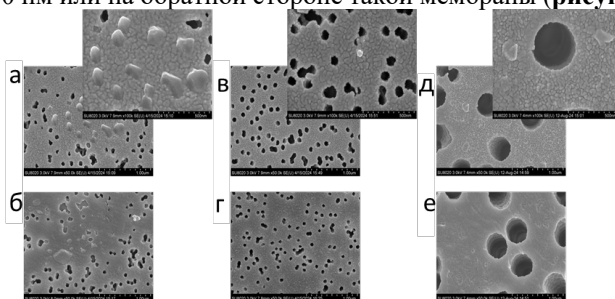


Рисунок 13— СЭМ-изображения покрытой золотом и обратной сторон трековых мембран, сканированных после измерения вирусов в ОПТЭЗ-аптасенсорах. Размер пор 60 нм (а-г), 400 нм (д,е); вирус гриппа А (а,б,д,е), вирус болезни Ньюкасла (в,г), покрытая золотом поверхность (а,в,д) обратная сторона (б,г,е).

В серии контрольных экспериментов с мембраной, расположенной покрытой золотом стороной от слоя полупроводника, а также с мембраной без иммобилизованного аптамера, были получены результаты, исключающие неспецифическое связывание вируса с мембраной (**рисунок 14**).

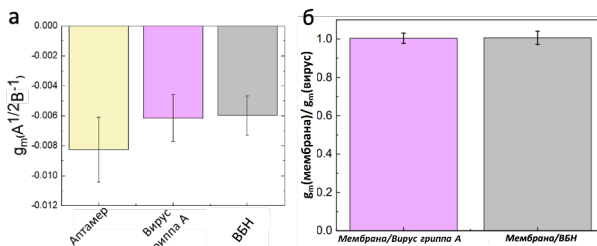


Рисунок 14 – (а) Отклик ОПТЭЗ-аптасенсора на целевой и контрольный вирусы с мембраной, расположенной покрытой золотом (биомодифицированной) стороной от слоя полупроводника (а), с мембраной без иммобилизованного аптамера (б)

Для оценки возможности повторного использования предложенной архитектуры ОПТЭЗ электрические характеристики сенсора измеряли до и после обнаружения вируса гриппа А (**рисунок 15а**). Незначительное снижение передаточной проводимости (**рисунок 15б**) позволяет ОПТЭЗ оставаться в очень хорошем рабочем состоянии после измерений с трековой мембраной в качестве узнающего элемента. Сравнение откликов ОПТЭЗ-аптасенсора на целевой вирус гриппа А и контрольный вирус болезни Ньюкасла с концентрацией $6 \cdot 10^6$ ВЧ/мл в реальном образце биологической жидкости (назальном мазке) показало, что сенсор сохраняет свою работоспособность в реальной биологической жидкости (**рисунок 15в**). Отклики на вирус для модельного (в солевом фосфатном буфере) и реального образцов различаются в 1,17 раза, т.е. в пределах экспериментальной погрешности.

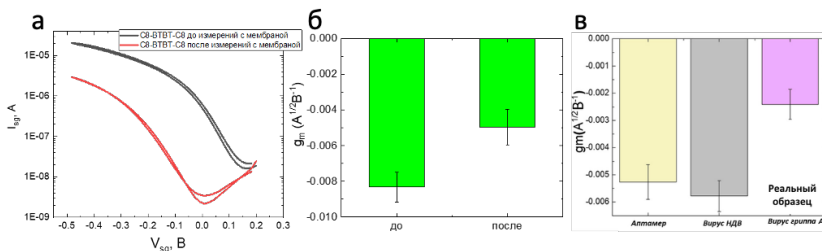


Рисунок 15— Передаточные характеристики ОПТЭЗ-аптасенсора до и после обнаружения вируса гриппа А с помощью трековой мембраны (а,б); Отклик ОПТЭЗ-аптасенсора на реальный образец биологической жидкости (назальный мазок), содержащий целевой и контрольный вирусы.

Таким образом, разработан и успешно продемонстрирован универсальный подход к изготовлению многоразовых ОПТЭЗ аптасенсоров с использованием полимерных трековых мембран в качестве дешевых одноразовых элементов для биоузнающих слоев для обнаружения вируса гриппа А. Предел обнаружения разработанного устройства был определен как равный $6 \cdot 10^4$ ВЧ/мл, что превосходит предел обнаружения экспресс-тестов на основе антител ($1 \cdot 10^6 - 4 \cdot 10^8$ ВЧ/мл), но уступает пределу обнаружения ПЦР-метода ($3 \cdot 10^2 - 1,2 \cdot 10^3$ ВЧ/мл).

Раздел 3.3. Разработка подхода к изготовлению мультисенсорных устройств на основе ОПТЭЗ

Раздел посвящен разработке подхода к изготовлению ОПТЭЗ-аптасенсора, способного к многоцелевому обнаружению аналитов с использованием одного чипа, его результаты опубликованы в работах [2, 5].

В качестве модельного элемента узнавания, позволяющего использовать ОПТЭЗ как устройство для обнаружения трех мишеней, использовали аптамер BV42, способный к конформационному переключению, зависящему от pH, что дает возможность обнаруживать различные по своей

природе анализы, в т.ч. биологический супрамолекулярный комплекс (вирус гриппа А), неорганический катион Ag^+ и концентрацию ионов H^+ в физиологически значимом диапазоне. Схема устройства представлена на рисунке 16.

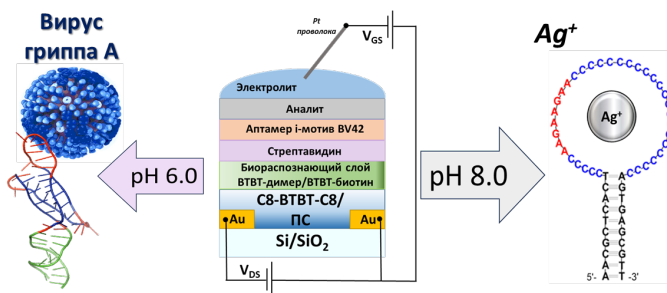


Рисунок 16–Архитектура и принцип работы ОПТЭС-аптасенсора для многоцелевого обнаружения: определение pH, обнаружение вируса гриппа А при pH 6, обнаружение катионов серебра при pH 8

ОПТЭС с полупроводниковым слоем на основе алкилзамещенных производных бензотиенобензотиофена сами по себе чувствительны к изменениям pH. К сожалению, ОПТЭС, не содержащие рецепторного и узнающего слоев, продемонстрировали значительную чувствительность к изменению pH только в диапазоне pH от 2,5 до 5,3, в то время как чувствительность при pH от 6,0 до 8,0 оказалась очень слабой (**рисунок 17**). Следует отметить, что охват диапазона pH от 6,0 до 8,0 очень важен для биосенсорики, поскольку именно в этом диапазоне лежит pH почти всех биологических жидкостей

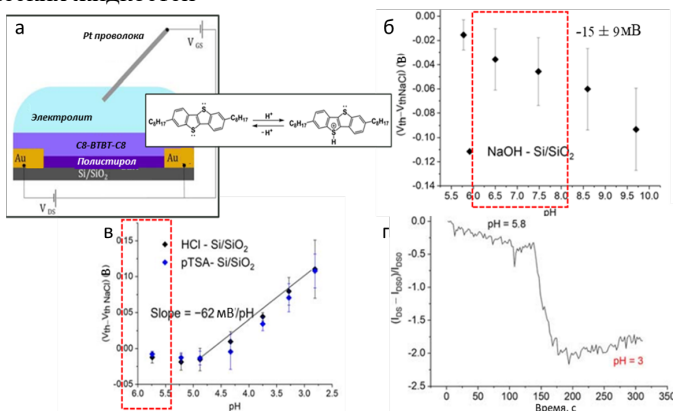


Рисунок 17– Влияние pH на полупроводниковый слой **C8-BTBT-C8**: архитектура устройства и реакция протонирования-депротонирования **C8-BTBT-C8** (а), сенсорные отклики в различных диапазонах pH (б,в); относительное изменение тока стока-истока устройства при изменении pH от 5,8 до 3,0 (г)

Электрические свойства ОПТЭЗ с полупроводниковой поверхностью C8-BTBT-C8, покрытой рецепторным слоем BTBT-биотина, затем модифицированным стрептавидином и, наконец, аптамером BV42, были исследованы в буферных растворах с pH 6,0, 6,5, 7,0, 7,5, 8,0. Развернутая при pH 8,0 часть i-мотива быстро и обратимо сворачивается в структуру i-мотива при подкислении до pH ниже 7,0 со временем отклика приблизительно 10-15 секунд. Параметром сенсорного отклика служила нормализованная передаточная проводимость ($g_m(pH)/g_{m0}$), где $g_m(pH)$ и g_{m0} — передаточная проводимость в режиме насыщения для измерений pH и для исходного ОПТЭЗ с узнающим слоем, соответственно. Коэффициенты наклона калибровочных прямых, измеренных для передаточной проводимости при изменении pH от кислого к щелочному и наоборот, почти полностью совпадали. При переходе от pH 6,0 к pH 8,0 коэффициент наклона составлял -156 ± 3 мВ/pH, а при переходе от pH 8,0 к pH 6,0 - 153 ± 2 мВ/pH (**рисунок 18**). Модифицированный i-мотивом ОПТЭЗ-сенсор показал в 10 раз более высокие отклики в диапазоне pH от 6 до pH 8 по сравнению с немодифицированным ОПТЭЗ на основе C8-BTBT-C8 и в 8 раз более высокие отклики по сравнению с ОПТЭЗ, модифицированным контрольным нечувствительным к pH аптамером (RBD-1C). (**рисунок 21**).

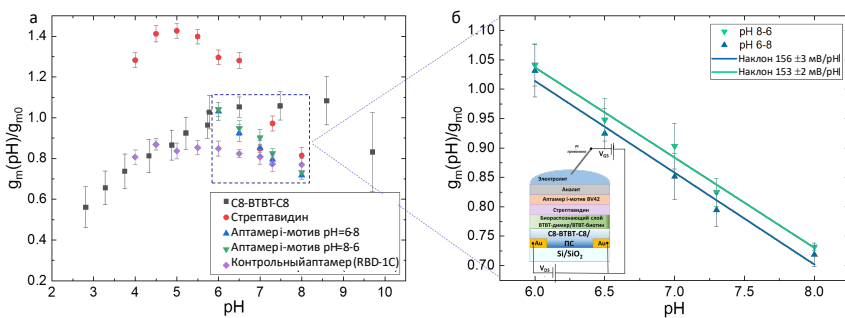


Рисунок 21– Зависимость от передаточной проводимости pH для ОПТЭЗ различных составов (а); для ОПТЭЗ с аптамером i-мотив в диапазоне pH от 6 до pH 8 в двух направлениях (б). Схема измерений pH показана на вставке к (б)

Была измерена чувствительность ОПТЭЗ с аптамером BV42 к вирусу гриппа А в концентрациях 6×10^4 – 6×10^8 ВЧ/мл при разных значениях pH, а также проведены контрольные эксперименты неспецифичным к вирусу гриппа А аптамером RBD-1C и неспецифичным к аптамеру BV42 вирусом болезни Ньюкасла. Схема ОПТЭЗ-аптасенсоров и их сенсорные отклики на вирусы приведены на рисунке 22а. Все исследованные устройства продемонстрировали воспроизводимые электрические характеристики и очень низкую деградацию в процессе измерений. Порог обнаружения вируса гриппа А составил 6×10^4 ВЧ/мл, совпадав с предыдущими результатами (Раздел 3.1.1).

Модель сенсорного устройства для обнаружения перечисленных аналитов одним чипом приведена на **рисунке 23а**. Чип с 20 устройствами ОПТЭЗ разделен на четыре зоны детектирования, первая покрыта аптамером BV42 в 0,1 М NaCl для определения pH; вторая - развернутым аптамером BV42 для обнаружения ионов Ag^+ в ПБС при pH 7,3; третья - свернутым аптамером BV42 для обнаружения вируса гриппа А в ПБС при pH 6,0, а четвертая - контрольным аптамером RNA0385 для обнаружения вируса гриппа А. Тестовый жидкий образец, предположительно содержащий ионы Ag^+ или частицы вируса гриппа А, помещают в ячейку с мультисенсорным чипом и одновременно измеряют всеми 20 устройствами. Если наибольший отклик получен от ОПТЭЗ во второй зоне, это соответствует присутствию ионов Ag^+ , наибольший отклик от третьей области соответствует присутствию вируса гриппа А. Отсутствие отклика от второй и третьей области позволяет предсказать отсутствие Ag^+ и вируса гриппа А в тестовом образце и требует контроля работы устройства путем проверки отклика первой области, который должен быть зарегистрирован, даже если образец не содержит целевых веществ.

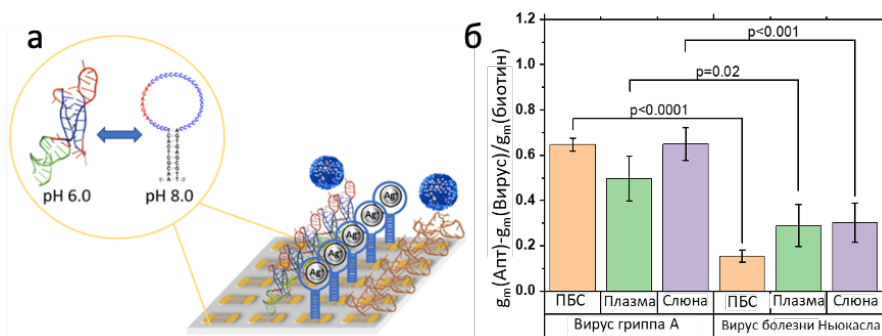


Рисунок 23 – Принцип работы ОПТЭЗ-мультисенсора (а); отклик ОПТЭЗ-сенсора на целевой и контрольный вирусы в модельном (ПБС) и реальных образцах биологических жидкостей (слюна и плазма крови) (б)

Отклики ОПТЭЗ-мультисенсора на целевой и контрольный вирусы в концентрации $6 \cdot 10^6$ ВЧ/мл в модельных образцах в солевом фосфатном буфере и в реальных образцах биологических жидкостей (слюне и плазме крови) приведены на **рисунке 23б**. Достигнутой разницы откликов достаточно, чтобы четко различать целевые и контрольные образцы.

Таким образом, впервые реализована концепция многоцелевого обнаружения одним чипом на основе ОПТЭЗ с одним узнающим элементом - аптамером с конформационным переключателем, зависящим от pH, для обнаружения трех мишеней различной природы: вируса гриппа А, катионов серебра и pH. Применимость сенсора в реальных условиях была доказана для биологических жидкостей (слюна и плазма крови) с вирусной нагрузкой, типичной для пациентов с гриппом.

ВЫВОДЫ

1. Разработаны подходы к созданию рецепторных и узнающих слоев для жидкостных биосенсоров на основе органических полевых транзисторов с электролитическим затвором, обеспечивающие высокочувствительное селективное обнаружение и определение содержания вируса гриппа А в растворах, в т.ч. в реальных биологических жидкостях, таких как плазма крови, слюна, назальный мазок. Предложенные методы биофункционализации поверхности ОПТЭЗ открывают возможность изготовления многоцветных устройств, а также устройств для мультицелевого детектирования.

2. Впервые исследовано влияние толщины полупроводникового материала на сенсорные характеристики ОПТЭЗ-устройств. Установлено, что тонкий полупроводниковый слой в составе ОПТЭЗ-сенсора с нанесенным поверх него биорецепторным слоем демонстрирует наиболее интенсивный сенсорный отклик на вирус гриппа А, что обеспечивает на порядок большую чувствительность (в 1,5 раза выше) по сравнению с толстым полупроводниковым слоем.

3. Разработан подход к созданию биорецепторных слоев ОПТЭЗ с использованием методов клик-химии на примере азид-алкинового взаимодействия. Определено влияние содержания алкиновой компоненты в составе органического полупроводника на морфологию и функциональность полученного биорецепторного слоя. Показано, что оптимальным является содержание алкин-содержащей компоненты, равное 10 мас.%. Изготовлен биосенсор, обнаруживающий вирус гриппа А в концентрации 3×10^6 вир.частиц/мл.

4. Разработан универсальный подход к изготовлению многоцветных аптасенсоров на основе ОПТЭЗ с полимерными трековыми мембранами в качестве одноразовых, легко заменяемых биоузнающих слоев. Определен наиболее подходящий размер пор мембраны, равный 60 нм, достаточный для проникновения вирусных частиц и их захвата вблизи токопроводящего слоя. Продемонстрирован предел обнаружения изготовленного аптасенсора 8×10^4 вир.частиц/мл.

5. Разработан и успешно реализован подход к изготовлению ОПТЭЗ-аптасенсора, способного к мультицелевому детектированию за счет свойств аптамера, имеющего структуру i-мотив и чувствительного к нескольким анализитам одновременно за счет своей способности изменять конформацию под влиянием внешних факторов, а именно изменения pH. Установлено, что аптамер i-мотив обеспечивает чувствительность ОПТЭЗ к изменению pH среды в биологически значимом диапазоне от 6 до 8, а также чувствительность биосенсора к вирусу гриппа А (при pH 6.0) и к ионам Ag^+ (при pH 7.3).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. E.Y. Poimanova, E.G. Zavyalova, E.A. Kretova, A.A. Abramov, A.A.Trul, O.V. Borshchev, A.K. Keshek, S.A. Ponomarenko, E.V. Agina.

Quantitative Detection of the Influenza a Virus by an EGOFET-Based Portable Device // Chemosensors – 2023. - Vol. 11. – P.464. IF =3,7, Q2.

2. P.A. Shaposhnik, E.Y. Poimanova, A.A. Abramov, A.A.Trul, D.S. Anisimov, **E.A. Kretova**, E.V. Agina, S.A. Ponomarenko. Applying of C8-BTBT-based EGOFETs at different pH values of the electrolyte // Chemosensors – 2023. - Vol. 11. – P.74. IF =3.7, Q2.

3. **Е.А. Кретьова**, Е.Ю. Пойманова, М.С. Скоротецкий, Е.Г. Завьялова, С.А. Пономаренко, Е.В. Агина. Биорецепторный слой, полученный методом «клик»-химии на поверхности органических полевых транзисторов с электролитическим затвором // Известия Академии наук. Серия химическая – 2025. – Т. 74, №11. – с. 3589-3601. IF=1.7; Q3.

4. E.Y. Poimanova, **E.A. Kretova**, A.K. Keshek, E.V. Andreev, A.N. Nechaev, K.A. Prusakov, K.G. Aldarov, D.V. Basmanov, A.I. Akhmetova, I.V. Yaminsky, S.A. Ponomarenko, E.G. Zavyalova, E.V. Agina. A universal approach to the fabrication of reusable EGOFET-based aptasensors with track-etched membranes for biorecognition layers// J. Mater. Chem. B – 2025. - Vol. 13. – P.4681-4692. IF =5.8, Q1.

5. E.Y. Poimanova, **E.A. Kretova**, A.K. Keshek, A.T. Trul, E.G. Zavyalova, E.V. Agina. Single-chip multitarget detection by EGOFET-based aptasensor // J. Mater. Chem. B. – 2026. Vol. 14. - P. 2543–2555. IF=5.8, Q1