

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

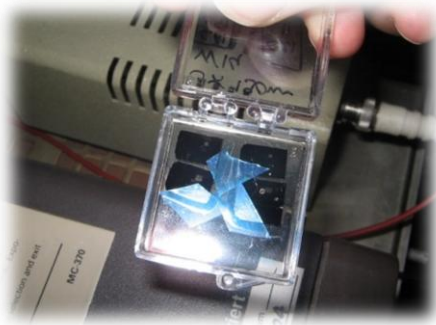
Елсуков К.А.

Научный руководитель: Шахнов В.А.

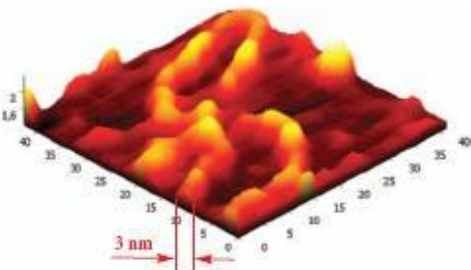
Кафедра ИУ4 МГТУ им. Баумана



Рабочая камера прибора



Кантелеверы



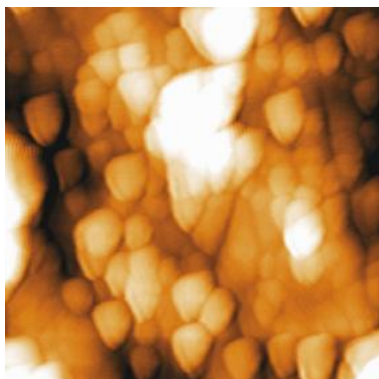
СЗМ изображение ДНК

Объектом исследования в данной работе является биолого-химическое взаимодействие между поверхностью кантилевера и раствором исследуемого биологического объекта, а также методы взвешивания пристыковавшейся массы с точностью 10^{-11} кг.

Цель работы – создание интеллектуального аппаратно-программного комплекса на основе зондовой микроскопии для решения задач молекулярной диагностики:

- прямой визуализации белков, структуры и свойств клеточных мембран
- прямой визуализации ДНК
- прямой визуализации отдельных вирусов.

Возможности и применение комплекса

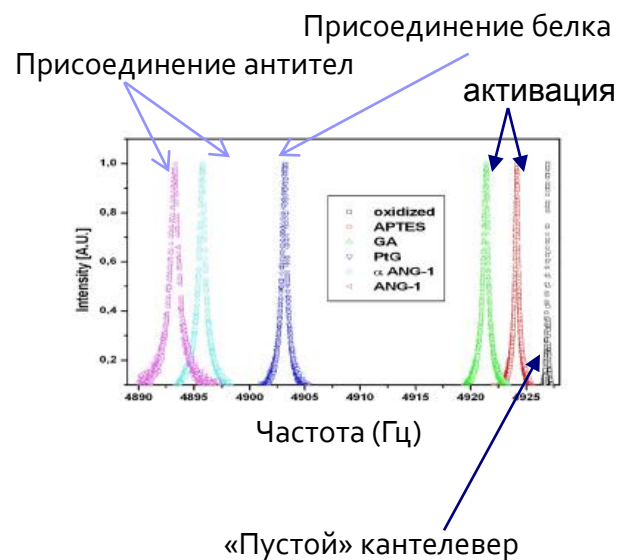


Исследуемый образец
в виде полигонов нанокластеров

- АПК клеточной диагностики может быть использован:
- для диагностики рака и других злокачественных образований
 - проведения исследования органических соединений
 - исследования свойств зубной эмали и микрошлифов
 - определения вирусов в реальном времени.

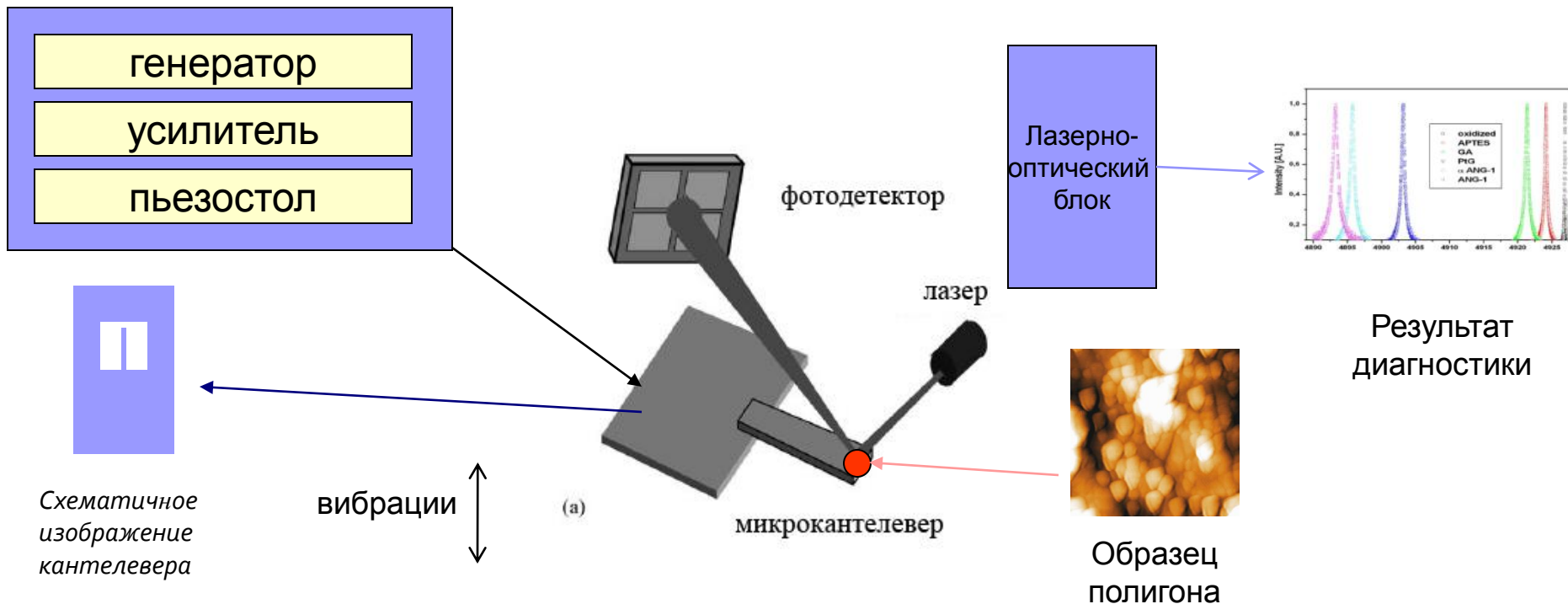
Например: При проведении рамановской спектроскопии вирусной ДНК или РНК на поверхности полигонов нанокластеров сдвиг частот отличается для каждой конкретной последовательности ДНК или РНК, что дает возможность провести идентификацию вируса с использованием его генетического кода.

В дальнейшем предполагается расширить возможности метода и освоить идентификацию бактерий, токсинов и других веществ.



Принципы построения АПК

Измерения проводятся при помощи пьезостолика, находящегося в вакуумной камере. На кантеливер падает луч лазера, отражался от его поверхности и попадал на ПЗС. Для точного позиционирования лазера использовался оптический микроскоп. При помощи генератора задающей частоты на столик подаются вибрации в заданном диапазоне и с заданным шагом изменения частоты. При достижении резонансной частоты кантеливер начинает совершать колебания с более высокой амплитудой, что регистрируется повышением напряжения на фотодетекторе. После прохождения биологической активации снова измеряется резонансная частота. При увеличении массы кантеливера его резонансная частота уменьшается, таким образом при можно измерить пристыковавшуюся массу и точно идентифицировать присоединенное вещество.



Методы молекулярной диагностики

Методы молекулярной диагностики

Химические

Оптические

Физические

Комбинированный метод

*Наборы реагентов
ДНК-зонды*

Химические методы основаны на применении определённого набора реагентов для определения состава и массы вещества

*Профилометры
Спектрометры*

Оптические методы используют свойства молекул, связанные с искажением параметров света, проходящих через них

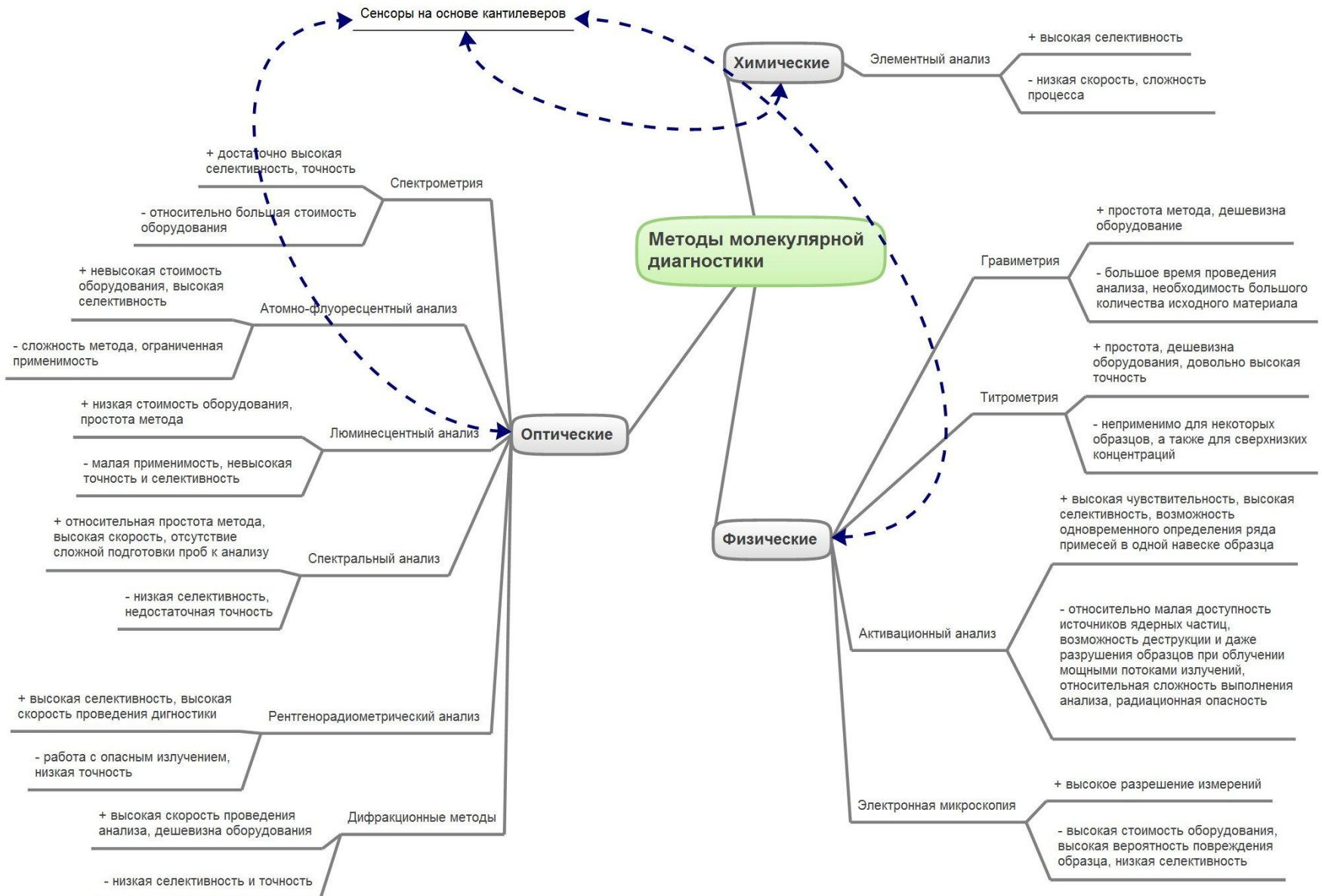
*Зондовые микроскопы
Электронные микроскопы*

Физические методы основаны на применении различных физических эффектов и явлений для получения информации об изучаемом объекте

Единичные лабораторные приборы

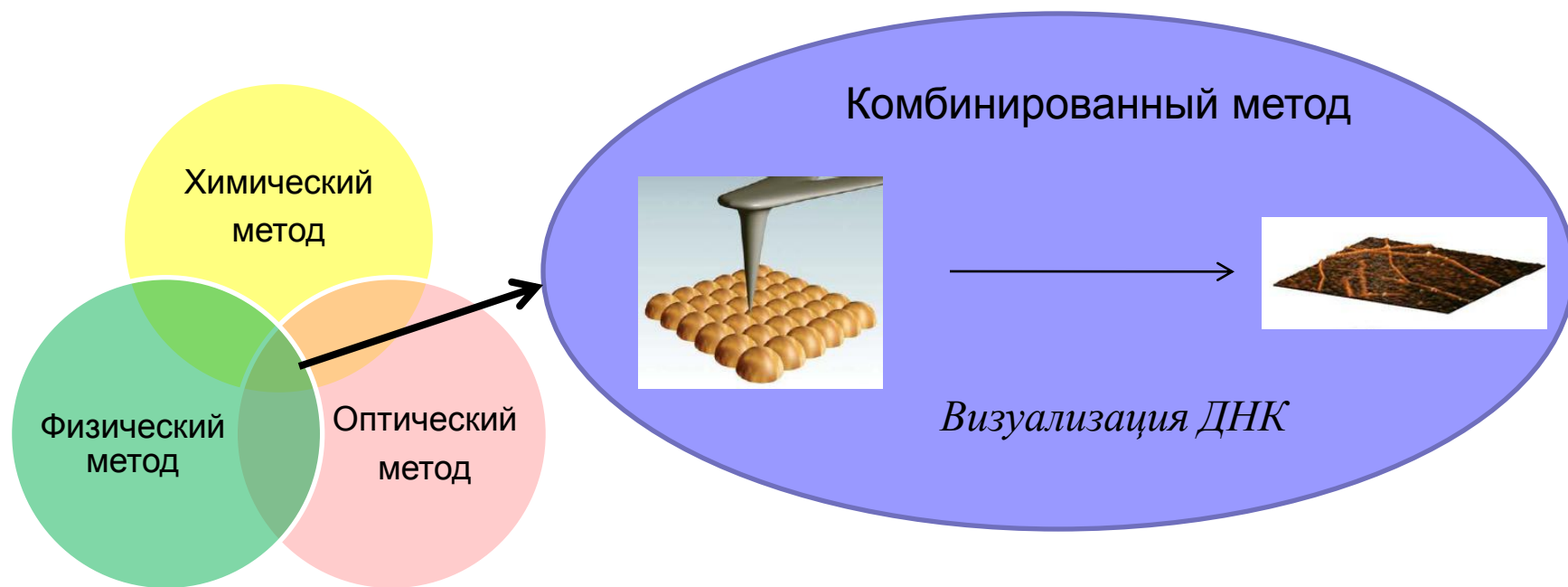
Данный метод находится на стадии развития, приборы создаются в исследовательских лабораториях для конкретных задач.

«Дорожная карта» методов диагностики



Преимущества комплексного метода

Важным свойством представленного в проекте АПК является комбинирование физических, оптических и химических методов. В случае применения метода молекулярной диагностики на основе зондовой микроскопии повышается как точность получаемых результатов, так и их достоверность. Это происходит за счёт применения специальных зондов, точность которых заметно выше, а также полигонов, позволяющих значительно усилить принимаемый сигнал.

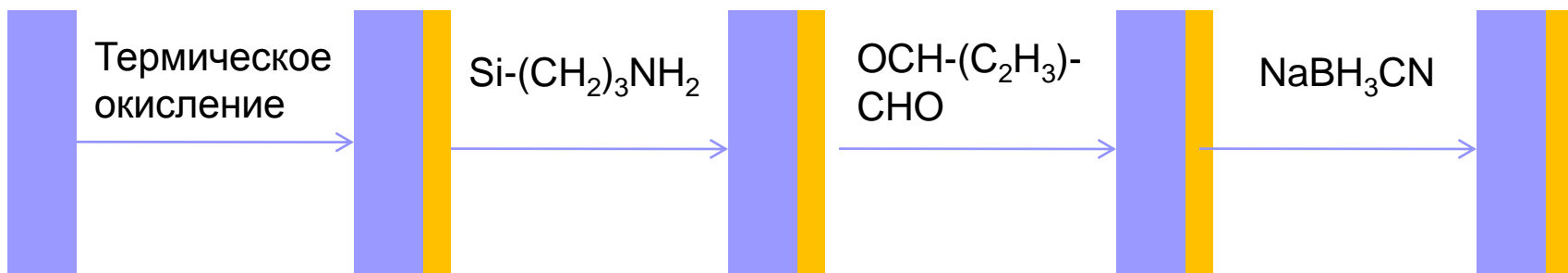


Химическая активация



Химическая активация заключается в подготовке поверхности микроантеливера для присоединения белков и антител. Она заключается в термическом окислении лицевой поверхности, на которую наносится APTES и GA, а на тыльную часть - NaBH_3CN .

1 2 3 4 5



Si
Подложка

Si/SiO₂
Окисление

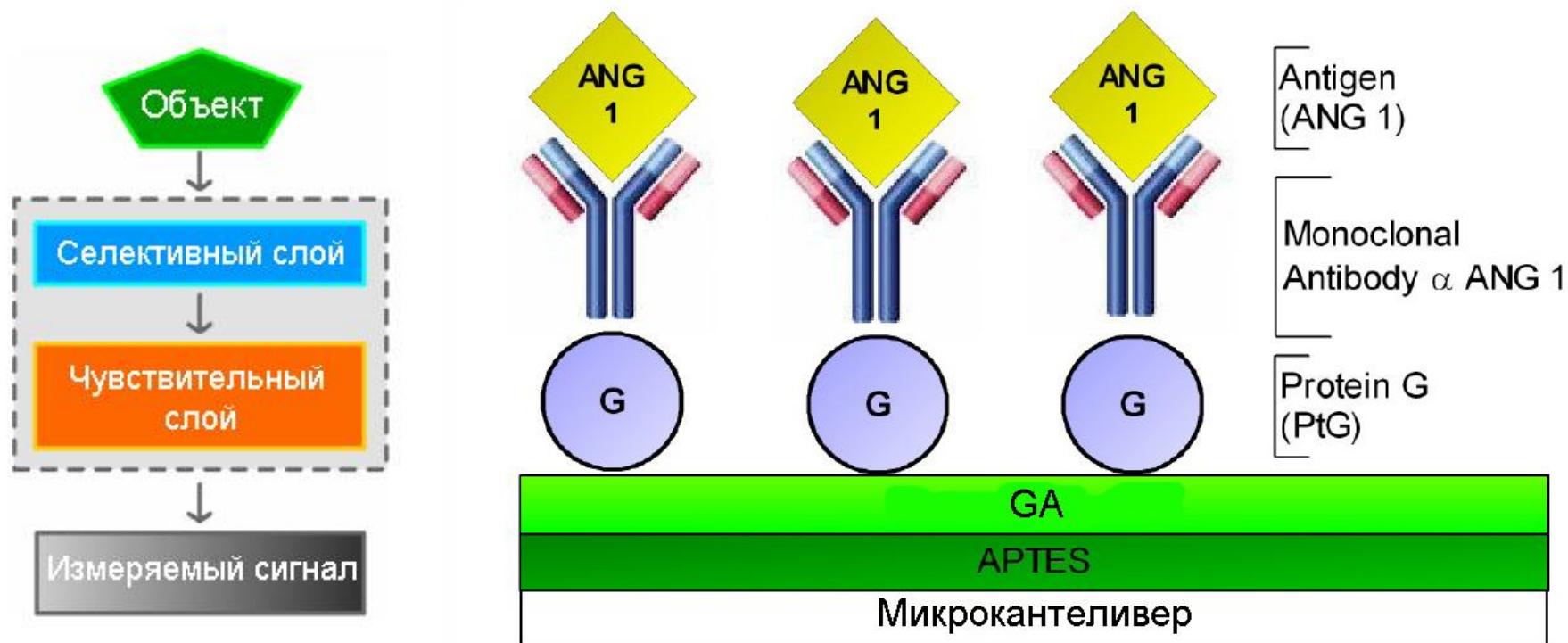
Si/SiO₂+APTES
Присоединение
APTES

Si/SiO₂+APTES+GA
Присоединение
GA

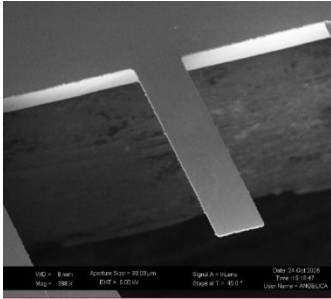
Si/SiO₂+APTES+GA+
NaBH₃CN
Присоединение
NaBH₃CN

Схема взаимодействия

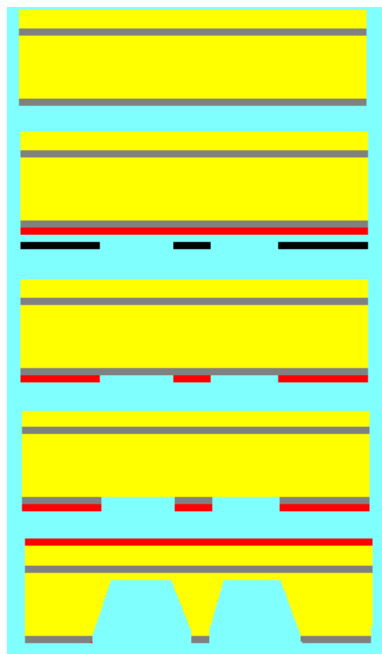
На рисунке представлена схема взаимодействия белка и антитела. Суть эксперимента заключается в создании таких условий присоединения антител, при которых будет проходить реакция лишь на исследуемое антитело, что позволит с высокой точностью определить его массу.



Микрокантеливеры



Ниже приведена схема получения массива микрокантеливеров. Применяется литография, химическое травление и реактивно-ионное травление.

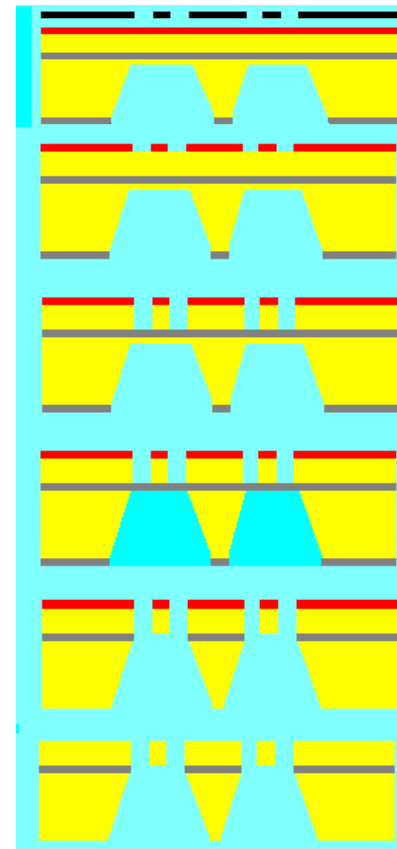


SOI подложка

Литография
задней
поверхности

Травление в BOE

Травление в КОН



Литография
лицевой
поверхности

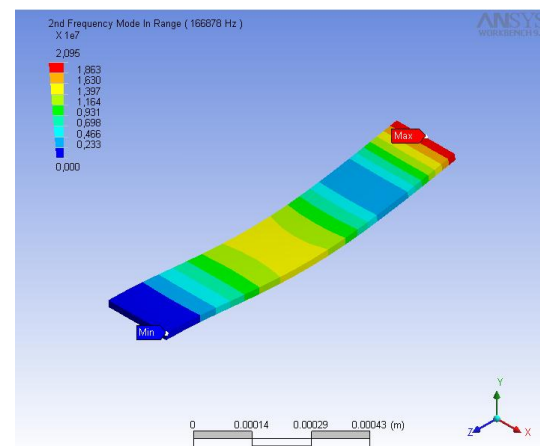
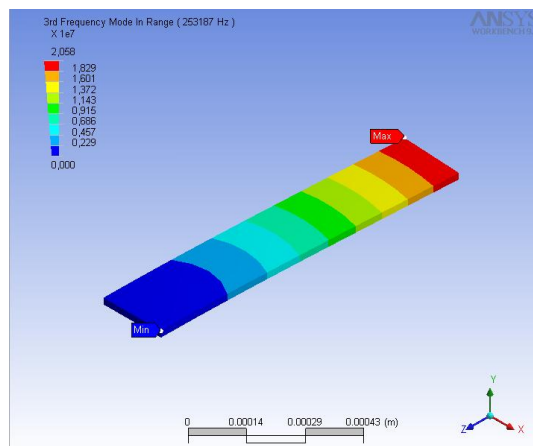
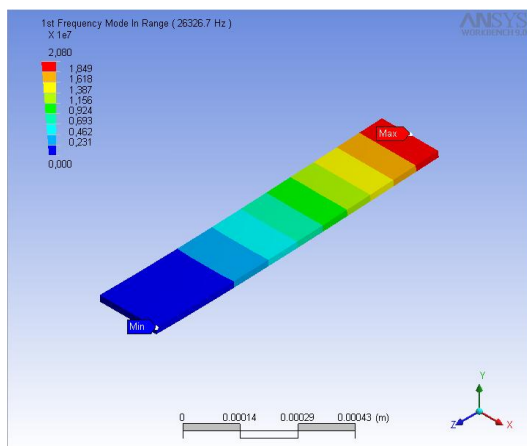
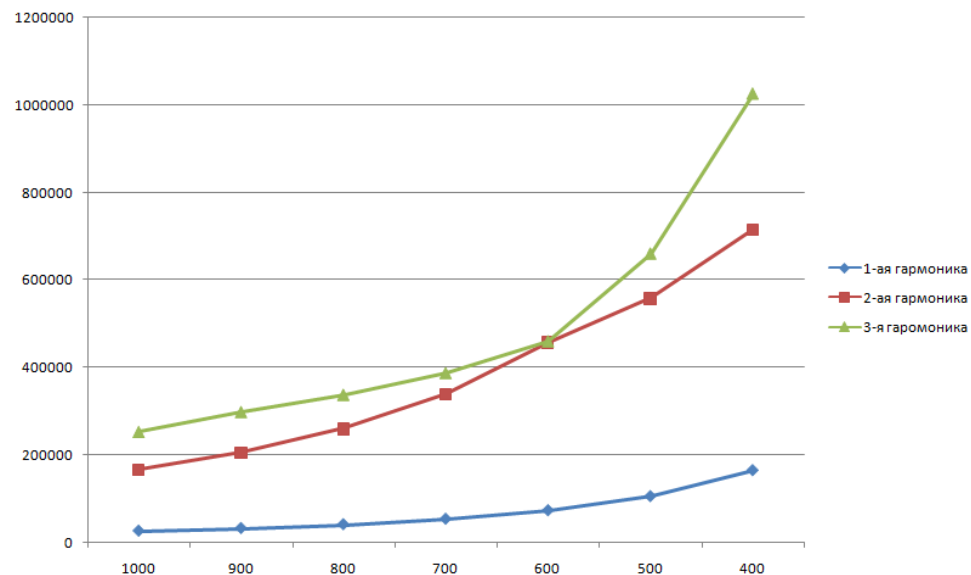
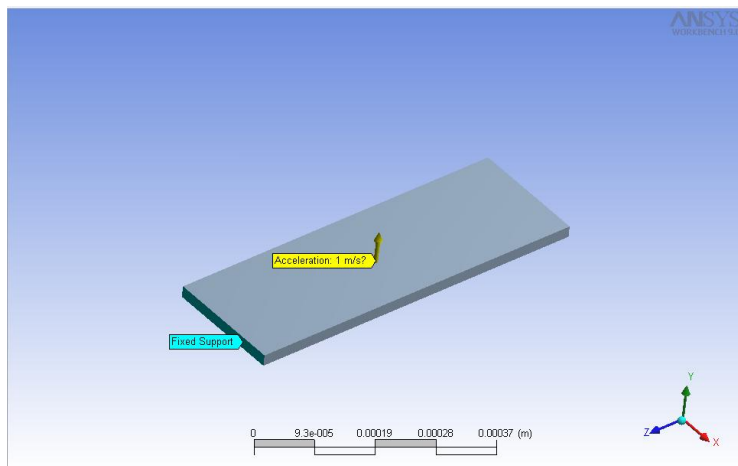
RIE травление
лицевой
поверхности

RIE травление
задней
поверхности

Травление в BOE

Зачистка

Моделирование



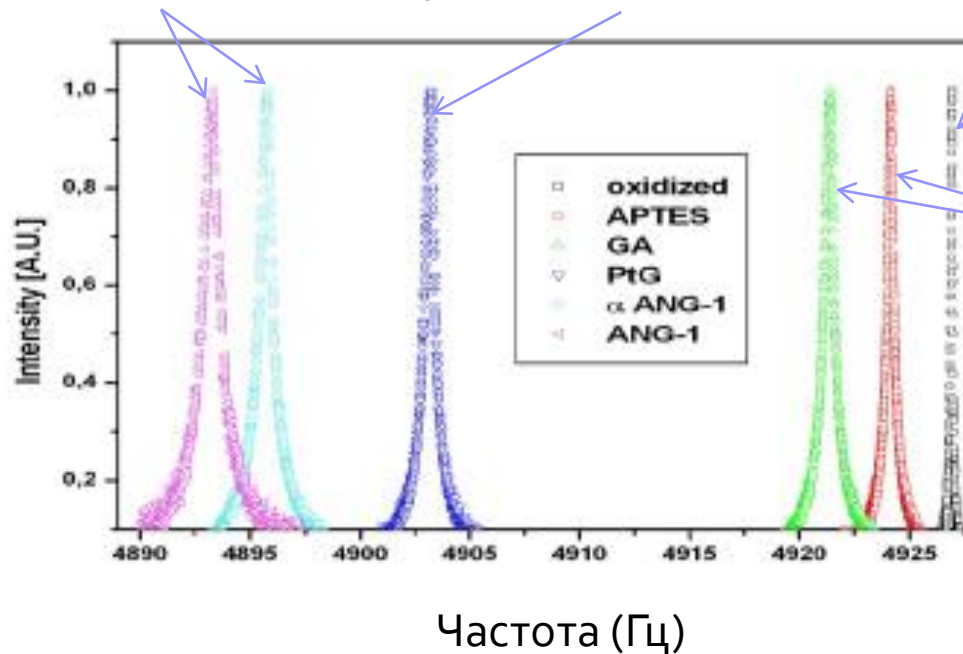
Измерения

В данном проекте ставится цель получить надёжный метод измерения биологической массы, вступившей в реакцию с известным веществом. В проекте в качестве известного вещества использовался белок, к которому присоединялись антитела. При помощи данного метода возможно измерить массу до 10^{-11} кг.

Присоединение антител

Присоединение белка

«Пустой» кантилевер



$$M = \frac{1}{4\pi} \left(\frac{1}{4903^2} - \frac{1}{4927.5^2} \right) = 1,6 \times 10^{-11} \text{ кг}$$

Апробация проекта

Проект рассматриваемого прибора участвовал в конкурсе молодёжных бизнес-проектов Туринского Политехнического Института и победил в номинации «Лучший зарубежный проект», занял призовое место в конкурсе инновационных предпринимательских проектов по отбору в проектный бизнес-инкубатор МГТУ им. Баумана. Проект участвовал в 7-й международной конференции «Неразрушающий контроль и техническая диагностика в промышленности», а также занял второе место на 10-й Молодежной научно-технической конференции учащихся, студентов, аспирантов и молодых ученых "Наукоемкие технологии и интеллектуальные системы 2008"





СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!