

## БИОФИЗИКА И МЕДИЦИНСКАЯ ФИЗИКА

**Сенсорная система на основе полевого транзистора с каналом-нанопроводом для количественного определения тиреотропного гормона**

И. И. Циняйкин,<sup>1,2,а</sup> Г. В. Преснова,<sup>3</sup> И. В. Божьев,<sup>1,2</sup> А. А. Скорик,<sup>1</sup> М. Ю. Рубцова,<sup>3</sup>  
А. А. Камалов,<sup>4</sup> С. Т. Мацкеплишвили,<sup>4</sup> О. В. Снигирев,<sup>1,2</sup> В. А. Крупенин,<sup>1,2</sup> Д. Е. Преснов<sup>1,2,5,б</sup>

*Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова*

<sup>1</sup> *Лаборатория «Криоэлектроника», физический факультет;*

<sup>2</sup> *Центр квантовых технологий. Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 2.*

<sup>3</sup> *Кафедра химической энзимологии, химический факультет.*

*Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3.*

<sup>4</sup> *Медицинский научно-образовательный центр.*

*Россия, 119192, Москва, Ломоносовский проспект, д. 27, корп. 10.*

<sup>5</sup> *Научно-исследовательский институт ядерной физики имени Д. В. Скобельцына,*

*Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 2.*

Поступила в редакцию 18.06.2020, после доработки 15.09.2020, принята к публикации 13.10.2020.

В данной работе мы представляем оригинальный КМОП-совместимый метод изготовления сенсорной системы на основе полевых транзисторов с каналом-нанопроводом и показываем результаты использования этой системы для количественного определения концентрации тиреотропного гормона (ТТГ) в модельной сыворотке крови. Метод изготовления основан на использовании процесса реактивно-ионного травления верхнего слоя кремния на изоляторе через маску, сформированную с помощью электронно-лучевой литографии. Принцип детектирования основан на регистрации изменения проводимости канала транзистора при селективном взаимодействии определяемого вещества со специфическими биомолекулами на его поверхности. Были изготовлены полевые транзисторы с каналом-нанопроводом шириной 70–90 нм и длиной 3–5 мкм с изолированными от контакта с окружающей жидкостной средой подводящими электродами. В качестве модельного антигена использован белок — тиреотропный гормон гипофиза (ТТГ), в качестве распознающих биомолекул использовали фрагменты специфических к ТТГ антител, ориентировано иммобилизованных на поверхности нанопроводов. Были исследованы условия биоспецифических взаимодействий антител с ТТГ. Предел обнаружения ТТГ составил  $1 \times 10^{-4}$  мкМЕ/мл, что существенно лучше, чем у применяемых в настоящее время методов стандартного твердофазного иммуноферментного анализа.

**Ключевые слова:** биосенсор, нанопровод, полевой транзистор, микрочип, кремний-на-изоляторе, электронно-лучевая литография, сэндвич-иммуноанализ, наночастицы золота, тиреотропный гормон.

УДК: 538.9, 538.91, 621.382.323, 655.226, 53.082.9, 543.9, 57.083.3, 571.27, 577.175.324.

PACS: 87.85.ik, 62.23.Nj, 81.07.Gf, 85.30.Tv, 81.16.Nd, 82.47.Rs, 87.14.Lk.

**ВВЕДЕНИЕ**

Сенсоры на основе полевых транзисторов с каналом-нанопроводом обладают уникальными характеристиками, такими как малый размер, высокая чувствительность, простота массового производства, универсальность и сравнительно низкая себестоимость [1–3]. Они нашли свое применение при анализе распределения электрического потенциала в различных объектах [4–6], для детектирования неорганических молекул в газах [7], мониторинге загрязненности воздуха [8] и для распознавания отдельных молекул ДНК [9], белков [10] и вирусов [11].

Научные исследования при разработке биосенсоров на основе полевых транзисторов затрагивают область поиска различных наноматериалов (кремниевых нанонитей, графена [12, 13] и дихалькогенидов переходных металлов [14–16]), необходимых для производства полевых транзисторов, а также направлены на развитие высокотехнологических процессов

при их изготовлении. По сравнению с химически выращенными сенсорными элементами [1, 5, 8, 11] особенный интерес для исследователей в настоящее время представляют нанопровода, изготовленные из материала кремний-на-изоляторе (КНИ) стандартными методами, используемыми в современной нанoeлектронике: электронной литографии и травлении [2, 17–21]. Такая технология имеет большие перспективы вследствие возможности быстрой интеграции сенсоров в портативные тестовые системы для использования в клинической лаборатории, при тестировании на месте оказания первой медицинской помощи или в полевых условиях [22].

Биосенсорные системы на основе полевых транзисторов с каналом-нанопроводом представляют собой мощную диагностическую платформу благодаря возможности проведения диагностики в режиме реального времени [23] с высокой чувствительностью, специфичностью и не требующей введения дополнительных меток [24, 25]. Поэтому актуальной задачей является создание таких биосенсоров для быстрого и точного определения биологически активных соединений, онкомаркеров и гормонов

<sup>а</sup> E-mail: ii.tcinyaykin@physics.msu.ru

<sup>б</sup> E-mail: denis.presnov@physics.msu.ru

для ранней диагностики онкологических заболеваний [17, 26–29]. В ближайшей перспективе наиболее обширной нишей применения подобных сенсоров останется область лабораторной диагностики, в том числе с возможностью индивидуального применения [30]. Особенно это касается заболеваний, диагностика и контроль лечения которых зависят от определения или мониторинга очень низких концентраций характеристического маркера. Например, в случае врожденного гипотериоза в сыворотке крови больных фиксируется низкий уровень тиреотропного гормона (ТТГ) или его полное отсутствие и предел обнаружения метода должен быть ниже предельного нижнего значения диапазона концентраций данного гормона [31]. Поэтому существует необходимость разработки простого ультрачувствительного метода анализа ТТГ.

ТТГ характеризует нормальную работу щитовидной железы [32, 33]. Отклонения от нормы в область высоких или низких концентраций свидетельствуют о наличии серьезных заболеваний. ТТГ является гликопротеином с молекулярной массой около 30 000 Да. Он синтезируется в гипофизе и участвует в регуляции продукции основных тиреоидных гормонов (Т3 и Т4). Сегодня ТТГ является наиболее чувствительным маркером уровня продукции тиреоидных гормонов и количественное определение его концентрации в сыворотке крови в комплексе с другими клинико-лабораторными показателями определяет лечебно-диагностическую тактику при заболеваниях щитовидной железы [34].

В настоящей работе мы представляем оригинальный технологический метод изготовления сенсорной системы на основе полевых транзисторов с каналом-нанопроводом для количественного определения концентрации тиреотропного гормона в модельной сыворотке крови. Данный метод является полностью КМОП- (комплементарный металл-оксид-полупроводник) совместимым и основан на стандартных процессах, используемых в современной микроэлектронике, таких как фото- и электронная литография, реактивно-ионное травление, напыление тонких пленок.

В качестве распознающих элементов биосенсора были использованы фрагменты высокоаффинных моноклональных антител к ТТГ, иммобилизованные на поверхности канала-нанопровода в процессе химической модификации его поверхности. Они способны селективно связываться с определяемым гормоном (аналитом) как в буферном растворе, так и в реальных образцах биологической жидкости, например сыворотке крови. Взаимодействие антител и аналита изменяет поверхностный потенциал полупроводникового канала-нанопровода, вызывая модуляцию его проводимости, которую регистрируют детектирующей системой.

## 1. МЕТОДИКА ИЗГОТОВЛЕНИЯ ОБРАЗЦОВ

Процесс изготовления основного элемента системы — наноразмерного сенсора на основе полевого транзистора с каналом-нанопроводом — опирается на ранее проведенные исследования [6, 17, 21, 35, 36]. Суть этого процесса заключается в формировании структуры в верхнем монокристаллическом слое

кремния пластины кремния на изоляторе методом реактивно-ионного травления (РИТ) через маску, сформированную с помощью электронно-лучевой литографии. В этой работе мы подробно описываем все основные этапы формирования структуры, которые были существенно оптимизированы с целью повышения надежности и воспроизводимости изготавливаемых биосенсоров.

Для изготовления экспериментальных структур, использовались коммерчески доступные пластины КНИ фирмы Soitec®, созданные по технологии UniBond с толщиной верхнего слоя кремния 110 нм и изолирующего промежуточного слоя термического оксида 200 нм. Толщина поддерживающей кремниевой подложки составляла 750 мкм. Ориентация кремния —  $\langle 100 \rangle$ , легирование —  $p$ -типа/бор, удельное сопротивление 8.5–12 Ом·см. Перед началом работы поверхность пластины полностью очищалась в 32%-м растворе  $\text{NH}_4\text{FHF}$ , который смывали протоком деионизованной воды. После этого пластина выдерживалась более суток в сухой и чистой атмосфере до образования однородного естественного защитного оксида на поверхности кремния [37]. Использовались кусочки пластин КНИ размером  $12 \times 12 \text{ мм}^2$ , на каждом из которых одновременно изготавливались по 4 одинаковых образца (чипа).

### *Формирование центральной части образца и увеличение толщины диэлектрика на всей поверхности образца*

На первом этапе из верхнего слоя кремния в центре чипа вырезалась предварительная макро-размерная структура для последующего формирования в ней наноразмерных каналов сенсора. Эта структура представляла собой квадрат, размером  $\sim 100 \times 100 \text{ мкм}^2$ , из которого в область до  $240 \times 240 \text{ мкм}^2$  выходили дорожки, рисунок которых соответствовал планируемому расположению металлических транспортных контактных линий на чипе (рис. 1, а). Для изготовления этой предварительной структуры использовалась позитивная резистная маска, сформированная из двух слоев электронного резиста на основе полиметилметакрилата ПММА (А4, МСС-Microchem) суммарной толщиной  $\sim 400 \text{ нм}$ . Слои поочередно наносились методом центрифугирования и высушивались на горячей плитке при температуре  $160^\circ\text{C}$ . Засветка рисунка производилась в глубоком ультрафиолетовом излучении ( $\lambda = 200 \text{ нм}$ ) с помощью кварцевого фотошаблона по всей поверхности образца, за исключением центральных областей. Незакрытые маской участки кремниевого слоя удалялись до нижележащего слоя оксида кремния (рис. 2, а) с помощью анизотропного реактивно-ионного травления во фторсодержащей плазме ( $\text{SF}_6$ , 0.2 Па, 50 Вт). Длительность процесса контролировалась методом лазерной рефлектоинтерферометрии.

Затем происходило увеличение толщины диэлектрика на всей поверхности образца, за исключением центральной его части (рис. 1, б, рис. 2, б) для дополнительной изоляции транспортных контактных линий от проводящей кремниевой подложки из-за несовершенства диэлектрического слоя КНИ. Процедура минимизировала паразитные токи утечки

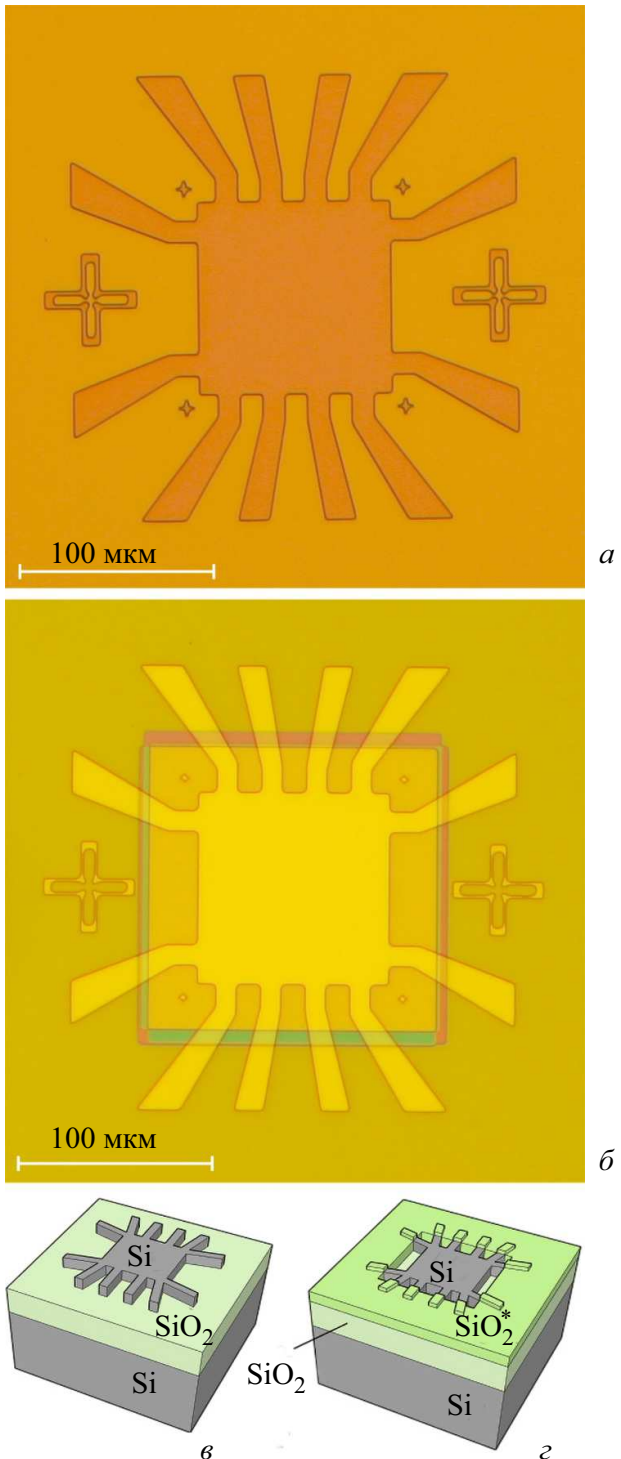


Рис. 1. Изображение в оптическом микроскопе (а) предварительной макроразмерной кремниевой структуры в центральной части образца; (б) дополнительные слои  $\text{SiO}_2^*$  (обозначены символом \*) для изоляции транспортных контактных линий от проводящей кремниевой подложки; (в, з) схематическое изображение структуры на этих этапах

между проводящими линиями и управляющим электродом (затвором) — подложкой. Пластины КНИ с более толстым слоем изолирующего диэлектрика не использовались, поскольку существенно уменьшали емкость между управляющим электродом (подложкой) и каналом транзистора, что, в свою очередь, требовало приложения больших напряжений для управления транзистором. Утолщение производилось

тремя последовательными нанесениями диэлектрических слоев оксида кремния толщиной по 200 нм на всю поверхность образца, за исключением центральных областей размером  $\sim 150 \times 150 \text{ мкм}^2$ , которые перед каждым напылением закрывались стандартной двухслойной резистивной маской на основе ММА—ММА/ПММА толщиной  $\sim 500 \text{ нм}$ . В этом случае сушка слоев происходила при температурах 180 и 160 °С, соответственно. Оксид кремния наносился методом высокочастотного (ВЧ) магнетронного распыления в атмосфере чистого кислорода при давлении  $2 \times 10^{-3}$  мбар со скоростью около 0.2 нм/с.

При использовании такого метода нанесения диэлектрической пленки из-за попадания распыляемого материала на вертикальную часть маски и невозможности его полного удаления вместе с ней на границе дополнительных слоев оксида кремния могут оставаться достаточно высокие вертикальные стенки («заборы»). При дальнейшем формировании металлических транспортных контактных линий на чипе такие артефакты нарушают сплошность металлического слоя, наносимого поверх дополнительной изоляции, и, соответственно, приводят к потере его проводимости. Для преодоления возникающих проблем был разработан метод выравнивания границы дополнительных слоев  $\text{SiO}_2$ : на образце еще раз формировалась резистивная маска на основе двух слоев ПММА, в которой в месте расположения границы дополнительных изолирующих слоев засвечивались окна над сформированными ранее кремниевыми дорожками, выходящими из центральной части образца в область до  $240 \times 240 \text{ мкм}^2$  (рис. 3, а). Через эти окна в 32% растворе  $\text{NH}_4\text{FHF}$  происходило стравливание острых стенок («заборов») (рис. 3, в, рис. 3, б, в). Предварительно сформированная кремниевая дорожка служила «стоп слоем» в этом процессе. Одновременно происходила очистка кремния от естественного оксида, что обеспечивало в конечном счете надежное соединение между металлическими контактами площадками и рабочим слоем кремния. В результате выполненных операций в центральной части образца оставалась открытой область верхнего слоя кремния пластины КНИ размером  $\sim 100 \times 100 \text{ мкм}^2$ , с выходящими из нее кремниевыми дорожками, а вся остальная поверхность образца была покрыта слоем оксида кремния суммарной толщиной  $\sim 0.8 \text{ мкм}^2$ .

#### Формирование кремниевого нанопровода-канала транзистора

Изготовление основного чувствительного элемента полевого транзистора — кремниевого канала-нанопровода — производилось с помощью реактивно-ионного травления (РИТ) через маску, сформированную методами электронно-лучевой литографии. Экспонирование рисунка нанопроводов в центральных областях чипа происходило с помощью электронного литографа (сканирующий электронный микроскоп «Supra-40» Carl Zeiss с литографической приставкой «ELTHY Quantum» Raith). Для формирования структуры нанопроводов, требующей литографии высокого разрешения, использовались токи пучка  $\sim 20 \text{ пА}$  при ускоряющем напряжении  $\sim 20 \text{ кВ}$ . Более грубые рисунки подводящих элементов экспонировались

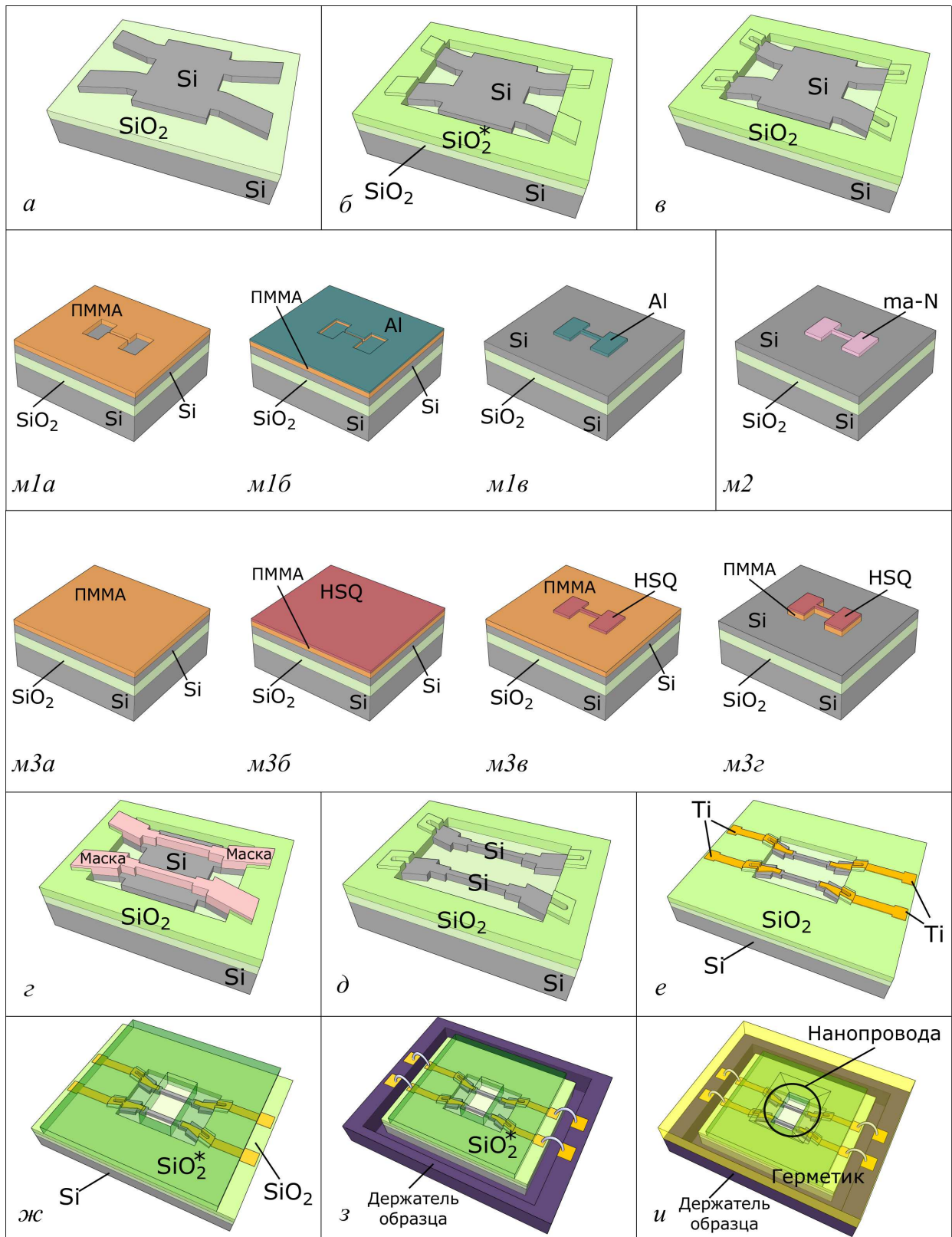


Рис. 2. Схематичное изображение основных этапов изготовления образца: (а) предварительная макроразмерная кремниевая структура в центральной части образца; (б) дополнительные слои  $\text{SiO}_2^*$  (обозначены символом \*) для изоляции транспортных контактных линий от проводящей кремниевой подложки; (в) удаление паразитных вертикальных стенок на границе слоев диэлектрика; (м1–3) различные варианты изготовления маски для травления кремния: (м1) маска из алюминия, сформированная с помощью позитивного резиста; (м2) маска из негативного резиста; (м3) двуслойная маска ПММА/HSQ; (е) маска для травления кремния; (д) формирование кремниевых нанопроводов методом реактивно-ионного травления; (е) формирование металлических контактов; (ж) изоляция подводящих электродов; (з) корпусирование и герметизация чипа для жидкостных измерений

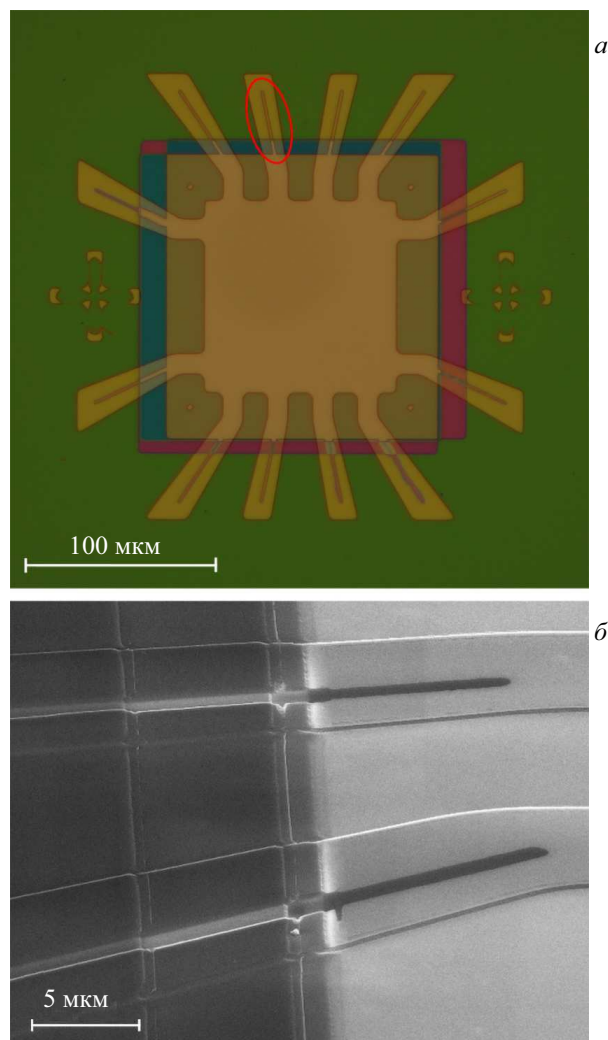


Рис. 3. Изображение в оптическом (а) и электронном (б) микроскопах протравленных окон для формирования ровной ступеньки на границе дополнительных диэлектрических слоев

при токе  $\sim 250$  пА. В качестве маски (рис. 2, з) использовались как пленки из алюминия, так и слои негативного электронного резиста.

В первом случае рисунок маски формировался в слое позитивного электронного резиста ПММА 950 К (МСС А4) толщиной  $\sim 200$  нм. Доза экспозиции составляла  $270\text{--}300$  мкКл/см<sup>2</sup>. После проявления экспонированных участков резиста (рис. 2, м1а), на образец наносился тонкий слой (10 нм) алюминия в высоковакуумной установке напыления L-560 (Leybold) методом электронно-лучевого испарения. Неэкспонированные области ПММА удалялись в ацетоне (lift-off). В результате на поверхности образца оставался рисунок структуры из алюминиевой пленки (рис. 2, м1в, рис. 4), соответствующий открытым (экспонированным) участкам резиста. Во втором случае для формирования маски использовался негативный резист та-N 2403 толщиной 300 нм. Резистный слой с рисунком структуры экспонировался электронным лучом с дозой  $150$  мкКл/см<sup>2</sup>, а затем проявлялся в течении 30 с в специальном проявителе та-D 525, в котором неэкспонированные участки резиста удалялись (рис. 2, м2). В результате на поверхности образца

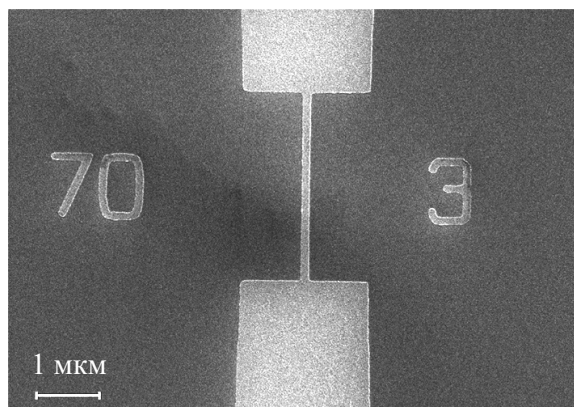


Рис. 4. Изображение в электронном микроскопе маски из алюминия

оставался рисунок структуры из резиста, соответствующий проэкспонированным участкам резистного слоя. Также было опробовано использование электронного негативного резиста высокого разрешения XR-1541-002 на основе водород-силесквиоксана (Hydrogen silsesquioxane — HSQ). Особенность этого резиста заключается в особой стойкости к травлению после экспонирования, поэтому для его удаления с поверхности кремния после процесса РИТ наносился подслоя другого резиста (рис. 2, м3а), в нашем случае это ПММА 950 К (МСС А4). Оптимальные толщины для такой маски равнялись 10 нм HSQ и 400 нм ПММА, доза экспозиции составляла величину  $250$  мкКл/см<sup>2</sup>. Рисунок проявлялся в специальном проявителе MF-CD-26 в течение 60 с (рис. 2, м3в).

Алюминиевая пленка обладает большей стойкостью к воздействию плазмы при переносе рисунка в низлежащий слой кремния по сравнению с резистным слоем, но использование маски из негативного резиста позволяет исключить этап вакуумного напыления, что сокращает количество операций, необходимых для изготовления образцов. Кроме того, использование маски из негативного резиста позволяет избежать возникновения различных дефектов на границе рабочего слоя кремния и изолирующего оксида [38], образующихся за счет тормозного рентгеновского излучения при формировании алюминиевой маски методом электронно-лучевого испарения. Однако меньшая стойкость негативных резистов к воздействию плазмы приводит к необходимости использования более толстых резистных слоев, а в случае использования высоко разрешающего резиста HSQ необходимо проведение дополнительного процесса реактивно-ионного травления в кислородной плазме для переноса проявленного рисунка в дополнительный низлежащий слой ПММА (рис. 2, м3–4). Резюмируя, можно сказать, что традиционное использование алюминиевой маски приводит к более стабильным и воспроизводимым результатам.

Тонкопленочные структуры из алюминия или из негативного резиста использовались в качестве маски в последующем процессе анизотропного реактивно-ионного травления во фторсодержащей плазме (SF<sub>6</sub>, 0.2 Па, 50 Вт, установка RDE-300 Alcatel): незакрытые маской участки кремниевого слоя удалялись до нижележащего слоя SiO<sub>2</sub> (рис. 2, д, рис. 5).

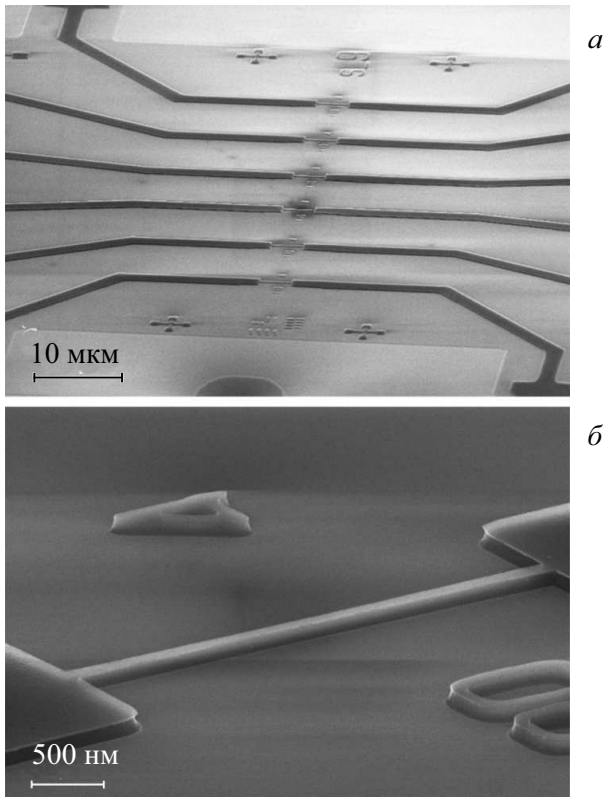


Рис. 5. Изображение в электронном микроскопе протравленной кремниевой структуры: (а) группы нанопроводов с центральной части чипа, (б) отдельного нанопровода длиной 4 мкм и толщиной 90 нм

Длительность процесса контролировалась методом лазерной рефлектоинтерферометрии. Поскольку площадь поверхности образца, с которой травлением удалялся кремниевый слой, была небольшой и точное позиционирование лазерного луча (диаметром  $\sim 1.5$  мм) на открытых участках кремния было затруднительным, для контроля процесса травления использовались специальные образцы-свидетели (reference sample) с большой площадью открытой поверхности верхнего слоя кремния пластины КНИ. В качестве таких образцов оптимальным было использование новых пластин КНИ, являющихся заготовками для следующей серии образцов, на которых одновременно проходил первый процесс формирования предварительной макроразмерной структуры центральной части образца (рис. 2, а). После травления остатки алюминиевой маски удалялись в слабощелочном растворе КОН, который не затрагивал структуры из кремния. В случае использования негативных резистов удаление остатков маски производилось в ацетоне. Фотографии протравленных структур в электронном микроскопе показаны на рис. 5, в центральной части образца изготавливались по 6 транзисторов с длиной нанопровода 3–5 мкм и шириной 70–90 нм.

*Формирование металлических контактных площадок и их изоляция от воздействия жидкостной среды*

Для изготовления контактных площадок к кремниевому слою использовалась как оптическая, так и электронная литография по аналогичному двухслойному позитивному электронному резисту

ММА-ММА/ПММА, как и при формировании диэлектрических слоев на начальных этапах изготовления образца. Резистный слой с рисунком крупных контактных площадок экспонировался УФ излучением ( $\lambda = 200$  нм) через соответствующий кварцевый фотошаблон. В центральной части чипа размером  $\sim 100 \times 100$  мкм<sup>2</sup> для формирования контактных площадок использовалась электронная литография, позволяющая точно ( $\sim 30$  нм) совместиться с уже образованной в кремниевом слое структурой (рис. 2, е). В качестве материала для контактных площадок использовались металлические пленки из титана, нанесенные методом магнетронного напыления (разряд Ar,  $1.2 \times 10^{-2}$  мбар, 400 Вт, установка Z-400 LeyBold). В месте контакта металла со слаболегированным кремнием образовывались барьеры Шоттки, которые не оказывали влияния на основные характеристики транзисторов. Их величина для титана в случае электронной проводимости составляет 0.28 эВ [20]. Фотографии образца на этом этапе изготовления представлены на рис. 6.

Изоляция токопроводящих Ti электродов от контакта с жидкостной рабочей средой осуществлялась в нескольких процессах. Вся поверхность образца, за исключением контактных площадок по краям и центральных областей с кремниевыми структурами транзисторов, покрывалась тремя слоями диэлектрика оксида кремния толщиной по 200 нм методом магнетронного напыления. Для каждого слоя подготавливалась отдельная резистная маска, которая полностью закрывала Ti электроды, причем каждый следующий слой маски имел большую

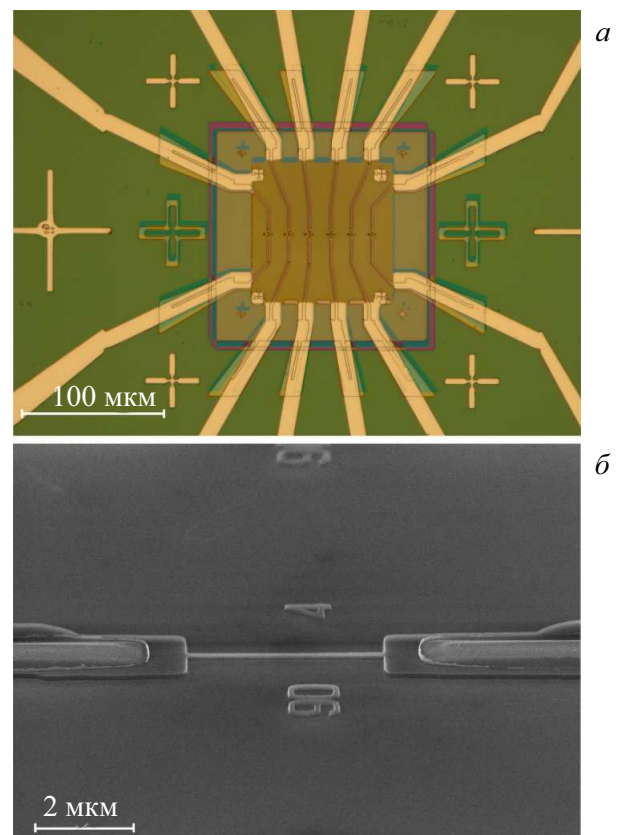


Рис. 6. Изображение в оптическом (а) и электронном (б) микроскопе нанопроводов с металлическими контактами

площадь покрытия. Литография выполнялась аналогично вышеописанному образом: при формировании рисунка структуры поверхность образца с резистным слоем вначале засвечивалась оптическим методом, а в центральной его части экспонирование резиста происходило с помощью электронной литографии (рис. 2, ж, рис. 7). Многослойное покрытие обеспечивало более надежную изоляцию металлических проводящих проводов от жидкостной среды — один слой не всегда получался сплошным из-за отсутствия идеально чистых условий при изготовлении образцов.

Далее готовые образцы помещались в специальный керамический держатель, контакты которого соединялись тонкой алюминиевой проволокой (~ 30 мкм в диаметре) с незакрытыми диэлектриком участками контактных площадок на чипе с помощью ультразвуковой пайки («Wedge Wire Bonder 7476», West Bond, рис. 2, з). Изоляция открытых проводов и контактов от жидкости производилась с помощью силиконового герметика (рис. 2, и). Таким образом, без дополнительной изоляции оставались только каналы-нанопровода и небольшие участки истока и стока транзисторов, поверхность которых покрывал естественный слой оксида кремния толщиной ~ 2 нм. Такая конструкция образцов позволяла проводить измерения отклика наноразмерных сенсоров при воздействии исследуемого анализита практически только на канал транзистора. Вклады контактного

сопротивления Ti—Si электродов истока и стока и сопротивления небольших открытых участков истока и стока в суммарное сопротивление транзисторов были незначительными (менее 1%) ввиду их малости по сравнению с сопротивлением канала-нанопровода.

## 2. МОДИФИКАЦИЯ ПОВЕРХНОСТИ НАНОПРОВОДА

Модификацию рабочей поверхности нанопровода, предварительно обработанного кислородной плазмой, проводили 0.2 М раствором меркаптопропилтриметоксисилана (МПТМС) в сухом толуоле в течение 12 часов при температуре 80°C. Затем нанопровод промывали раствором толуола, метанола и дистиллированной воды для удаления несвязавшегося МПТМС. На рабочую поверхность нанопровода наносили раствор золотых наночастиц диаметром 3–5 нм и выдерживали в течение двух часов. Затем отмывали водой. Плотность и равномерность покрытия золотыми наночастицами контролировали с использованием сканирующего электронного микроскопа [45].

### *Получение наночастиц диаметром 3–5 нм*

Наночастицы золота (НЧЗ) со средним диаметром 5 нм готовили восстановлением золотохлористоводородной кислоты (III) борогидридом натрия в присутствии ЭДТА (Этилендиаминтетрауксусная кислота) [39]: 0.2 мл свежеприготовленной 1%  $\text{HAuCl}_4$  и 0.5 мл 0.2 М карбоната калия добавляли к 45 мл 0.3 М ЭДТА при 40°C при перемешивании. Затем добавляли 0.125 мл 0.5% борогидрида натрия и получали красно-коричневый золь с пиком поглощения 510 нм.

### *Получение фрагментов антител и их иммобилизация*

Раствор моноклональных антител, специфичных к ТТГ, диализовали в течение ночи против 0.01 М Na-фосфатного буфера (0.15 М NaCl, 5 мМ ЭДТА, pH 6.0). После этого добавляли 12 мг меркаптоэтиламина (МЭА) и инкубировали в течение 1.5 ч при температуре 37°C. Разделяли на колонке «Sephadex-G25» в буфере с ЭДТА. Процесс получения фрагментов антител контролировали с использованием методов SDS-электрофореза, который проводили по стандартной методике [40] в 9% геле. При проведении электрофореза был использован буфер для нанесения образца, не содержащий меркаптоэтанол. Полученные фрагменты антител иммобилизовали на поверхности нанопроводов, покрытых золотыми наночастицами, с использованием собственных тиоловых групп, образующихся в процессе расщепления молекулы антитела на два одинаковых фрагмента, содержащих одну тяжелую и одну легкую цепь, за счет разрыва —S—S— связей между ними. Такой метод иммобилизации позволяет избежать дополнительной модификации антител и дает возможность ориентировано иммобилизовать антитела на поверхности золота и сократить расстояние от активных центров антител до поверхности нанопровода. Для этого на поверхность нанопроводов наносили 1 мкл растворов фрагментов антител с концентрацией

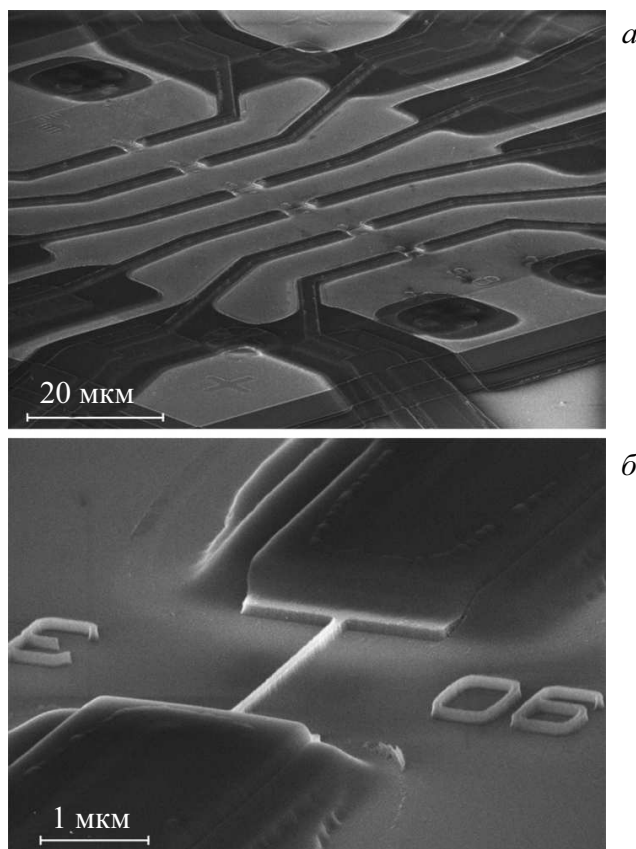


Рис. 7. Изображение в электронном микроскопе центральной части (а) образца, контактные площадки которого полностью покрыты слоем изолирующего диэлектрика и увеличенная фотография отдельного нанопровода (б) длиной 3 мкм и толщиной 90 нм

100 мкг/мл в 0.1 М К-фосфатном буфере (рН = 7.4) с добавлением 0.15 М NaCl и инкубировали в течение 1 ч при  $T = 37^\circ\text{C}$ , затем отмывали три раза по 5 мин в фосфатно-солевом буферном растворе, содержащем 0.1% Tween 20 (ФСБТ) от не вступивших в реакцию антител. После иммобилизации проводили блокирование свободных центров связывания белков на поверхности нанопроводов для уменьшения неспецифических реакций с помощью 1%-го бычьего сывороточного альбумина (БСА) и 1%-го казеина в ФСБ (1 ч,  $37^\circ\text{C}$ ).

### 3. МЕТОДИКА ИЗМЕРЕНИЙ

Структуры биосенсоров — полевых транзисторов с каналом-нанопроводом — формировались в верхнем слое пластины КНИ. Кремниевая подложка пластины использовалась в качестве основного затвора транзисторов с управляющим напряжением от  $-7$  В до  $+7$  В. Близкие друг другу вольт-амперные и затворные характеристики транзисторов, расположенных на одном чипе, позволяли установить с помощью единого управляющего затвора их оптимальные рабочие точки.

Сигналы откликов биосенсоров на воздействие биологической среды измерялись в режиме реального времени после помещения капли раствора нужного состава объемом  $\sim 100$  мкл на центральную часть чипа. Слой герметика, покрывающий по периметру чипа подводящие провода, служил своеобразным ограничителем, препятствующим вытеканию капли за пределы центральной части ( $\sim 2 \times 2$  мм<sup>2</sup>) образца. В каплю раствора погружался AgCl электрод сравнения, который служил дополнительным затвором для транзистора и использовался для подстройки его рабочей точки и определения чувствительности к рН. Смена состава раствора осуществлялась удалением исходной капли и помещением следующей с требуемым составом. Процедура смены состава раствора повторялась трижды для увеличения точности воздействия.

Характерные зависимости транспортного тока  $I$  транзисторов от напряжений на управляющих (основном и дополнительном) электродах показаны на рис. 8, а. Выбранный режим измерения, проводимый при низких транспортных токах транзисторов и малых напряжениях смещения, исключал нагрев нанопроводов [41] и обеспечивал максимальную чувствительность сенсоров, которая реализуется в подпороговой области полевого транзистора [35]. Отклики на внешние воздействия регистрировались одновременно двумя транзисторами-сенсорами. Оба транзистора-сенсора, модифицированные одинаковым образом, демонстрировали синхронность откликов (рис. 8, б) на внешнее воздействие.

Рабочие точки транзисторов устанавливались в областях значений транспортных и затворных напряжений, где отклики сенсоров имели примерно одинаковую величину. Установку рабочих точек транзисторов было удобно производить по синхронному измерению изменений рН. Метод синхронного измерения по двум или более независимым каналам может быть особенно полезен при низких уровнях сигналов от сенсоров. В таких случаях можно применять корреляционный метод для выделения

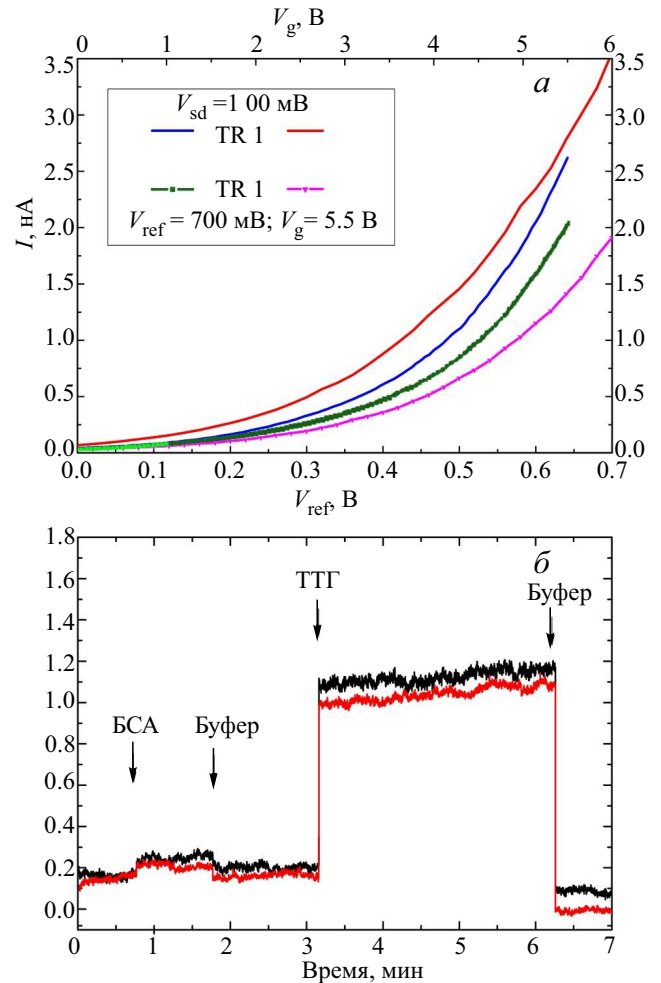


Рис. 8. Зависимость транспортного тока двух транзисторов от напряжения на управляющих электродах: красным и сиреневым цветом показаны зависимости от напряжения на дополнительном затворе ( $V_{ref}$ , электрод сравнения) при фиксированном напряжении на затворе-подложке  $V_g = 5.5$  В, нижняя шкала; синий и зеленый — зависимости от напряжения на затворе-подложке  $V_g$  при фиксированном на напряжении дополнительном затворе  $V_{ref} = 700$  мВ, верхняя шкала;  $V_{sd} = 100$  мВ — напряжение исток-сток (а) и синхронные отклики величины транспортного тока двух транзисторов при добавлении растворов ТТГ (1 мкМЕ/мл) и БСА (1 мг/мл) при фиксированном напряжении на затворе и дополнительном электродах (б)

полезного сигнала, который позволяет «вычистить» из измеряемых сигналов некоррелированные шумы сенсоров.

### 4. РЕЗУЛЬТАТЫ

Лабораторные методы, применяемые в настоящее время, основаны преимущественно на двух типах иммуноанализа: конкурентном, используемом для определения гормонов или пептидов небольшого размера, и сэндвич-методе, используемом для определения более крупных белков (например, ТТГ) с различными детектирующими методами — оптическими, хемилюминесцентными, электрохимическими [42–44]. Все эти методы обладают рядом недостатков: необходимостью подбора пары высокоаффинных антител к неперекрывающимся антигенным детерминантам, необходимости введения дополнительных меток



для детекции образовавшихся комплексов антиген—антитело. Разработанный нами высокочувствительный метод с использованием полевых транзисторов позволяет избежать указанных недостатков.

В данном биосенсоре были использованы фрагменты антител только одного моноклона, которые распознают и селективно связываются с определяемым антигеном. Равновесная константа образования комплекса антиген—антитело (константа аффинности) для данного моноклона составляет  $(3.2 \pm 0.8) \times 10^9 \text{ M}^{-1}$  [45]. Такое аффинное взаимодействие очень сильное и способно изменить электронные свойства белков, являющихся по сути затворами транзистора. В результате при соединении двух биологических молекул — антигена и антитела — меняются соответствующие поверхностные потенциалы, которые регистрируют измерительной системой по увеличению или уменьшению протекающего по транзистору тока. Таким образом, представленные биосенсоры не требуют дополнительного введения метки, так как позволяют зарегистрировать непосредственное образование биокомплекса.

Чувствительность биосенсора зависит от метода иммобилизации биомолекул, их аффинности и селективности, толщины полученного биоспецифического слоя и размера самого нанопровода. С одной стороны, чем меньше сечение нанопровода, тем более чувствительным получается наносенсор. С другой стороны, уменьшение площади поверхности нанопровода ограничивает количество вещества вблизи его поверхности, что ведет к уменьшению динамического диапазона регистрируемых концентраций. Мы используем оригинальный метод иммобилизации, который способствует увеличению эффективной площади поверхности нанопровода за счет предварительной иммобилизации на его поверхности наночастиц золота диаметром 3–5 нм.

При регистрации белков чувствительность сенсоров с золотыми наночастицами в несколько раз превышала чувствительность сенсоров, модифицированных традиционными методами, а при регистрации изменения рН удалось достичь значения  $70 \pm 1 \text{ мВ}$  на единицу изменения рН.

В работе использовалась оригинальная методика иммобилизации антител на поверхности золотых частиц без их дополнительной модификации [17, 18]. Кроме того, применение не целых молекул иммуноглобулинов класса G, а их фрагментов позволяло сократить расстояние до поверхности нанопровода и ориентировано иммобилизовать антитела. Для этого был использован метод расщепления молекул антител на два одинаковых активных фрагмента, содержащих одну тяжелую и одну легкую цепь, за счет разрыва  $-S-S-$  связей между ними с образованием собственных несвязанных тиоловых групп. Полученные фрагменты обладают высокой активностью, что было подтверждено методами иммуноблоттинга.

Для тестирования возможности работы экспериментальных образцов транзисторов на основе кремниевых нанопроводов в жидкостной биологической среде изучали зависимость амплитуды их отклика от величины ионной силы используемого раствора. В растворах электролитов наблюдается экранирова-

ние зарядов заряженных частиц, расположенных вне двойного электрического слоя, формирующегося на границе жидкости и твердого тела. При повышении концентрации электролита наблюдается уменьшение толщины этого слоя, которая определяется длиной Дебая  $\lambda_D = \sqrt{\varepsilon\varepsilon_0 kT / 2Ie_0^2}$  (в случае водного раствора  $\lambda_D \sim 0.32 I^{-1/2}$ ), где  $I$  — ионная сила буферного раствора в М, а  $\lambda_D$  — в нанометрах [17, 46–48]. Экспериментально было определено, что для обеспечения сопоставимости длины Дебая с размером исследуемых молекул, ионная сила раствора должна быть в 100 раз меньше своего физиологического значения в сыворотке крови. Поэтому для дальнейших экспериментальных исследований были приготовлены стандартные растворы исследуемых белков в 0.1 М фосфатном буфере, содержащем 1.5 М NaCl.

Тестирование биосенсоров с использованием растворов ТТГ в буферах с различным значением рН показало инверсию их отклика в диапазоне значений рН 7.7–8.0. Из литературных данных известно, что это значение соответствует рI тиреотропного гормона [49, 50], и инверсию сигнала можно объяснить прохождением через изоэлектрическую точку.

Калибровочную кривую (рис. 9) для измерений стандартных образцов получали при разведении ТТГ известной концентрации в растворе нулевой сыворотки (сыворотки теленка, которая не содержит собственного тиреотропного гормона — «нулевая сыворотка теленка») и разбавляли в 100 раз 0.1 М фосфатным буферным раствором, содержащим 1.5 М NaCl.

Предел обнаружения биосенсора, определенный как три статистически значимых отклонения отклика от сигнала шума, составил 0.0001 мкМЕ/мл, что на три порядка ниже, чем у применяемых в настоящее время методов стандартного твердофазного иммуноферментного анализа. Разработанная измерительная система обладает достаточной чувствительностью для исследования биологических образцов жидкости, например, сыворотки крови при разведении в 100 раз, что способствует снижению матричного

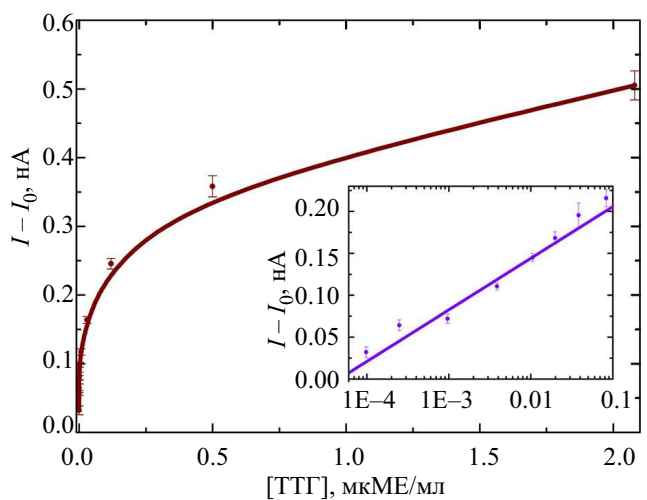


Рис. 9. Калибровочная зависимость отклика нанопровода от концентрации тиреотропного гормона в биологической среде (сыворотке крови)

Таблица. Сравнительные характеристики чувствительности различных методов определения ТТГ

Сенсор	Чувствительность, мкUI/мл	Ссылка
Microfluidic immunosensor	0.00087	[51]
Chemiluminescent biosensor	0.004	[42]
Electrochemical immunoassay	0.005	[43]
Electrochemical immunoassay	2.4	[44]
Electrochemiluminescence immunosensor	0.02	[52]
Immuno-polymerase chain reaction assay (IPCRA)	0.1	[53]
Chemiluminescence immunosensors	0.011	[54]
Полевые транзисторы с каналом-нанопроводом	0.0001	в этой работе

эффекта компонентов биологического образца. В таблице обобщаются и сравниваются аналитические характеристики различных сенсоров для определения тиреотропного гормона.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в работе разработан оригинальный сенсор для определения ТТГ — онкомаркера щитовидной железы на основе биосенсора — транзистора с каналом-нанопроводом, характеризующийся высокой чувствительностью, низким пределом обнаружения, превосходящим существующие аналоги. Достигнутые аналитические характеристики сенсорной системы позволят проводить определение гормона в сыворотке крови человека при ее разбавлении в 100 раз. Разработанный метод не требует для проведения анализа использования образцов с большим объемом. Предложенный биосенсор обладает большим потенциалом для широкого использования в клинических лабораториях, поскольку он легко масштабируется, имеет низкую стоимость, высокую чувствительность, короткое время анализа и не требует дополнительного введения метки.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 16-12-00072). Исследование выполнено при поддержке Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета «Фотонные и квантовые технологии. Цифровая медицина». И.И. Циняйкин выражает отдельную благодарность фонду развития теоретической физики и математики «БАЗИС». В работе использовалось оборудование Учебно-методического центра литографии и микроскопии МГУ им. М.В. Ломоносова.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Salji J., Savelyev I.G., Blumin M. et al. // *Nature Nanotech.* 2010. **5**. P. 737.
2. Clement N., Nishiguchi K., Dufreche J.F. et al. // *Appl. Phys. Lett.* 2011. **98**, N 1. 014104.
3. Choi J., Seong T.W., Jeun M., Lee K.H. // *Advanced Healthcare Materials.* 2017. **6**, N 20. 1700796.
4. Shin K., Kang D.S., Lee S.H., Moon W. // *Ultramicroscopy.* 2015. **159**, Part 1. P. 1.
5. Qing Q., Jiang Z., Xu L. et al. // *Nature Nanotechnology.* 2014. **9**, N 2. P. 142.
6. Trifonov A. S., Presnov D. E., Bozhev I. V. et al. // *Ultramicroscopy.* 2017. **179**, P. 33.
7. Zhang D., Liu Z., Li C. et al. // *Nano Letters.* 2004. **4**, N 10. P. 1919.
8. Fan Z., Lu J.G. // *Applied Physics Letters.* 2005. **86**, N 12. 123510.
9. Hahn J., Lieber C.M. // *Nano Letters.* 2004. **4**, N 1. P. 51.
10. Ishikawa F.N., Chang H.-K., Curreli M. et al. // *ACS Nano.* 2009. **3**, N 5. P. 1219.
11. Patolsky F., Zheng G., Hayden O. et al. // *PNAS.* 2004. **101**, N 39. P. 14017.
12. Nekrasov N., Kireev D., Emelianov A., Bobrinetskiy I. // *Toxins.* 2019. **11**, N 10. P. 550.
13. Xie H., Li Y.-T., Lei Y.-M. et al. // *ACS Analytical Chemistry.* 2016. **88**, N 22. P. 11115.
14. Wei S., Ge C., Zhou L. et al. // *ACS Applied Electronic Materials & Interfaces.* 2019. **1**, N 11. P. 2380.
15. Randle M., Lipatov A., Kumar A. et al. // *ACS Nano.* 2018. **13**, N 1. P. 803.
16. Chen X., Hao S., Zong B. et al. // *Biosensors and Bioelectronics.* 2019. **145**. 111711.
17. Presnova G., Presnov D., Krupenin V. et al. // *Biosensors and Bioelectronics.* 2017. **88**. P. 283.
18. Rubtsova M., Presnova G., Presnov D. et al. // *Procedia Technology.* 2017. **27**. P. 234.
19. Попов В.П., Ильницкий М.А., Жанаев Э.Д. и др. // *Физика и техника полупроводников.* 2016. **50**, № 5. С. 643. Popov V.P., Ilitskii M.A., Zhanaev E.D. et al. // *Semiconductors.* 2016. **50**, N 5. P. 632.
20. Koo S.M., Edelstein M.D., Li Q. et al. // *Nanotechnology.* 2005. **16**, N 9. P. 1482.
21. Presnov D.E., Amitonov S.V., Krutitskii P.A. et al. // *Beilstein J. Nanotechnol.* 2013. **4**. P. 330.
22. Syedmoradi L., Ahmadi A., Norton M.L., Omidfar K. // *Microchimica Acta.* 2019. **186**, N 11. P. 739.
23. Crescentini M., Rossi M., Ashburn P. et al. // *Biosensors.* 2016. **6**, N 2. P. 15.
24. Zhou L., Wang K., Sun H. et al. // *Nano-Micro Letters.* 2019. **11**, N 1. P. 20.
25. Nehra A., Krishna P.S. // *Biosensors and Bioelectronics.* 2015. **74**. P. 731.
26. Huang X., O'Connor R., Kwizera E.A. // *Nanotheranostics.* 2017. **1**, N 1. P. 80.
27. Park G.-S., Kwon H., Kwak D. W. et al. // *Nano Letters.* 2012. **12**, N 3. P. 1638.
28. Convertino A., Mussi V., Maiolo L. // *Scientific Reports.* 2016. **6**, N 1. P. 25099.
29. Li X., Chen B., He M. et al. // *Biosensors and Bioelectronics.* 2017. **90**, N 1. P. 343.
30. Попов В.П., Тронин А.В., Глухов А.В., Иванов Ю.Д. // *Инновации.* 2014. **185**, № 3. С. 94.
31. LaFranchi S. // *Sci. Rep.* 1994. **4**, N 6. P. 477.
32. Azmat U., Porter K., Senter L. et al. // *Thyroid.* 2017. **27**, N 1. P. 74.
33. Jain B., Kumarasamy J., Gholve C. et al. // *Indian Journal of Clinical Biochemistry.* 2017. **32**, N 2. P. 193.

34. Zhao T., Liang J., Li T. et al. // *Chinese Journal of Cancer Research*. 2017. **29**, N 3. P. 213.
35. Presnov D. E., Bozhev I. V., Miakonkikh A. V. et al. // *J. of Appl. Phys.* 2018. **123**, N 5. 054503.
36. Presnova G. V., Tcinyaykin I. I., Bozhev I. V. et al. // *Proc. of SPIE*. 2019. **11022**. 110220Z.
37. Schuegraf K. F., Chenming H. // *Semiconductor Science and Technology*. 1994. **9**, N 5. P. 989.
38. O'Sullivan B. J., Bearda T., Nadupalli S. et al. // *IEEE J. of Photovoltaics*. 2014. **4**, N 5. P. 1197.
39. Богатырев В. А., Дыкман Л. А., Щеголев С. Ю. // Патент Российской Федерации. 1994. **RU2013374C1**. МПК C01G7/00 B01J13/00. (Bogatyrev V. A., Dykman L. A., Shchegolev S. Yu. // Russian patent. 1994. **RU2013374C1**. C01G7/00 B01J13/00.)
40. Laemmli U. K. // *Nature*. 1970. **227**, N 5259. P. 680.
41. Park I., Li Z., Pisano A. P., Williams R. S. // *Nano Letters*. 2007. **7**, N 10. P. 3106.
42. Choi G., Kim E., Park E., Lee J. H. // *Talanta*. 2017. **162**. P. 38.
43. Cui Y., Chen H., Hou L. et al. // *Talanta*. 2012. **738**. P. 76.
44. Shamsi M. H., Choi K., Ng A. H., Wheeler A. R. // *Lab Chip*. 2014. **14**, N 3. P. 547.
45. Преснова Г. В., Преснов Д. Е., Крупенин В. А. и др. // *Вестн. Моск. ун-та. Серия 2: Химия*. 2018. **59**, № 4. С. 282. (Presnova G. V., Presnov D. E., Krupenin V. A. et al. // *Moscow Univ. Chem. Bull.* 2018. **73**, N 4. P. 173.)
46. Maehashi K., Katsura T., Kerman K. et al. // *Analyt. Chem.* 2007. **79**, N 2. P. 782.
47. Stern E., Wagner R., Ng A. H. et al. // *Nano Lett.* 2007. **7**, N 11. P. 3405.
48. Kim K., Park C., Kwon D. et al. // *Biosensors and Bioelectronics*. 2016. **77**. P. 695.
49. Keel B. A., Harms R. L., Amir S. M. // *Endocrine Research*. 1990. **16**, N 2. P. 151.
50. Medri G., Sergi I., Papandréou M.-J. et al. // *Journal of Molecular Endocrinology*. 1994. **13**, N 2. P. 187.
51. Seia M. A., Pereira S. V., Fernández-Baldo M. A. et al. // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2014. **406**, N 19. P. 4677.
52. Liu Y., Zhang Q., Wang H. et al. // *Biosensors and Bioelectronics*. 2015. **71**. P. 164.
53. Abud J. E., Santamaría C. G., Luque E. H., Rodríguez H. A. // *Analytical Biochemistry*. 2017. **539**. P. 134.
54. Shim C., Chong R., Lee J. H. // *Talanta*. 2017. **171**. P. 229.

### A Sensor System Based on a Field-Effect Transistor with a Nanowire Channel for the Quantitative Determination of Thyroid-Stimulating Hormone

I. I. Tsiniainkin<sup>1,2,a</sup>, G. V. Presnova<sup>3</sup>, I. V. Bozhev<sup>1,2</sup>, A. A. Skorik<sup>1</sup>, M. Yu. Rubtsova<sup>3</sup>, A. A. Kamalov<sup>4</sup>, S. T. Matskeplishvili<sup>4</sup>, O. V. Snigirev<sup>1,2</sup>, V. A. Krupenin<sup>1,2</sup>, D. E. Presnov<sup>1,2,5,b</sup>.

Lomonosov Moscow State University. Moscow 119991, Russia.

<sup>1</sup>Cryoelectronics laboratory, Faculty of Physics; <sup>2</sup>Quantum Technology Centre;

<sup>3</sup>Enzymology Division, Chemistry Department. Moscow 119991, Russia.

<sup>4</sup>Medical Research and Education Center. Moscow 119192, Russia;

<sup>5</sup>Skobel'syn Institute of Nuclear Physics. Moscow 119991, Russia.

E-mail: <sup>a</sup>ii.tcinyaykin@physics.msu.ru, <sup>b</sup>denis.presnov@physics.msu.ru.

Here we present an original CMOS compatible technique for fabrication a sensor system based on field-effect transistors with a nanowire channel and its application for the quantitative determination of thyroid-stimulating hormone (TSH) in model blood serum. The fabrication process is based on the reactive-ion etching of the upper layer of silicon on insulator through a mask formed by electron beam lithography. The detection is based on measuring the change in the conductivity of the transistor during the selective interaction of the analyte with specific biomolecules on its surface. There were fabricated field-effect transistors with a nanowire channel of 70–90 nm wide and 3–5 μm in long and a contact leads completely insulated from the analyte fluid. As the model antigen protein TSH of the pituitary gland, and as the recognition biomolecules — the specific to TSH fragments of antibodies were used, which were oriented immobilized on the nanowires surface. We carefully studied the conditions for biospecific interaction of antibodies with TSH. The detection limit of TSH was found to be  $1 \times 10^{-4} \mu\text{IU/mL}$ , which is significantly lower in comparison with currently used methods of standard enzyme-linked immunosorbent assay.

**Keywords:** biosensor, nanowire, field-effect transistor, microchip, silicon on insulator, electron beam lithography, sandwich immunoassay, gold nanoparticles, thyroid-stimulating hormone.

PACS: 87.85.fk, 62.23.Hj, 81.07.Gf, 85.30.Tv, 81.16.Nd, 82.47.Rs, 87.14.Lk.

Received 18 June 2020.

English version: *Moscow University Physics Bulletin*. 2020. **75**, No. 6. Pp. 645–656.

#### Сведения об авторах

1. Циняйкин Илья Иванович — аспирант; тел.: (495) 939-39-88, e-mail: ii.tcinyaykin@physics.msu.ru.
2. Преснова Галина Васильевна — канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник; тел.: (495) 939-29-68, e-mail: gpresnova@gmail.com.
3. Божьев Иван Вячеславович — мл. науч. сотрудник; тел.: (495) 939-33-43, e-mail: bozhjev.ivan@physics.msu.ru.
4. Скорик Алина Андреевна — студентка; тел.: (495) 939-39-88, e-mail: skorik.aa17@physics.msu.ru.
5. Рубцова Майя Юрьевна — канд. хим. наук, вед. науч. сотрудник; тел.: (495) 939-29-68, e-mail: mruubtsova@gmail.com.
6. Камалов Армаис Альбертович — доктор мед. наук, академик РАН, член-корреспондент РАМН, профессор, директор МНОЦ; тел.: (495) 531-27-73, e-mail: armais.kamalov@rambler.ru.
7. Мацкеплишвили Симон Теймуразович — доктор мед. наук, профессор РАН, профессор, зам. директора МНОЦ; тел.: (495) 531-27-73, e-mail: simonmats@yahoo.com.
8. Снигирев Олег Васильевич — доктор физ.-мат. наук, профессор, зав. кафедрой; тел.: (495) 939-59-34, e-mail: oleg.snigirev@phys.msu.ru.
9. Крупенин Владимир Александрович — доктор физ.-мат. наук, вед. науч. сотрудник; тел.: (495) 939-30-14, e-mail: krupenin@physics.msu.ru.
10. Преснов Денис Евгеньевич — канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотрудник; тел.: (495) 939-30-14, e-mail: denis.presnov@physics.msu.ru.