

Система терморегуляции для биосенсоров на основе полевых транзисторов с каналом-нанопроводом

Г.В. Нибудин,^{1,*} И.И. Циняйкин,¹ Г.В. Преснова,² М.Ю. Рубцова,² А.А. Попов,¹
П.О. Михайлов,¹ А.С. Трифионов,¹ О.В. Снигирев,¹ В.А. Крупенин,¹ Д.Е. Преснов^{1,3,†}

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
физический факультет, лаборатория «Криоэлектроника»
Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 2

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
химический факультет, кафедра химической энзимологии
Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3

³Научно-исследовательский институт ядерной физики имени Д.В. Скобелъца, МГУ имени М.В. Ломоносова
Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 2

(Поступила в редакцию 19.11.2023; после доработки 24.11.2023; подписана в печать 27.11.2023)

В работе продемонстрирована система терморегуляции с обратной связью для биосенсоров на основе полевых транзисторов с каналом-нанопроводом, обеспечивающая контроль и поддержание необходимого температурного режима в биоаналитических исследованиях. Элементы системы, включающие полевые транзисторы с каналом-нанопроводом, температурные сенсоры и нагреватели изготавливались на одном чипе с использованием процессов электронно-лучевой литографии, реактивно-ионного травления и высоковакуумного напыления. Разработана и изготовлена специализированная электроника для контроля и поддержания температуры. Проведены измерения зависимости показаний термометров от мощности нагрева, хорошо согласующиеся с результатами численного моделирования. Проведена демонстрация системы терморегуляции с обратной связью, обеспечивающая установление заданной температуры в диапазоне от 30 до 70°C за 18 с в жидкостной среде. Демонстрация системы с терморегулятором для детектирования нуклеиновых кислот была проведена с использованием синтетической однопочечной ДНК, представляющей собой фрагмент гена бактерии *Escherichia coli*. Минимально детектируемый отклик наблюдался для образца с концентрацией 3 фМ.

PACS: 87.85.fk, 62.23.Nj, 81.07.Gf, 85.30.Tv. УДК: 538.9, 538.91, 621.382.323, 655.226.

Ключевые слова: биосенсор, нанопровод, полевой транзистор, микрочип, кремний на изоляторе, электронно-лучевая литография, терморезистивный датчик, температурный режим, ДНК.

DOI: [10.55959/MSU0579-9392.79.2410701](https://doi.org/10.55959/MSU0579-9392.79.2410701)

ВВЕДЕНИЕ

Методы диагностики в медицинских лабораторных исследованиях — постоянно совершенствующаяся область. Одной из перспективных электронных структур для создания высокочувствительных наноразмерных биосенсоров являются полевой транзистор с каналом-нанопроводом (ПТ НП) [1]. Размеры элементов таких структур приближаются к размерам большинства биологических объектов, таких как белки и различные нуклеиновые кислоты. Метод регистрации биологических объектов с помощью полевых транзисторов основан на регистрации изменения проводимости кремниевого канала-нанопровода в результате изменения суммарного электрического заряда при взаимодействии детектируемых объектов с распознающими молекулами на его поверхности. Уникальная чувствительность сенсора обусловлена высоким соотношением площади

поверхности нанопровода к его объему и может достигать уровня от микромолей [2] до долей аттомоля [3], а в отдельных случаях позволяет даже добиться детектирования одиночных молекул [4] или вирусов [5].

С момента первых экспериментов с кремниевыми нанопроводами [6] достигнут значительный прогресс в разработке устройств на полевых транзисторах для биомедицинской диагностики и клеточного анализа [7]. Такие сенсорные системы нашли свое применение в химии для детектирования неорганических молекул в газах [8], мониторинге загрязнения воздуха [9], в биологии для детектирования молекул ДНК [4, 10, 11], белков [5, 12] и вирусов [5]. В частности, их использовали для обнаружения вирусов COVID-19, гриппа, вируса гепатита В, различных бактериальных инфекций, а также биомаркеров таких заболеваний, как болезнь Альцгеймера, рак, острый инфаркт миокарда, патологии щитовидной железы [13–17]. Кроме того, они использовались для разработки сенсоров для секвенирования или определения нуклеиновых кислот, основанных на гибридизации ДНК [16, 18, 19], и для определения посттрансляционных модификаций [19].

* E-mail: nibudin.gv21@physics.msu.ru

† E-mail: denis.presnov@physics.msu.ru

Применение биосенсоров в медицине требует высокой надежности и воспроизводимости результатов измерений, а также высокой степени автоматизации. Крайне актуальны задачи как разработки недорогого и простого в использовании лабораторного оборудования, так и сокращения объема требуемого аналитического материала. Поэтому большое количество исследований направлено на решение технологических проблем и поиск материалов для создания таких устройств [20–23]. Наиболее удобным материалом для изготовления транзистора с каналом-нанопроводом является кремний на изоляторе (КНИ), основным преимуществом которого является надежность и воспроизводимость процесса изготовления структур, а также совместимость с традиционной полупроводниковой технологией. КНИ часто используется для изготовления структур на основе нанопроводов, применяемых в качестве биосенсоров [12, 24–26], локальных датчиков электрического поля [27, 28] и наномеханических сенсоров [29].

Пандемия COVID-19 выявила огромную потребность во всем мире в быстрых, специфических, надежных и чувствительных устройствах «Point of Care» (PoC, диагностика на месте нахождения пациента) для ДНК-диагностики, позволяющих определять возбудителей инфекций или диагностировать различные стадии заболевания. Такие устройства могут быть созданы на основе полевых транзисторов с каналом-нанопроводом, для чего необходимо решить проблемы их многократного использования, возможности регистрации взаимодействия биомолекул в средах с заданной температурой, высокой ионной силой и обеспечение долговременной стабильности [30]. Решению первых двух из них посвящена настоящая работа.

Введение системы терморегуляции в структуру биосенсора играет важную роль. Для многих химико-биологических процессов необходимо поддерживать определенный температурный режим [31–36]. В случае ДНК-анализа реакция связывания ДНК-мишени с ДНК-зондом происходит наиболее эффективно и селективно при определенной температуре (40–60°C), что позволяет увеличить специфичность и избежать ложноположительных результатов, а также сократить время анализа [31, 37, 38]. Повышение рабочей температуры сенсора до 85–90°C приводит к разрушению связи и отрыву ДНК-мишени от зонда без его отрыва от нанопровода, что позволяет использовать сенсор многократно.

В настоящей работе продемонстрирован прототип ДНК-биосенсора на основе кремниевого полевого транзистора с каналом-нанопроводом с системой контроля и поддержания температуры в диапазоне от 20 до 100°C.

1. МЕТОДИКА ИЗГОТОВЛЕНИЯ

Процесс изготовления структур полевых транзисторов с каналом-нанопроводом, являющимся чув-

ствительным элементом сенсора, подробно описан в работе [14] и разработан на основе ранее проведенных исследований [1, 11, 13].

Основой для изготовления структур полевых транзисторов являются пластины кремния на изоляторе (КНИ), созданные по технологии Uni Bond® и имеющие следующие параметры: толщина верхнего слоя кремния — 110 нм; толщина изолирующего промежуточного слоя термического оксида SiO₂ — 200 нм; толщина поддерживающей кремниевой подложки — 750 мкм. Параметры верхнего кремниевого слоя и поддерживающей пластины: ориентация <100>, легирование — *p*-типа/бор, удельное сопротивление 8.5–11.5 Ω·см.

Структуры транзисторов формируются в верхнем слое кристаллического кремния методом анизотропного реактивно-ионного травления (РИТ) кремния во фторсодержащей плазме (SF₆, 2 × 10⁻³ мбар, 50 Вт, установка «RDE-300» Alcatel) через маску толщиной 10 нм (рис. 1, б). Предварительно на пластину методом центрифугирования наносился тонкий слой электронного резиста ПММА (рис. 1, а). Рисунок маски формировался с помощью *электронно-лучевой литографии* (300 мкКл/см², 20 кВ, «Supra-40» Zeiss с «Elphy Quantum» Raith) с последующим вакуумным распылением алюминия (4 × 10⁻⁷ мбар, 0.3 нм/с, «L-560» Leybold) методом электронно-лучевого испарения (рис. 1, б). После этапа РИТ (рис. 1, в) алюминиевая маска была удалена с помощью слабощелочного раствора КОН (рис. 1, г).

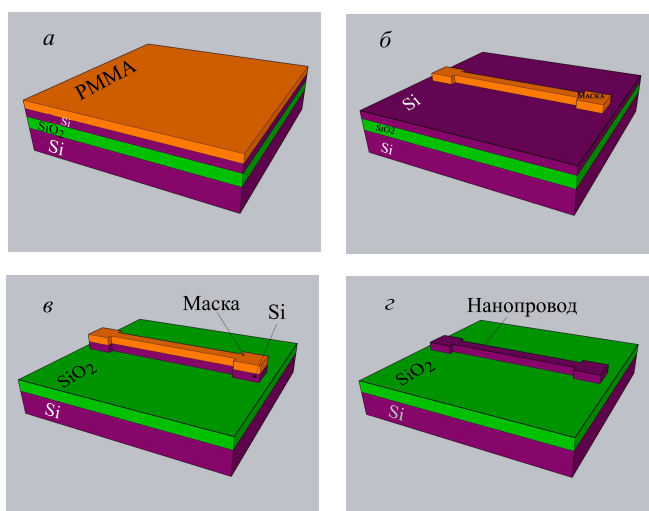


Рис. 1. Схема основных этапов изготовления канала-нанопровода полевого транзистора: а — однослойный электронный резист ПММА на пластине КНИ, б — формирование алюминиевой маски, в — РИТ, г — удаление маски

Этап наращивания дополнительной толщины диэлектрика на всей поверхности образца, за исключением центральной его части (~150 мкм²), позволил минимизировать вероятность образования каналов проводимости металлических контактов к кремниевой подложке, выполняющей роль затво-

ра транзистора. Утолщение производилось тремя последовательными напылениями слоев SiO_2 методом высокочастотного магнетронного распыления (O_2 , 5×10^{-3} мбар, 200 Вт, 0.2 нм/с, «Z-400» LeyBold). Толщина каждого слоя составляла 200 нм (рис. 2, а).

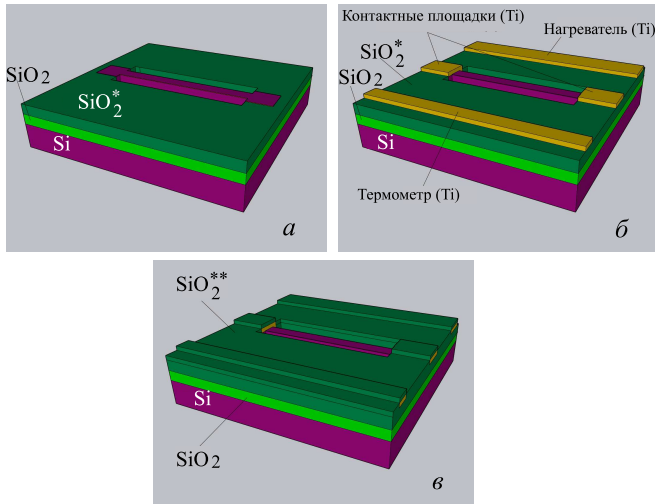


Рис. 2. Схема основных этапов изготовления структур полевых транзисторов с каналом-нанопроводом, терморезистивным датчиком и нагревателями: а — дополнительные слои SiO_2 , б — формирование металлических контактных площадок; в — напыление верхних изолирующих слоев диэлектрика

Контактные площадки к нанопроводам формировались методом магнетронного распыления титана (Ar , 1.2×10^{-2} мбар, 200 Вт, «Z-400» LeyBold) на рисунок, сформированный электронной и оптической литографией (рис. 2, б). Толщина титанового слоя составляла 80 нм. Одновременно с этим в одном цикле рядом с нанопроводами была изготовлена полоска титана шириной 2 мкм и полоски титана шириной 100 мкм, расположенные по бокам чипа. Каждая полоска титана выполняет роль термометра — терморезистивного датчика контроля температуры и нагревателей (рис. 3).

Задача изоляции токопроводящих частей чипа от контакта с жидкостной рабочей средой решалась нанесением четырех слоев диэлектрика SiO_2 методом высокочастотного магнетронного распыления (O_2 , 5×10^{-3} мбар, 200 Вт, 0.2 нм/с, «Z-400» LeyBold) (рис. 2, в).

Для измерений образцы помещались в специальный керамический держатель, контакты которого соединялись с помощью ультразвуковой пайки тонкой алюминиевой проволокой (~30 мкм, установка 7476, West Bond) с контактными площадками на чипе. Изоляция открытых проводов и контактов от жидкости производилась с помощью силиконового герметика.

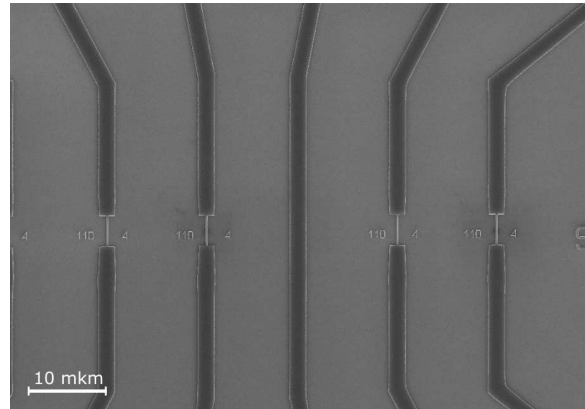


Рис. 3. Фотография в электронном микроскопе центральной части чипа с терморезистивным датчиком (термометром)

2. КАЛИБРОВКА ТЕРМОРЕГУЛИРУЮЩИХ ЭЛЕМЕНТОВ СИСТЕМЫ

Для калибровки терморегулирующих элементов системы был изготовлен тестовый образец, содержащий два нагревателя, расположенных по краям микрочипа, и несколько термометров в его центральной части. Для определения оптимальной конфигурации термометров и нагревателей изготавливались Ti–Au полоски различной ширины (рис. 4).

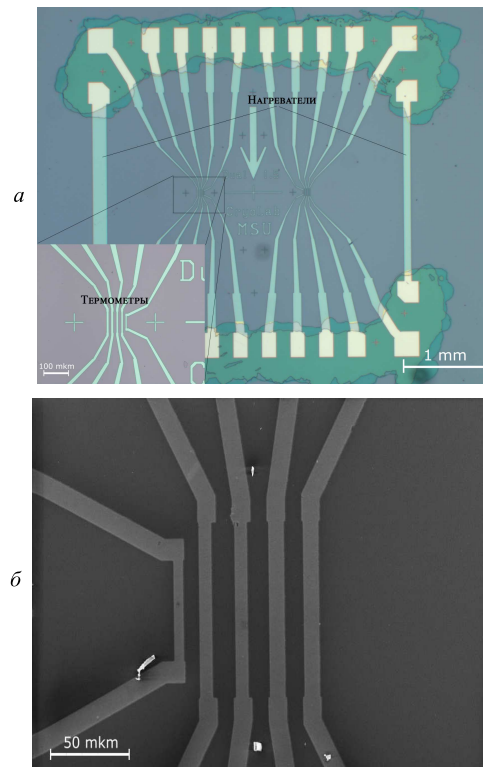


Рис. 4. Изображения в оптическом (а) и электронном (б) микроскопе тестового образца с нагревателями и термометрами в центральной части

Термометры, использующие терморезистивный эффект, выполнены в виде Ti–Au полосок толщиной 120 нм (Ti — 90 нм, Au — 30 нм) и шириной 10 мкм. Через полоски термометров пропускался фиксированный ток и измерялось падение напряжения на них, которое свидетельствовало о текущей температуре. Измеренное напряжение использовалось системой обратной связи для установки и поддержания необходимой температуры рабочей среды. Для соответствия напряжения на термометре определенной температуре проводилась предварительная калибровка.

Калибровка производилась на термоплитке, обеспечивающей точное задание температуры. Температура образца измерялась внешней термопарой, расположенной в непосредственной близости от него. Вся конструкция дополнительно закрывалась теплоизоляционным куполом для наиболее точной и быстрой стабилизации температуры термопары и образца. По измеренному напряжению и величине транспортного тока вычислялось сопротивление термометров.

Помещенный на термоплитку образец постепенно, с шагом 10°C, нагревался от 25°C до 85°C. В каждой точке образец выдерживался в течение 20 мин до установки постоянной температуры. По полученным калибровочным точкам строились графики зависимости сопротивления от температуры (рис. 5) для двух термометров, находящихся на расстоянии 1.5 мм друг от друга. Ток в системе поддерживался на уровне 1.1 мА, значения сопротивлений термометров при комнатной температуре 25°C были равны 245 Ω и 250 Ω. Чувствительность термометров равнялась величинам 0.42 и 0.44 Ω/град соответственно (рис. 5).

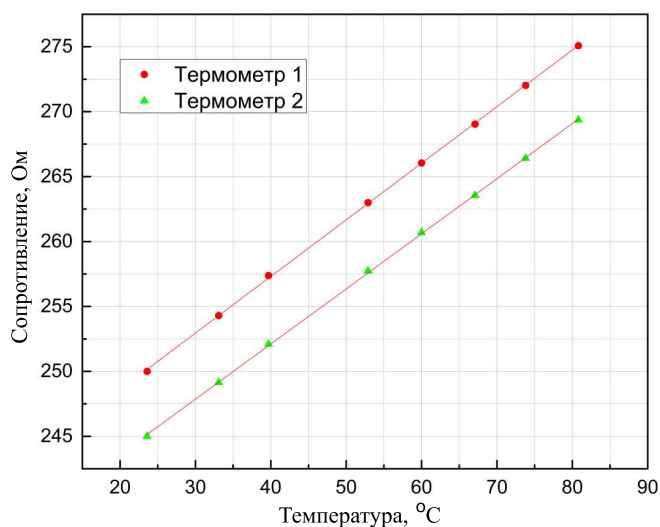


Рис. 5. Калибровочные кривые для двух термометров, расположенных на чипе на расстоянии 1.5 мм друг от друга

Далее было проведено исследование распределения температуры по поверхности образца. Для нагрева использовалась одна из широких полосок,

расположенная с краю микрочипа (рис. 4, а). В течение 10 мин проводилось наблюдение за разницей в показаниях термометров при нагревании образца фиксированным током до температуры 63°C. При температурах, близких к комнатной, показания термометров практически не различались, но при повышении до 60–70°C разница составила величину ~2°C. Термометр, который находился ближе к нагревателю, регистрировал повышенную температуру по сравнению с удаленным термометром.

3. МОДЕЛИРОВАНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ ПО ПОВЕРХНОСТИ ОБРАЗЦА

Было проведено моделирование распределения температуры по поверхности образца решением уравнения теплопроводности (дифференциального уравнения в частных производных) методом конечных элементов с использованием программного обеспечения Comsol Multiphysics:

$$\rho c \frac{\partial T}{\partial t} - \nabla (K \cdot \nabla T) = \rho q,$$

где ρ — плотность вещества, c — удельная теплоемкость, T — температура, t — время, K — коэффициент удельной теплопроводности, q — мощность источника тепла на единицу массы. Для расчетов использовались параметры реального тестового образца: размер пластины (чипа) — 6 × 6 мм², толщина кремниевой пластины — 700 мкм, коэффициент теплопроводности кремния — 131 Вт/(м·К), толщина изолирующего слоя SiO₂ на поверхности пластины — 550 нм, коэффициент теплопроводности SiO₂ — 1,4 Вт/(м·К). Один нагреватель (широкая полоска) с краю образца и два термометра в центральной части с контактными площадками из слоя титана — 90 нм и золота — 30 нм, их коэффициенты теплопроводности — 21.9 Вт/(м·К) и 317 Вт/(м·К) соответственно. Расстояние между термометрами составляет 1.5 мм. Для построения сетки разбиений использовались тетраэдры с размерами от 16 нм до 108 мкм.

В динамической задаче в начальный момент времени образец находился при комнатной температуре 20°C, а на нагреватель подавалось напряжение 8 В. Увеличение температуры нагревателя приводило к увеличению температуры всего образца. На рис. 6 показано установившееся температурное распределение образца.

На рис. 7, а представлен график распределения температуры от координаты на оси, проходящей через нагреватель и термометры. Из графика видно, что температура вдоль образца падает экспоненциально.

На следующем графике (рис. 7, б) показано, как в зависимости от времени менялась температура термометров. Из графика видно, что в определенный момент ($t = 10$ с) температура установилась на отметке 66°C и 64°C для первого и второго термометра соответственно. Это связано с равенством выделяемой нагревателем мощности и мощности рас-

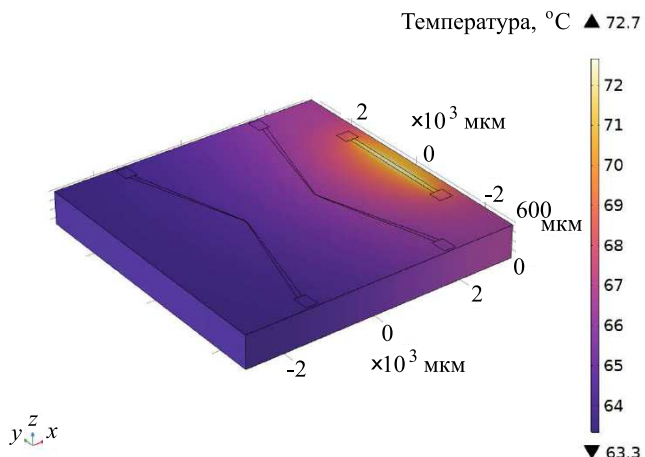


Рис. 6. Результаты моделирования распределения температуры образца по его поверхности

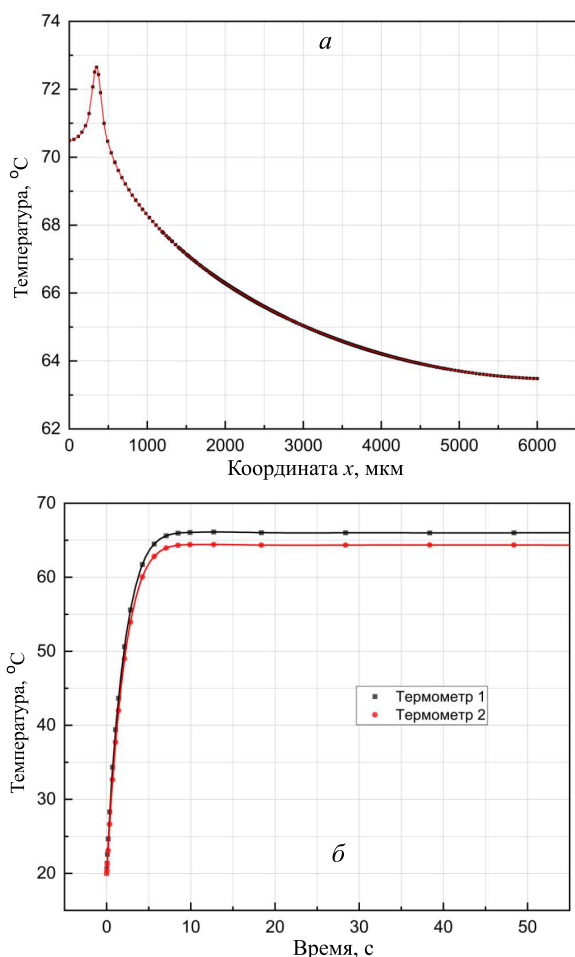


Рис. 7. *а* — Зависимость распределения температуры на оси x (направление от нагревателя к термометру) от координаты x ; *б* — график зависимости температуры двух термометров от времени

сеевания тепла с поверхности чипа. Разница показаний двух термометров в модели составила 2°C , что совпадает с экспериментальными данными.

4. АВТОМАТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА ТЕРМОРЕГУЛЯЦИИ

Для поддержания необходимой скорости нагрева образца и точного поддержания заданной температуры была разработана автоматическая система терморегуляции с обратной связью, использующая пропорционально-интегрально-дифференцирующий регулятор (ПИД). Была модернизирована управляющая электроника и программное обеспечение для задания температуры жидкостной ячейки. В качестве интерфейсной электроники для связи с компьютером был использован аналого-цифровой модуль USB6001. Для увеличения температурной чувствительности были разработана система задания тока и аналоговый усилитель входного напряжения термометров, что позволило достигнуть точности измерения температуры менее 0.5°C . Разработанная система терморегуляции позволяла задавать температуру в диапазоне $20\text{--}100^\circ\text{C}$.

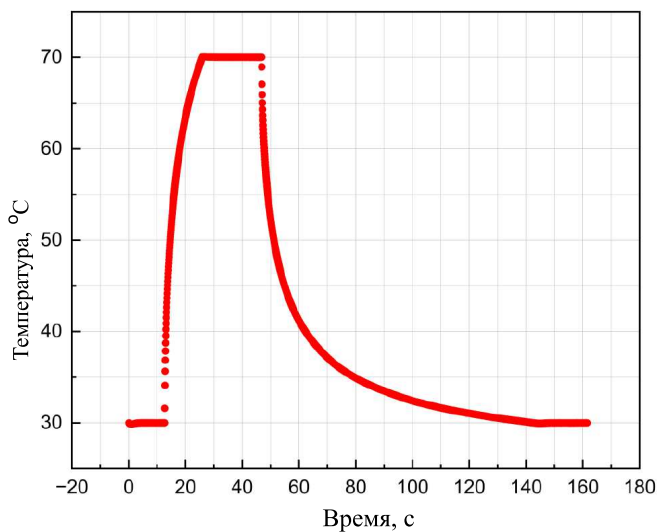


Рис. 8. Зависимость температуры образца от времени с использованием автоматической терморегулирующей системы с обратной связью

С использованием автоматической системы терморегуляции с обратной связью время нагрева от 30 до 70°C составило 13 с (рис. 8). Температуры от 70 до 100°C не использовались при проведении измерений, они нужны для очистки поверхности нанопровода для многократного использования, временные параметры установления температуры в этом диапазоне несущественны.

5. КАЛИБРОВКА ТЕРМОРЕГУЛИРУЮЩЕЙ СИСТЕМЫ В ЖИДКОСТНОЙ СРЕДЕ

Для калибровки системы в жидкости образец с предварительно прокалброванными термометрами покрывался герметизирующим слоем для изоляции всех токоподводящих контактов от жидкости

Таблица. Зависимости характерных времен при нахождении образца в различных средах

Жидкость	Время нагрева (30–70°C), с	Время охлаждения (70–30°C), с	Время испарения, с
Без жидкости	13±1	93±5	-
Буферный раствор	18±1	80±5	130±10

(рис. 9). Далее на него наносилась капля калий-фосфатного буферного раствора (0.01–1 М PBS pH 7.2) объемом 5 мкл.

На рис. 10 представлена зависимость температуры образца при нахождении в жидкостной среде. Сначала на образец наносилась капля жидкости объемом 5 мкл, затем он нагревался до 70°C с использованием системы активной обратной связи, существенно ускоряющей нагрев до заданной температуры. Время нагрева, в зависимости от среды, составляло от 13 до 18 с (таблица). Уменьшение температуры происходило при выключении нагрева путем естественной релаксации за счет обмена теплом с окружающей средой. Далее образец снова нагревался до 70°C и выдерживался при этой температуре, пока не происходило полное испарение капли. После этого происходила смена капли и замерялось время испарения капли на нагретом образце. На графике в момент смены капли виден характерный небольшой скачок температуры. Несмотря на то, что в момент смены капли наносился холодный раствор, температура образца возвращалась к установленному значению практически мгновенно.

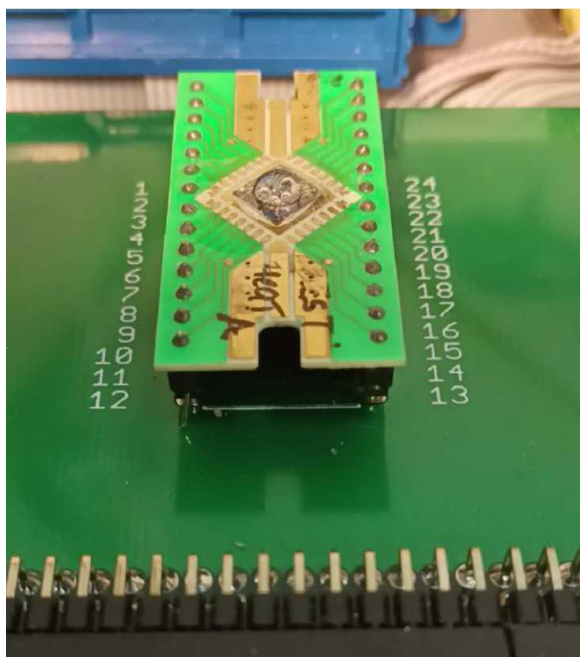


Рис. 9. Фотография тестового образца, на который помещена капля с буферным раствором

Использование микрофлюидных систем [21, 22, 39] позволит в дальнейшем избежать неудобств, связанных со сменой раствора. Кроме того, следует отметить, что включение микропроточных систем

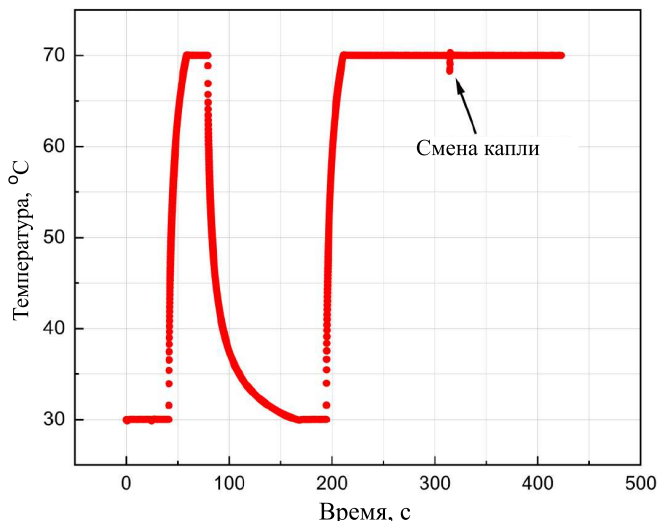


Рис. 10. Зависимость температуры образца от времени при нахождении в жидкостной среде. Заданная температура при ее увеличении устанавливалась терморегулирующей системой с обратной связью

в биосенсорные устройства будет иметь большое значение для создания интегрированных аналитических устройств.

6. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОСЕНСОРА С СИСТЕМОЙ ТЕРМОРЕГУЛЯЦИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МОДЕЛЬНОЙ ДНК

Разработанный биосенсор со встроенным терморегулятором был применен в молекулярно-генетическом анализе на примере определения бактерий *Escherichia coli* (кишечная палочка). Эти бактерии относятся к грамотрицательным бактериям и являются важной частью кишечной микрофлоры, поддерживающей нормальное физиологическое состояние у здоровых людей и животных. Большинство представителей *E. coli* не проявляют выраженных патогенных свойств и могут вызвать заболевания лишь у крайне ослабленных людей с выраженными нарушениями иммунного статуса. Но существуют представители кишечной палочки, получившие в ходе своей эволюции ряд свойств, в результате чего они стали патогенными для человека. Наиболее часто эти бактерии вызывают диареи, инфекции мочевыводящих путей, более редко — менингит.

Использованный в работе принцип молекулярно-генетического анализа *E. coli* основан на гибриди-

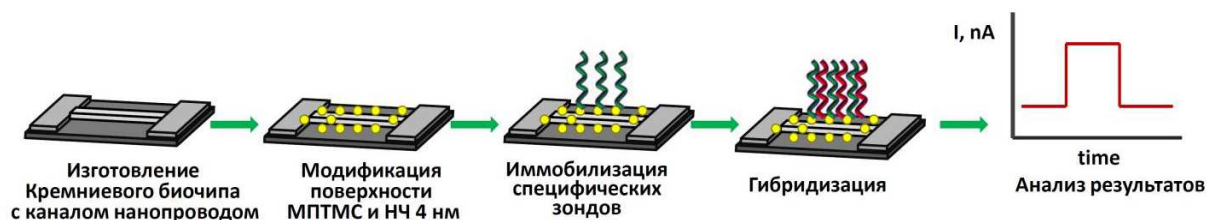


Рис. 11. Схема гибридационного анализа нуклеиновых кислот на биосенсоре со встроенным терморегулятором

зации (образовании специфичного ДНК-комплекса) образца нуклеиновой кислоты, выделенной из бактерии, с олигонуклеотидным зондом, последовательность которого характерна только для данного вида микроорганизмов. Олигонуклеотидный зонд иммобилизуется на поверхности модифицированного кремниевого нанопровода (рис. 11). Для модификации поверхности кремния использовали разработанный нами ранее метод ковалентного связывания сферических наночастиц золота диаметром 4–6 нм с использованием меркаптопропил-триметоксисилана [1]. После образования ДНК-комплексов регистрируется изменение проводимости нанопровода. Затем проводится разрушение комплексов ДНК при повышенной температуре для повторных измерений на биосенсоре.

Структура олигонуклеотидного зонда для идентификации бактерий *E. coli* представляла собой уникальный для данного вида фрагмент гена *gadB* (174 пар оснований), кодирующего глутаматдекарбоксилазу [40]. Зонд представлял собой олигонуклеотид из 54 оснований (5'-SH-TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT-AGATTATCAATGATGAATTATATCTTGATG-3'), включающий 30 оснований, соответствующих структуре гена *gadB*, и спейсер из 24 2'-дезокситимидин 5'-трифосфатов для снижения влияния стерических эффектов при образовании ДНК-комплексов. На 5'-конец зонда вводили SH-группу для ковалентной иммобилизации на наночастицах золота. Зонды иммобилизовали из растворов с концентрацией 20 пмоль/мкл в 0.25 М Na-фосфатном буфере, содержащем 0.3 М Na₂SO₄. После иммобилизации блокировали свободные центры связывания на поверхности кремния в растворе, содержащем 1% БСА и 1% казеина в 10 мМ К-фосфатном буфере pH 7.2 с 0.15 М NaCl. В качестве модельного образца гена *E. coli* (ДНК-мишень) использовали синтетический олигонуклеотид из 36 оснований (5'-CGTTGCCATCAAGATATAA-TTCATCATGATAATCT-3'), структура которого соответствовала фрагменту гена бактерий *E. coli* и была комплементарна олигонуклеотидному зонду.

В данной работе использовали повышенную температуру только для разрушения ДНК-комплексов. Измерения на биосенсоре проводили следующим образом: пропускали фиксированную концентрацию ДНК-мишени в течение 40–50 мин, затем

проводили отмывку горячим буферным раствором (с нагревателем) и буферным раствором комнатной температуры (без нагревателя — контроль). В качестве буфера использовали буферный раствор для гибридации ДНК (0.4 мМ Na₂PO₄, 3 мМ NaCl, 0.5 мМ MgCl₂, 0.004 мМ ЭДТА pH 7.5).

При выполнении условий полной молекулярной комплементарности двух олигонуклеотидов ДНК-дуплексы, образующиеся на поверхности нанопроводов, являются термодинамически устойчивыми и влияют на изменение проводимости только в тонком приповерхностном слое нанопровода, где иммобилизованы зонды. Количество образовавшихся комплексов пропорционально отклику сигнала нанопровода. В качестве контроля специфичности гибридации использовали зонд некомплементарной структуры.

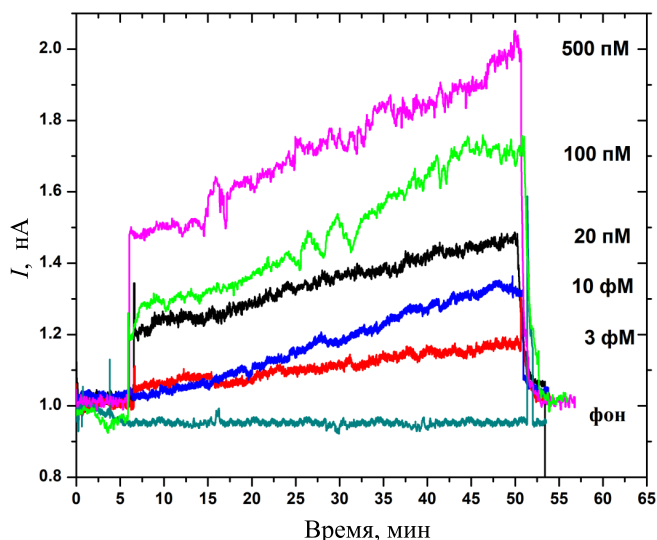


Рис. 12. Зависимость отклика нанопровода от концентрации модельной ДНК-мишени при пропускании образцов с последующей отмывкой буферным раствором при 80°C

На рис. 12 представлены графики отклика нанопроводов биосенсоров, полученные в процессе гибридации ДНК-мишеней различной концентрации и последующей отмывки с нагревателем (при температуре 80°C).

Из рисунка видно, что в процессе гибридации происходит образование комплексов ДНК-мишени с иммобилизованными олигонуклеотидными зонда-

ми. При отмывке горячим буфером, нагретым до 80°C с использованием встроенного терморегулятора, ДНК-дуплексы разрушаются, что видно по снижению отклика биосенсора до фоновых значений. Это позволяет проводить эффективную регенерацию поверхности биосенсора для следующих измерений.

Таким образом, была показана применимость разработанных наноразмерных биосенсоров со встроенным нагревателем для многократных измерений, что перспективно для молекулярно-генетического анализа нуклеиновых кислот.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методы молекулярно-генетического анализа на основе гибридизационного анализа ДНК активно развиваются для диагностики различных заболеваний и выявления патологий на ранней стадии развития болезней. Для повышения специфичности анализа возникает необходимость проведения реакции гибридизации и разрушения комплексов ДНК при повышенной температуре (от 45 до 95 °C). В данной работе разработана и исследована автоматическая система регуляции температуры для сенсорной системы на основе полевого транзистора с каналом-нанопроводом. Особенностью ее конструкции является наличие автоматической системы активной

обратной связи, интегрированных устройств нагрева, контроля и поддержания необходимой при исследованиях температуры. Система регуляции температуры обеспечивает контроль и поддержание необходимой температуры в диапазоне от 20 до 100 °C с точностью ± 0.5 °C. Продемонстрирована быстрая (менее 20 с) установка температуры от 30 до 70°C, обеспечиваемая работой системы активной обратной связи. Разработанная система повышает эффективность и специфичность анализа и сокращает его время при исследовании нуклеиновых кислот. Возможность устойчивого нагревания до 85–95°C (существенно выше температуры плавления ДНК-дуплексов) делает такой сенсор перспективным для многократного использования. Таким образом, применение интегрированных на чипе нагревателя и термометров, а также использование автоматической системы контроля и поддержания температуры биосенсора позволит существенно улучшить аналитические характеристики биосенсоров на основе полупроводниковых нанопроводов: повысить селективность, снизить значения фоновых сигналов, сократить время анализа и использовать их для многократных измерений.

Исследование выполнено при поддержке Программы развития МГУ, проект № 23А-Ш06-02. В работе использовалось оборудование Учебно-методического центра литографии и микроскопии МГУ им. М. В. Ломоносова.

- [1] Presnova G., Presnov D., Krupenin V. et al. // *Biosensors and Bioelectronics*. **88**, 283 (2017).
- [2] Lin T.-W., Hsieh P.-J., Lin C.-L. et al. // *PNAS* **107**, N 3, 1047. (2010).
- [3] Maki W.C., Mishra N.N., Cameron E.G. et al. // *Biosensors and Bioelectronics*. **23** N 6, 780. (2008).
- [4] Hahn J., Lieber C.M. // *Nano Lett.* **4**, N 1, 51. (2004).
- [5] Patolsky F., Zheng G., Hayden O. et al. // *PNAS* **101**, N 39, 14017. (2004).
- [6] Cui Y., Lieber C.M. // *Science* **291**, 5505, 851. (2001).
- [7] Sadighbayan D., Hasanzadeh M., Ghafar-Zadeh E. // *Trends in Analytical Chemistry* **133**, 116067. (2020).
- [8] Zhang D., Liu Z., Li C. et al. // *Nano Lett.* **4**, N 10, 1919. (2004).
- [9] Fan Z., Lu J.G. // *Appl. Phys. Lett.* **86**, 123510. (2005).
- [10] Gao Z., Agarwal A., Trigg A.D. et al. // *Anal. Chem.* **79**, N 9, 3291. (2007).
- [11] Циняйкин И.И., Преснова Г.В., Божьев И.В. и др. *Вестник Московского университета. Серия 3: Физика, астрономия* N 2, 2320701. (2023).
- [12] Ishikawa F.N., Chang H.-K., Curreli M. et al. // *ACS Nano* **3**, N 5, 1219 (2009).
- [13] Presnova G.V., Tsinuyaykin I.I., Bozhev I.V. et al. // *Proceedings of SPIE – The International Society for Optical Engineering*. 11022 (2019).
- [14] Циняйкин И.И., Преснова Г.В., Божьев И.В. и др. // *Вестн. Моск. ун-та. Физ. Астрон.* № 6, 106 (2020). (Tsiniaikin I.I., Presnova G.V., Bozhev I.V. et al. *Moscow Univ. Phys. Bull.* **75**, 645 (2020)).
- [15] Zhao W., Hu J., Liu J. et al. // *Microsystems & Nanoengineering* **8**, N 1, 57. (2022).
- [16] Gao A., Zou N., Dai P. et al. // *Nano Lett.* **13**, N 9, 4123 (2013).
- [17] Seo G., Lee G., Kim M.J. et al. // *ACS Nano* **14**, N 4, 5135 (2020). <https://dx.doi.org/>
- [18] Sun P., Cong Y., Xu M. et al. // *Micromachines* **12**, N 7, 731. (2021).
- [19] Su P.-C., Chen B.-H., Lee Y.-C. et al. // *Biosensors* **10**, N 12, 213. (2020).
- [20] Müller A., Vu X.T., Pachauri V. et al. // *Phys. Status Solidi A*. **215**, 1800234. (2018).
- [21] Gao A., Yang X., Tong J. et al. // *Biosensors and Bioelectronics*. **91**, 482 (2017).
- [22] Jakob M.H., Dong B., Gutsch S. et al. // *Nanotechnology*. **28**, N 24, 245503. (2017).
- [23] Попов В.П., Ильницкий М.А., Жанаев Э.Д. и др. // *Физика и техника полупроводников*. **50**, N 5, 643 (2016).
- [24] Ivanov Yu.D., Pleshakova T.O., Malsagova K.A. et al. // *Sensors and Actuators B*. **261**, 566 (2018).
- [25] Zafar S., D’Emic C., Jagtiani A. et al. // *ACS Nano*. **12**, N 7, 6577 (2018).
- [26] Choi J., Seong T.W., Jeun M. et al. // *Adv. Healthcare Materials*. **6**, 1700796. (2017).
- [27] Trifonov A.S., Presnov D.E., Bozhev I.V. et al. // *Ultramicroscopy*. **179**, 33 (2017). <http://dx.doi.org/>
- [28] Presnov D.E., Bozhev I.V., Miakonkikh A.V. et al. // *Journal of Applied Physics*. **123**, N 5, 054503. (2018).
- [29] Presnov D.E., Kafanov S., Dorofeev A.A. et al. // *JETP Letters*. **108**, N 7, 492 (2018).
- [30] Wang Z., Lee S., Koo K.-i., Kim K. //

- NanoBioscience **15**, N 3, 186 (2016).
- [31] Cui Y., Zhong Z., Wang D. et al. // *Nano Letters*. **3**, N 2, 149 (2003).
- [32] Thomas S., Orozco R.L., Ameal T. et al. // *Sensors and Actuators B: Chemical*. **247**, 889 (2017).
- [33] Farrar J.S., Wittwer C.T. // *Molecular diagnostics*. **79** (2017).
- [34] Menzen T., Friess W. // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **102**. 415 (2013).
- [35] Chen J.J., Shen C.M., Ko Y.W. // *Biomed Microdevices*. **15**, 261 (2013).
- [36] Zhu H., Li H., Zhang H. et al. // *Microfluidics and Nanofluidics*. **24**, 7. (2020).
- [37] Erlich H.A., Freeman W.H. // *Freeman and Company*. (1992).
- [38] Chen P.-C., Nikitopoulos D.E., Soper S.A., Murphy M.C. // *Biomed Microdevices*. **10**, 141 (2008).
- [39] Gubanov O., Andrianova M., Saveliev M. et al. // *Materials Science in Semiconductor Processing* **60**, 71 (2017).
- [40] Quicones B., Swimley M.S., Narm Yu K.-E. et al. // *Front cell infect microbiol*, **2**, 61 (2012).

Thermoregulation system for biosensors based on field-effect transistors with a nanowire channel

G.V. Nibudin^{1, a}, I.I. Tsiniakin¹, G.V. Presnova², M.Yu. Rubtsova², A.A. Popov², P.O. Mikhailov¹, A.S. Trifonov¹, O.V. Snigirev¹, V.A. Krupenin¹, D.E. Presnov^{1,3, b}

¹*Cryoelectronics laboratory, Faculty of Physics, Lomonosov Moscow State University. Moscow 119991, Russia*

²*Department of Enzymology, Faculty of Chemistry, Lomonosov Moscow State University. Moscow 119991, Russia*

³*Skobeltsyn Institute of Nuclear Physics, Lomonosov Moscow State University. Moscow 119991, Russia*

E-mail: ^anibudin.gv21@physics.msu.ru, ^bdenis.presnov@physics.msu.ru

In this work we present an automatic thermoregulation system for biosensors based on field-effect transistors with a nanowire channel, which provides full control on the required temperature regime in bioanalytical analyses. The system elements, including field-effect transistors with a nanowire channel, temperature sensors and heaters, were fabricated on a single silicon crystal using electron beam lithography, reactive ion etching and high-vacuum deposition techniques. Unique electronics have been developed to control and maintain temperature. The dependence of thermometer readout on heating power was measured, which is in good agreement with the results of numerical simulation. A demonstration of a thermoregulation system with PID-feedback was carried out, ensuring the establishment of a desired temperature in the range of 30–70°C in 18 s in liquid. A demonstration of a thermoregulation system for detecting nucleic acids was carried out using synthetic single-stranded DNA, which is a gene fragment from the bacterium *Escherichia coli*. The minimal detectable response was observed for a sample with a concentration of 3 fM.

PACS: 87.85.fk, 62.23.Hj, 81.07.Gf, 85.30.Tv.

Keywords: biosensor, nanowire, field-effect transistor, microchip, silicon on an insulator, electron-beam lithography, resistance temperature detector, thermal management, DNA.

Received 19 November 2023.

English version: *Moscow University Physics Bulletin*. 2024. **79**, No. 1. Pp. 82–90.

Сведения об авторах

1. Нибудин Глеб Витальевич — студент; тел.: (495) 939-33-43, e-mail: nibudin.gv21@physics.msu.ru.
2. Циняйкин Илья Иванович — мл. науч. сотрудник; тел.: (495) 939-39-88, e-mail: ii.tcinyaykin@physics.msu.ru.
3. Преснова Галина Васильевна — канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник; тел.: (495) 939-29-68, e-mail: gkovba@enzyme.chem.msu.ru.
4. Рубцова Майя Юрьевна — канд. хим. наук, вед. науч. сотрудник; тел.: (495) 939-29-68, e-mail: myr@enz.chem.msu.ru.
5. Попов Андрей Алексеевич — аспирант; тел.: (495) 939-39-88, e-mail: popov.aa16@physics.msu.ru.
6. Михайлов Павел Олегович — студент; тел.: (495) 939-39-88, e-mail: mikhailov.po18@physics.msu.ru.
7. Трифонов Артем Сергеевич — канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотрудник; тел.: (495) 939-30-14, e-mail: trifonov.artem@physics.msu.ru.
8. Снигирев Олег Васильевич — доктор физ.-мат. наук, профессор, зав. кафедрой; тел.: (495) 939-59-34, e-mail: snigirev.oleg@physics.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.