

## Научная аннотация

работ Орлова Алексея Владимировича

“Разработка высокочувствительных биоаналитических методов исследования наночастиц и реакций молекулярного распознавания”,

представленных на конкурс научных работ молодых ученых ИОФ РАН 2016 года

Работы Орлова А.В. посвящены исследованиям в области физики по разработке и применению высокочувствительных биоаналитических методов исследования наночастиц и реакций молекулярного распознавания. Были предложены новые аналитические подходы, основанные на использовании магнитных наночастиц и их регистрации методом детекции нелинейных магнетиков на комбинаторных частотах, в сочетании с применением трехмерных пористых структур в качестве твердой фазы для высокочувствительного количественного определения биомолекул. Применение трехмерных пористых твердых фаз обеспечивает большую реакционную поверхность, а также эффективное взаимодействие и быстрое концентрирование детектируемых молекул на твердой фазе непосредственно в ходе аналитической реакции. Детектирование магнитных наночастиц (МЧ) осуществляется с помощью высокочувствительных регистраторов, обладающих рекордным пределом обнаружения: 0,4 нг суммарной массы  $Fe_3O_4$  в объеме 0,2 мл и рекордно широким линейным динамическим диапазоном – 7 порядков величины [1]. Принцип действия таких устройств основан на детекции нелинейного отклика МЧ, помещенных в магнитное поле, генерируемое на двух частотах. Сигнал, пропорциональный количеству МЧ, регистрируется на комбинаторных частотах. Данный метод регистрации характеризуется высоким отношением сигнал/шум, поскольку окружающие диа- и парамагнитные материалы, такие как стекло, вода и пластик, не вносят вклад в сигнал, хотя в зоне регистрации их количество может быть на 8 порядков больше количества МЧ. Новые возможности от применения в качестве твердой фазы объемных пористых структур заключаются в существенном сокращении времени анализа и значительном увеличении чувствительности [1-3]. Указанные преимущества реализуются только при применении магнитных наночастиц в качестве регистрируемых меток в сочетании с предложенным методом их детекции. Такой подход обладает возможностью достижения уникальной комбинации характеристик, не доступной при использовании других существующих методов: а) широкого линейного диапазона при близком к максимально возможному наклону калибровочной кривой: было получено увеличение детектируемого сигнала почти в 10 раз при увеличении концентрации на порядок [2]; б) возможности анализировать образцы практически любого объема: был продемонстрирован непрерывный рост чувствительности при увеличении объема образца вплоть до десятков-сотен миллилитров [2]; в) отсутствия необходимости пробоподготовки для биологических образцов сложного состава [1-3]; г) малой продолжительности анализа [1-3]; д) возможности использования новых подходов к созданию многопараметрических тест-систем, основанных на объемном объединении нескольких однопараметрических тестов различной специфичности [3].

Были разработаны новые методы оценки взаимодействия магнитных наночастиц с биомолекулами путем мониторинга происходящих процессов в режиме реального времени с помощью спектрально-корреляционной интерферометрии [4-5]. Были разработаны универсальные алгоритмы определения важнейших кинетических параметров взаимодействия макромолекул между собой и с наночастицами с помощью спектрально-корреляционной интерферометрии [5]. Было проведено теоретическое исследование физико-химических моделей описания кинетики моно- и мульти- валентного взаимодействия наночастиц с макромолекулами, находящимися в растворе и иммобилизованными на поверхности. Для характеристики наночастиц и мониторинга кинетических свойств использовался спектрально-корреляционный метод, в котором регистрация осуществляется по изменению в ходе реакции толщины биослоя на поверхности пластиковых и стеклянных сенсорных чипов. В основе метода лежит применение двух интерферометров Фабри-Перо, связанных в оригинальной оптической схеме, использующей широкополосное излучение суперлюминисцентных диодов.

База первого интерферометра (расстояние между двумя зеркалами) периодически изменяется с помощью пьезоэлектрического преобразователя. Роль второго интерферометра выполняет плоскопараллельная прозрачная пластина с биораспознающими молекулами на верхней поверхности. Результат интерференции зависит от фазовой толщины биологического слоя, изменение которого в ходе реакции вычисляется по изменению фазы корреляционного сигнала при сканировании базы первого интерферометра. Метод спектрально-корреляционной интерферометрии был использован для разработки высокочувствительных количественных методов обнаружения низкомолекулярных биомолекул в конкурентном формате [4]. В результате, была предложена методика измерения концентрации малых молекул, позволяющая за счет измерения и учета специфической сорбционной емкости в точке проведения анализа, значительно снизить вариативность сигнала при малых концентрациях, улучшив, таким образом, предел детекции и увеличив надежность детекции безмаркерных биосенсоров.

На конкурс научных работ молодых ученых ИОФ РАН 2016 года выносятся 5 публикаций в высокорейтинговых журналах. В данных публикациях Орлов А.В. внёс ключевой вклад в получение и интерпретацию результатов и является первым автором:

1. **A.V. Orlov**, V.A. Bragina, M.P. Nikitin, P.I. Nikitin. Rapid dry-reagent immunomagnetic biosensing platform based on volumetric detection of nanoparticles on 3D structures. *Biosensors and Bioelectronics*. V. 79. P. 423–429. doi: 10.1016/j.bios.2015.12.049. **2016**

Импакт фактор журнала – **7.476**

2. **A.V. Orlov**, S.L. Znoyko, V.R. Cherkasov, M.P. Nikitin, P.I. Nikitin. Multiplex Biosensing Based on Highly Sensitive Magnetic Nanolabel Quantification: Rapid Detection of Botulinum Neurotoxins A, B, and E in Liquids. *Analytical Chemistry*, 88(21), 10419-10426. doi: 10.1021/acs.analchem.6b02066. **2016**

Импакт фактор журнала – **5.886**

3. **A.V. Orlov**, Y.A. Khodakova, M.P. Nikitin, A.O. Shepelyakovskaya, F.A. Brovko, A.G. Laman, E.V. Grishin, P.I. Nikitin. Magnetic Immunoassay for Detection of Staphylococcal Toxins in Complex Media. *Analytical Chemistry*. V. 85. P. 1154–1163. 2013. doi: 10.1021/ac303075b. **2013**

Импакт фактор журнала – **5.886**

4. **A.V. Orlov**, A.G. Burenin, N.G. Massarskaya, A.V. Betin, M.P. Nikitin, P.I. Nikitin. Highly reproducible and sensitive detection of mycotoxins by label-free biosensors. *Sensors and Actuators B: Chemical*. doi: 10.1016/j.snb.2016.12.071. **2016**

Импакт фактор журнала – **4.84**

5. **A.V. Orlov**, M.P. Nikitin, V.A. Bragina, S.L. Znoyko, M.N. Zaikina, T.I. Ksenevich, B.G. Gorshkov, P.I. Nikitin. A new real-time method for investigation of affinity properties and binding kinetics of magnetic nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. V. 380. P. 231-235. doi:10.1016/j.jmmm.2014.10.019. **2015**

Импакт фактор журнала – **2.357**

к.ф.-м.н. Орлов А.В., научный сотрудник  
Отдела светоиндуцированных поверхностных явлений  
Центра естественно-научных исследований ИОФ РАН,  
тел.: (499) 503 83 49