

Разработка нанобиосенсоров на основе акустоэлектронных технологийВ. В. Колесов^{1,*}, И. Е. Кузнецова^{1,†}, Е. С. Солдатов^{2,‡}, С. А. Дагесян²,А. Е. Мельников², В. И. Анисимкин¹, В. В. Кашин¹¹*Институт радиотехники и электроники имени В. А. Котельникова РАН**Россия, 125009, Москва, ул. Моховая, д. 11, корп. 7*²*Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, физический факультет**Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 2*

(Статья поступила 29.06.2017; Подписана в печать 12.09.2017)

Использование методов акустоэлектроники и интеграция нанобиосенсоров с акустическими линиями задержки в рамках планарных технологий дают возможность создания акустобионанозлектронных датчиков с повышенной чувствительностью и селективностью. В работе разработан акустоэлектрический чип-сенсор на основе монокристаллической пластины ниобата лития толщиной 0.35 мм с системой встречно-штыревых преобразователей (ВШП) для возбуждения соответствующей акустической волны, который вставляется в чип-холдер со стандартным разъемом ножевого типа. Для создания планарной наноструктуры нанозлектронного трансдюсера использовалась технология стандартной фотолитографии, различных фоторезистов и реактивного ионного травления и магнетронного напыления. Область размером 80x80 мкм в центре чипа служила для формирования электронной наноструктуры, которая является прообразом нанозлектронного трансдюсера. В полученных наноструктурах могут быть сформированы нанозазоры для иммобилизации молекул белков-ферментов и создании селективных молекулярных биосенсоров.

PACS: 07.07.Df

УДК: 537.5+534.8.

Ключевые слова: нанобиосенсоры, наноструктуры, акустоэлектронные датчики, пьезоэлектрические пластины, нанотехнология, электронная литография.

ВВЕДЕНИЕ

Использование методов акустоэлектроники и интеграция нанобиосенсоров с акустическими линиями задержки в рамках планарных технологий дают возможность создания акустобионанозлектронных датчиков с повышенной чувствительностью и селективностью. Применение этих устройств для регистрации биоспецифических взаимодействий, для детекции различных биологических объектов, как немодифицированных, так и капсулированных наночастицами различного типа (металлическими, магнитными) позволит создать устройства для экспресс-анализа биологических жидкостей малого объема, решить вопросы детекции микробных клеток и проводить мониторинг их чувствительности к различным антибиотикам [1].

Биосенсоры – это аналитические устройства, использующие биологические материалы для «узнавания» определенных молекул и выдающие информацию об их присутствии и количестве в виде электрического сигнала. Принцип анализа, реализуемый в биосенсорах, основан на том, что биоматериал, иммобилизованный на физических датчиках, при взаимодействии с анализируемыми соединениями генерирует зависимый от концентрации сигнал, регистрируемый преобразователем. В настоящее время в большинстве конструкций биосенсоров используется кондуктометрический прин-

цип, основанный на измерении электрофизических параметров устройства.

Основной целью работы является создание и исследование гибридных акустобионанозлектронных датчиков на различных типах акустических волн (волн в пластинах, объемных волнах и т.д.). Созданные датчики будут апробированы при проведении исследований динамики образования биогенных наночастиц в биологических растворах, динамики взаимодействия микробных клеток с антибиотиками, а также мониторинге биоспецифических реакций. На основании разработанных терминальных сенсорных устройств могут быть реализованы информационные системы для определения характера и степени загрязнения окружающей среды.

Известно, что все биосенсоры содержат два основных функциональных блока: биоселективный элемент, использующий различные биологические структуры, и физический преобразователь (трансдюсер), трансформирующий концентрационную зависимость в электронный сигнал. Следует отметить, что биосенсоры в своем большинстве гораздо более избирательны, чем обычные химические сенсоры. Используя современные достижения биотехнологии и нанозлектроники, можно разрабатывать новые оригинальные нанозлектронные приборы для биомедицинских технологий дистанционного контроля.

В качестве одного из наиболее распространенных модельных биокатализаторов в биосенсорном анализе используются белки-ферменты из семейства оксидаз и пероксидаз, которые являются высокоселективными ферментами с достаточно детально изученными характеристиками [4]. В настоящее время наряду с теорети-

*E-mail: kvv@cplire.ru

†E-mail: kuziren@yandex.ru

‡E-mail: esold@phys.msu.ru

ческими и экспериментальными лабораторными исследованиями и разработками активно происходит практическое внедрение сенсорной/биосенсорной технологии [5]. Так, биосенсоры успешно используются для мониторинга объектов окружающей среды, позволяя выполнять быструю оценку наличия вредных веществ-пестицидов, поверхностно активных соединений, опасных микроорганизмов, индекса БПК (биологического потребления кислорода, являющегося индикатором легко окисляемой органики), используются для решения вопросов о качестве пищевых продуктов и воды, применяются в сельском хозяйстве. Пока же основное их практическое применение - медицинское. Интересными и важными являются сведения о возможности использования биосенсоров для выполнения процедуры секвенирования ДНК [6].

Актуальность данной работы связана с возрастанием роли биологической и экологической безопасности, необходимостью контроля за загрязнением окружающей среды, потребностью в распределенных информационных системах мониторинга и медико-биологических методах экспресс-диагностики. Развитие промышленности, медицины, сельского хозяйства и других отраслей производства требует разработки надежных методов качественного и количественного анализа присутствия различных веществ в образцах воды, почвы, крови и других физиологических жидкостях, продуктах питания и т.д. Как правило, ценность таких методов повышается, если имеется возможность выполнять анализ непосредственно на месте отбора образцов. Вследствие этого широкое применение получают биосенсоры, обладающие малыми размерами, быстротой получения результатов и надежностью.

1. РАЗРАБОТКА СТРУКТУРЫ ВСТРЕЧНО-ШТЫРЕВЫХ ПРЕОБРАЗОВАТЕЛЕЙ ДЛЯ АКУСТОЭЛЕКТРОННОГО ЧИП-СЕНСОРА

Для разработки топологии встречно-штыревых преобразователей для акустоэлектронного чип-сенсора и изготовления соответствующих фотошаблонов необходимо определить фазовую скорость акустических волн. Для этого была решена граничная задача. Ее геометрия представлена на рис. 1. Волна распространяется вдоль оси x_1 пьезоэлектрической пластины, ограниченной плоскостями $x_3 = 0$ и $x_3 = h$. В областях $x_3 < 0$ и $x_3 > h$ расположен вакуум. Рассматривается двумерная задача, и в этом случае все механические и электрические переменные считаются постоянными в направлении оси x_2 . Для решения задачи были записаны уравнение движения, уравнение Лапласа и материальные уравнения для пьезоэлектрической среды [7]:

$$\rho \partial^2 U_i / \partial t^2 = \partial T_{ij} / \partial x_j, \quad \partial D_j / \partial x_j = 0, \quad (1)$$

$$\begin{aligned} T_{ij} &= C_{ijkl} \partial U_l / \partial x_k + e_{kij} \partial \Phi / \partial x_k, \\ D_j &= -\varepsilon_{jk} \partial \Phi / \partial x_k + e_{jlk} \partial U_l / \partial x_k. \end{aligned} \quad (2)$$

Здесь U_i — компонента механического смещения частиц, t — время, T_{ij} — компонента тензора механического напряжения, x_j — координаты, D_j — компонента вектора электрической индукции, Φ — электрический потенциал, ρ , C_{ijkl} , e_{ikl} , и ε_{jk} — плотность, упругие, пьезоэлектрические и диэлектрические постоянные пьезоэлектрика, соответственно.

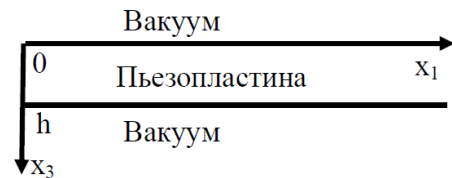


Рис. 1: Геометрия задачи

За пределами пластины в областях $x_3 < 0$ и $x_3 > h$ электрическая индукция должна удовлетворять уравнению Лапласа:

$$\partial D_j^V / \partial x_j = 0, \quad (3)$$

где $D_j^V = -\varepsilon_0 \partial \Phi^V / \partial x_j$. Здесь индекс v обозначает величины, относящиеся к вакууму, а ε_0 — диэлектрическая постоянная вакуума.

Акустические волны, распространяющиеся в пластине, должны также удовлетворять механическим и электрическим граничным условиям. На границе с вакуумом ($x_3 = 0$ и $x_3 = h$) эти условия имеют следующий вид:

$$T_{3j} = 0, \quad \Phi^V = \Phi, \quad D_3^V = D_3. \quad (4)$$

Указанная выше граничная задача решалась следующим методом. Решение представлялось в виде совокупности плоских неоднородных волн [8, 9] и имело вид:

$$Y_i(x_1, x_3, t) = Y_i(x_3) \exp[j\omega(t - x_1/V)], \quad (5)$$

где $i = 1 \div 8$ для пьезоэлектрика, а для вакуума $i = 1, 2$; V — фазовая скорость, ω — круговая частота акустической волны. Здесь введены следующие нормированные переменные:

$$\begin{aligned} Y_i &= \omega C_{11}^* U_i / V, \quad Y_4 = T_{13}, \quad Y_5 = T_{23}, \\ Y_6 &= T_{33}, \quad Y_7 = \omega e^* \Phi / V, \quad Y_8 = e^* D_3 / \varepsilon_{11}^*, \end{aligned} \quad (6)$$

где $i = 1, 2, 3$; C_{11}^* , ε_{11}^* — нормировочные материальные постоянные пьезоэлектрической среды в кристаллофизической системе координат; $e^* = 1$ и имеет размерность пьезоэлектрической постоянной.

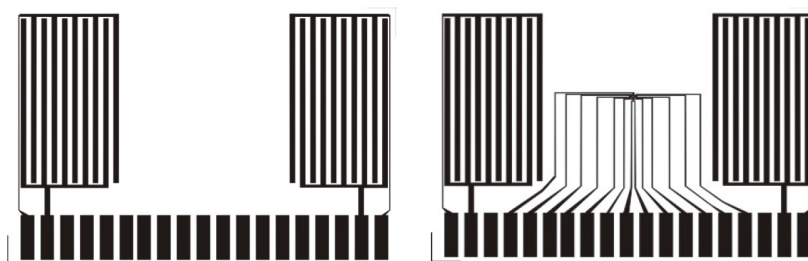


Рис. 2: Фотошаблон акустоэлектрического чип-сенсора на основе монокристаллической пластины ниобата лития (размеры чипа 18x12 мм)

Подставляя выражение (5) в уравнения (1)–(4), получим системы из 8-ми и из 2-х обыкновенных дифференциальных линейных уравнений для пьезоэлектрической среды и вакуума, соответственно. Каждую из этих систем можно записать в следующем матричном виде:

$$[A][dY/dx_3] = [B][Y]. \quad (7)$$

Здесь $[dY/dx_3]$ и $[Y]$ — 8-мерные векторы для среды и 2-мерные векторы для вакуума, компоненты которых определены в соответствии с формулами (6). Матрицы $[A]$ и $[B]$ — квадратные, размером 8x8 для пьезоэлектрической среды и размером 2x2 для вакуума.

Поскольку матрица $[A]$ не является особенной ($\det[A] \neq 0$), то для каждой контактирующей среды можно записать

$$[dY/dx_3] = [A - 1][B][Y] = [C][Y].$$

Далее для решения системы уравнений (7) необходимо найти собственные значения $\beta^{(i)}$ матриц $[C]$ и соответствующие им собственные векторы $[Y^{(i)}]$, определяющие параметры парциальных волн, для каждой из контактирующих сред. Общее решение будет линейной комбинацией всех парциальных волн для каждой среды:

$$Y_k = \sum_{i=1}^N A_i Y_k^{(i)} \exp(\beta^{(i)} x_3) \exp(i\omega[t - x_1/V]), \quad (8)$$

где число собственных значений $N = 8$ для пьезоэлектрической среды и $N = 2$ для вакуума, A_i — неизвестные величины. Для нахождения величин A_i и скорости V воспользуемся механическими и электрическими граничными условиями (4), которые также были записаны в нормированном виде с учетом (6). Для вакуума, расположенного в областях $x_3 < 0$ и $x_3 > h$, собственные значения с отрицательной и положительной действительной частью, соответственно, исключим из рассмотрения, поскольку все переменные в вакууме должны иметь убывающую амплитуду при удалении от пьезоэлектрической пластины.

Таким образом, неизвестные величины A_i и скорость V можно определить из системы однородных алгебраических линейных уравнений (4).

В результате применения описанного метода определялись фазовая скорость волны и ее структура.

Акустоэлектронные линии задержки были рассчитаны для антисимметричной (A_0) и симметричной (S_0) волн Лэмба и волны с поперечно-горизонтальной поляризацией (SH_0) нулевого порядка, распространяющихся в ниобате лития. Были выбраны следующие кристаллографические ориентации для (A_0) волны — $128YX$, для (S_0) волны — $Y-X+50$, для (SH_0) волны — YX . Выбранные направления распространения волн характеризуются наибольшим коэффициентом электро-механической связи волны (k^2) и одномодовым режимом возбуждения [2].

На основании полученных данных рассчитывался длина волны (λ) и толщина штырей (d) соответствующих ВШП. Толщина пластины составляла 350 мкм. Частота акустической волны лежала в диапазоне 3.5–5 МГц. Полученные данные приведены в табл.1.

В качестве примера на рис. 2 представлены топологии фотошаблонов для акустоэлектронных чип-сенсоров на основе SH_0 волны в YX пластине ниобата лития.

2. РАЗРАБОТКА АКУСТОЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ЧИП-СЕНСОРА

Акустоэлектрический чип-сенсор на основе монокристаллической пластины ниобата лития может использоваться в двух модификациях:

- в первом варианте исследуемый объект располагается между ВШП структурами (при этом сенсор может полностью погружаться в жидкостную среду);
- во втором варианте реализуется гибридный вариант сенсора, сочлененный с нанoeлектронным датчиком, расположенным в акустически озвученной области в центральной области чип-сенсора.

Таблица I: Расчетные параметры акустоэлектронных чип-сенсоров для пластины ниобата лития

Тип волны, направл. распростр.	f , МГц	V , м/с	h/λ	k^2 , %	λ , мм	d , мм
(S_0) , Y-X+500	4.3	6811	0.24	11	1.546	0.399
(S_0) , Y-X	3.65	4438	0.3	21	1.214	0.286

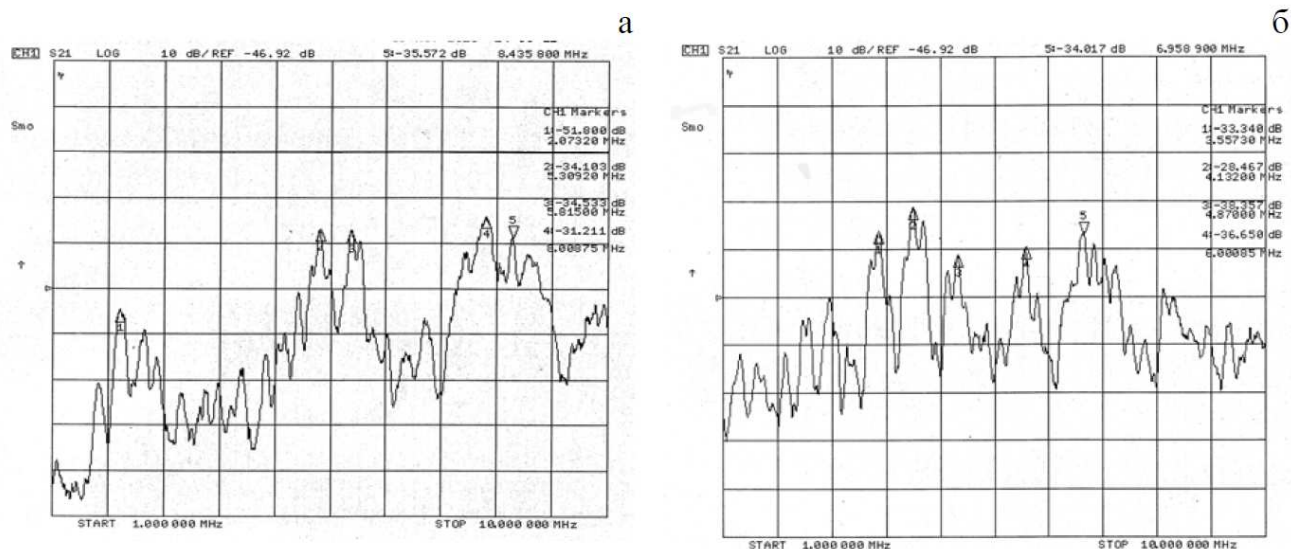


Рис. 3: Акустические отклики линий задержки для направлений распространения волн X (а) и X+500 (б) пластины Y среза ниобата лития

На рис. 3 приведены отклики реализованных линий задержки для направлений распространения волн X (а) и X+500 (б) пластины Y среза ниобата лития с толщиной 350 мкм.

Экспериментальные значения скоростей возбуждаемых акустических волн составили 2.5 ± 0.2 км/с, 6.4 ± 0 км/с, 7.1 ± 0.1 км/с, 9.7 ± 0.1 км/с и 10.2 ± 0.4 км/с для YX и 5.0 ± 0.3 км/с, 5.8 ± 0.3 км/с, 6.9 ± 0.3 км/с, 9.5 ± 0.2 км/с и 10.8 ± 0 км/с для Y-X+500 пластины ниобата лития.

Для создания планарной наноструктуры нанoeлектронного трансдюсера использовались технология стандартной электронной нанолитографии в растровом электронном микроскопе Carl Zeiss SUPRA 40 с литографической системой Raith ElphyQuantum, технология реактивного ионного травления в установке Alcatel RDE-300 с диагностическим комплексом Multisem-400 и технология магнетронного напыления в установке Leybold Heraeus Z-400. Область размером 80x80 микрон в центре чипа служила для формирования наноструктуры, которая является прообразом нанoeлектронного трансдюсера (рис. 4). Засветка электронного фоторезиста в этой области проводилась электронным лучом в растровом электронном микроскопе Carl Zeiss SUPRA 40 с литографической системой Raith ElphyQuantum.

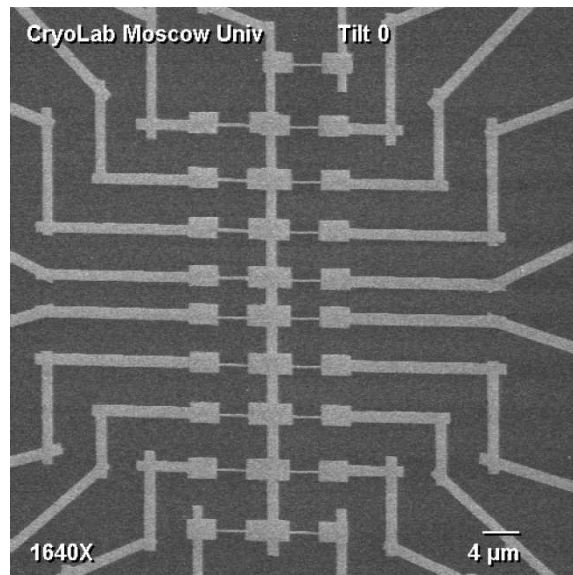


Рис. 4: Фотография в РЭМ центральной субмикронной части чип-сенсора, на которой видна структура нанопроводных электродов

В полученных наноструктурах могут быть сформированы нанозоры для иммобилизации отдельных молекул белков-ферментов и создании селективных мо-

лекулярных биосенсоров [3].

На следующих этапах работы планируется сравнение параметров линий задержки с размещенной на пути акустической волны наноструктурой и без нее. Планируется также исследовать возможность концентрирования акустического поля в области размещения наноструктуры.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе разработан акустоэлектрический чип-сенсор на основе монокристаллической пластины ниобата лития толщиной 0.5 мм с системой встречно-штыревых преобразователей (ВШП) для возбуждения соответствующей акустической волны, который вставляется в чип-холдер со стандартным разъемом ножевого типа.

Акустоэлектронные устройства были рассчитаны для антисимметричной (A_0) и симметричной (S_0) волн Лэмба и волны с поперечно-горизонтальной поляризацией (SH_0) нулевого порядка, распространяющихся

в ниобате лития. Были выбраны следующие кристаллографические ориентации для (A_0) волны — 128YX, для (S_0) волны — Y-X+50, для (SH_0) волны — YX. Выбранные направления распространения волн характеризуются наибольшим коэффициентом электромеханической связи волны и одномодовым режимом возбуждения. Для создания планарной наноструктуры на ноелектронного трансдьюсера использовалась технология стандартной литографии, различных фоторезистов и реактивного ионного травления. Область размером 80x80 микрон в центре чипа служила для формирования наноструктуры, которая является прообразом ноелектронного трансдьюсера. Засветка этой области проводилась электронным лучом в растровом электронном микроскопе микроскопе с нанолитографическим модулем. В полученных наноструктурах могут быть сформированы нанозазоры для иммобилизации отдельных молекул белков-ферментов и создании селективных молекулярных биосенсоров.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (гранты 16-07-00933, 15-07-00692, 15-29-01292).

-
- [1] Reshetilov A. N., Reshetilova T. A. Nanosensors and their applications. In Metal nanoparticles in microbiology. Berlin: Springer Verlag GmbH, 2011. P. 269.
 - [2] Borodina I. A., Joshi S. G., Zaitsev B. D., Kuznetsova I. E. Acoust. Phys. 2000. **46**, N 1, P. 33.
 - [3] Kolesov V. V., Sapkov V., Soldatov E. S. Moscow University Physics Bulletin, 2009. **64**, N. 4. P. 384.
 - [4] De Benedetto G. E., Palmisano F., Zamboni P. G. Biosens. Bioelectron. 1996. **11**, № 10. P. 1001.
 - [5] Scognamiglio V., Pezzotti G., Pezzotti I., Cano J., Buonasera K., Giannini D., Giardi M. T. Microchim. Acta. 2010. P. 1.
 - [6] Pourmand M., Karhanek M., Persson H. H. J., Webb C. D., Lee T. H., Zahradnickov A., Davis R. W. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006. **103**, № 17. P. 6466.
 - [7] Auld B. A. Acoustic fields and waves in solids. **2**. Wiley. New York., 1973.
 - [8] Олинер А. Поверхностные акустические волны. Гл.2. М.: Мир, 1981.
 - [9] Zaitsev B. D., Joshi S. G., Kuznetsova I. E. Smart Material & Structures. 1997. **6** P. 739.
-

Development nanobiosensors based on acoustoelectronic technologies

V. V. Kolesov^{1,a}, I. E. Kuznetsova^{1,b}, E. S. Soldatov^{2,c}, S. A. Dagesyan², A. E. Melnikov², V. I. Anisimkin¹, V. V. Kashin¹

¹Kotel'nikov Institute of Radio Engineering and Electronics of RAS
Moscow 125009, Russia

²Lomonosov Moscow State University, Physics Dept. Moscow 119991, Russia
E-mail: ^akvv@cplire.ru, ^bkuziren@yandex.ru, ^cesold@phys.msu.ru

Acoustoelectronic methods and integration of a nanobiosensor with an acoustic delay line in the frame of the planar technology are given the possibility for development of acoustonano-electronic biosensors with enhanced sensitivity and selectivity. In the present work the acoustoelectronic chip-sensor has been developed. It is based on monocrystal lithium niobate plate with thickness 0.35 mm and consisted of the system of interdigital transducers (IDT) needed for excitation of the corresponding acoustic wave. This chip-sensor could be inserted into the chip-holder with the standard cutoff point by «knife» type. The standard lithography technology, different photoresists and reactive ionic etching have been used for producing the planar nanostructure of the nanoelectronic transducer. The space with geometric dimension 80x80 μm in the center of the chip was used for producing nanostructure. The nanogaps could be formed in the obtained nanostructures for development of molecular transistors based on protein enzyme.

PACS: 07.07.Df.

Keywords: nanobiosensors, acoustoelectronic sensors, piezoelectric plates, molecular transistors.

Received 29 June 2017.

Сведения об авторах

1. Колесов Владимир Владимирович — канд. физ.-мат. наук, вед. науч. сотрудник; тел.: (495) 629-33-68, e-mail: kvv@cplire.ru
 2. Кузнецова Ирен Евгеньевна — докт. физ.-мат. наук, доцент, гл. науч. сотрудник, профессор РАН; e-mail: kuziren@yandex.ru.
 3. Солдатов Евгений Сергеевич — канд. физ.-мат. наук, зав. лаб.; тел.: (495) 939-59-35, e-mail: esold@phys.msu.ru.
 4. Дагесян Саркис Арменакович – аспирант, тел.: (495) 939-59-35; e-mail: capkuckokos@gmail.com.
 5. Мельников Александр Евгеньевич — студент, тел.: (495) 939-59-35; e-mail: alexen96@gmail.com.
 6. Анисимкин Владимир Иванович — доктор физ.-мат. наук, гл. науч. сотрудник, профессор РАН; тел.: (495) 629-33-61, e-mail: anis@cplire.ru
 7. Кашин Вадим Валерьевич — науч. сотрудник; тел.: (495) 629-33-68, e-mail: vadim_kashin@mail.ru.
-