

ЕМКОСТНЫЕ ИММУНОСЕНСОРЫ НА ОСНОВЕ СТРУКТУР ЭЛЕКТРОЛИТ–ИЗОЛЯТОР–ПОЛУПРОВОДНИК

Ф.В. ГАСПАРЯН^{1*}, В.В. СИМОНЯН², Л.Ф. ГАСПАРЯН²

¹Ереванский государственный университет, Ереван, Армения

²DNA-HIVE LLC, Rockville, MD, USA

*e-mail: fgaspar@ysu.am

(Поступила в редакцию 5 апреля 2023 г.)

Представлены результаты моделирования электрофизических характеристик емкостных иммуносенсоров многоразового использования на основе структуры электролит–диэлектрик–полупроводник (EIS). Электрофизические и геометрические данные о наиболее распространенных вирусах собраны и классифицированы с единой точки зрения. Представлены и проанализированы результаты теоретических расчетов емкости и емкостной чувствительности многоразовых EIS -иммуносенсоров на вирусы COVID-19.

1. Введение

Для эффективного контроля и лечения вирусных инфекций крайне желательно иметь экспресс-метод выявления вирусов с возможностью постоянного мониторинга. Большинство существующих методов требуют этапов предварительной обработки, которые увеличивают стоимость и время выполнения.

Датчики, разработанные с использованием новых технологий, таких как биоозондирование, могут обнаруживать и количественно определять биологические аналиты и сочетать высокую чувствительность и специфичность с быстрым временем отклика, портативностью, низкой стоимостью и простотой использования. В обзорах [1, 2] представлен подробный анализ доступных в настоящее время биосенсорных технологий. В последние годы растет интерес и потребность в автоматизированном высокопроизводительном обнаружении мультианалитов в клинической диагностике. Существует множество методов иммуноанализа, которые можно реализовать [1–9]. Безметочный электрохимический иммуносенсор с использованием массивов микроэлектродов, модифицированных одностенными углеродными нанотрубками (SWNT) изготовлен и исследован в работе [4]. Новая стратегия усиления сигнала, основанная на магнитных золотых наночастицах, легированных тионином в качестве метки, и пероксидазе хрена в качестве энхансера, обещает улучшить чувствительность и предел обнаружения иммунологического анализа раково-эмбрионального антигена (СЕА) в качестве модельного белка [5]. Эта система иммунологического анализа была изготовлена на микроэлектроде из углеродного волокна, покрытом хорошо упорядоченной архитектурой анти-СЕА/белок А/нанозолото. В работе [6] измерения С-реактивного белка (CRP) проводились с использованием встроенного микрожидкостного

чипа, в который были встроены магнитные шарики. Магнитные шарики, покрытые CRP-специфичными ДНК-аптамерами, использовали для распознавания, очистки и обогащения CRP-мишени. Состояние биомолекулярного распознавания с использованием электрохимического обнаружения путем анализа тенденций, ограничений, проблем в области электрохимических биосенсоров представлено в работе [9].

Разработка мультианалитического иммуноанализа для панелей биомаркеров имеет большое значение для диагностики заболеваний. Различия в составе белков приводят к значительным изменениям свойств поверхности, характерным для изменений типов белков на поверхности конденсаторных решеток, вызванных образованием комплекса антитело–антиген (Ab–Ag) [10, 11]. Иммуноанализы выявляют связывание Ab со специфической молекулой-мишенью и могут использоваться для обнаружения присутствия и концентрации специфических Ab у инфицированного пациента.

Импедиметрические иммуносенсоры функционируют путем применения спектроскопии электрохимического импеданса к биосенсорной платформе с использованием Ab или других аффинных белков, таких как аффимеры [12] или другие связывающие белки [13], в качестве биорецепторов, которые обеспечивают превосходную чувствительность и селективность. Альтернативный связывающий белок, называемый аффимером, ведет себя так же, как Ab, прочно связываясь с его молекулой-мишенью, но гораздо более устойчив к кислотности и высокой температуре. Различные типы импедиметрических иммуносенсоров в зависимости от типа электрода и материалов их базового слоя, самособирающихся монослоев или полимерных слоев, состава и функционализации для различных типов бактерий, вирусов, грибов и биомаркеров заболеваний описаны в работе [14]. Разработка мультианалитических анализов цитокинов и документирование интерференции, полученной из гетерофильных антител, проанализированы в работе [8].

Спектроскопия электрохимического импеданса измеряет изменения приложенного электрического тока или напряжения из-за связывания молекулы-мишени. Емкостные иммуноанализы, как часть спектроскопии электрохимического импеданса, являются многообещающими альтернативами существующим иммунохимическим тестам для разработки портативных устройств, которые можно использовать для приложений по месту оказания медицинской помощи. Принцип чувствительности этих биосенсоров основан на изменении диэлектрических свойств, распределении заряда и/или изменении проводимости, вызванных комплексом Ab–Ag, образующимся на поверхности электродов. В результате изменяется электрическая емкость биосенсора. Для обнаружения панели биомаркеров заболеваний в работе [7] был разработан высокочувствительный, мультианалитический емкостной иммуносенсор без меток на основе массивов конденсаторов с золотыми встречно-штыревыми электродами, изготовленных на поверхности SiO₂. Обнаружение белковых биомаркеров основывалось на относительном изменении диэлектрических свойств. В работе [15] сообщается о емкостном иммуносенсорном анализе с использованием имеющейся в продаже системы обнаружения импеданса, в которой используются специализированные луночные планшеты со встроенными чувствительными электродами. Продемонстрировано быстрое электрохимическое обнаружение Ab SARS-CoV-2 без использования меток.

В течение последних десятилетий были разработаны наноматериалы с особыми электрическими, оптическими и механическими свойствами для обнаружения и количественного определения вирусных Ag. Применялись наночастицы для количественного определения и анализа Ag вируса гепатита В (HBV) [16], ДНК [17, 18] и белка [19].

Белковые антитела обычно используются для захвата вирусов, где каждый тип вируса может связываться с соответствующим ему Ab [20]. Идентификация и классификация различных типов вирусов, построение зависимости «концентрация-подвижность», уникальной для каждого типа вируса, проведены в работе [21]. Тип вируса был идентифицирован на основе набора электрических параметров, которые были извлечены из соответствующих профилей вольт-амперной и вольт-емкостной характеристик. Электрическую емкость вирусной частицы использовали для идентификации типа присутствующего вируса путем измерения емкости суспензии (вирус плюс среда), удаления вклада среды и деления на количество вирусов [22]. Предлагаемая методика основана на нахождении эффективной диэлектрической проницаемости отдельного вируса, которая напрямую связана с составом вируса. Это значение использовалось для соответствующей идентификации типа вируса.

В этой работе разработан емкостной метод обнаружения и идентификации различных вирусов в водном растворе с использованием архитектуры электролит-изолятор-полупроводник (EIS). Проведены исследования для мультианалитического обнаружения вирусов на основе емкостного метода с использованием иммуносенсора на основе EIS.

2. Предлагаемый модельный метод

Метод основан на изменении емкости за счет связывания и иммобилизации целевых неизвестных молекул или вирусов. По существу, предлагаемый метод сводится к «емкостной спектроскопии», хотя намного проще как в реализации, так и в анализе полученных данных.

На рис.1 показано примерное схематическое изображение предлагаемой матрицы иммуносенсора EIS многократного использования для обнаружения и идентификации 4-х различных вирусов/бактерий. Предлагаемая структура состоит из 4-х отдельных линий/массивов, образующих твердотельную часть структуры EIS. Каждая линия будет чувствительной платформой для определенного типа Ag/вируса (вирусного Ag). Понятно, что выбранное количество линий (4) произвольно, и можно изготовить и смоделировать датчик, состоящий из большего количества линий.

Твердотельная часть датчика состоит из полупроводника (обычно кремния), покрытого слоем диэлектрика (например, SiO_2 , Si_3N_4). На первом этапе известными биотехнологическими методами наносятся слои «специальных платформ» для определенных типов Ab на поверхности диэлектрических слоев различных линеек [23]. После этого к этим платформам подключаются и иммобилизуются соответствующие антитела исследуемых вирусов. Такая система представляет собой электрический конденсатор, емкость которого зависит от размера и диэлектрической проницаемости диэлектрического слоя и антител вместе с соответствующими платформами. Таким образом, каждая линия будет иметь определенное значение емкости, измеренное между электродом сравнения (RE)

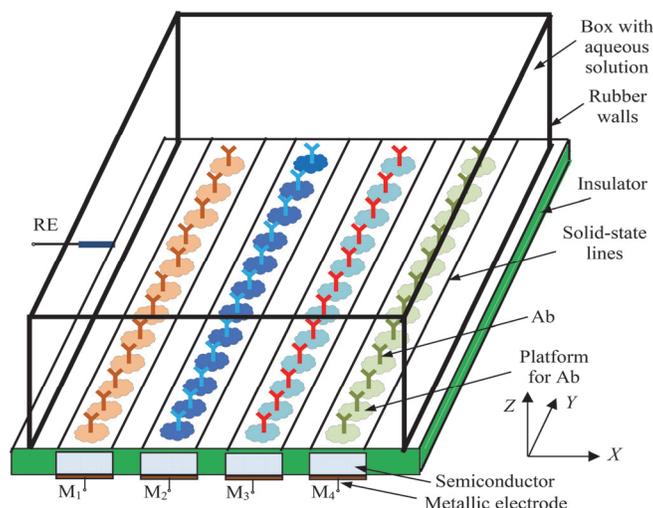


Рис.1. Схематическое изображение иммуносенсора на основе EIS для 4-х различных вирусов и используемая система координат.

и тыльным электродом (M1-M4) из полупроводникового слоя. Предполагая конденсатор плоским, считается, что верхняя прокладка образуется поверхностным слоем проводящего водного раствора. После добавления капли крови испытуемого в водный раствор содержащиеся в нем вирусы в основном будут захватываться на соответствующих данным вирусам линиях. Понятно, что будут и «ложные связи», но они не окажут существенного влияния на полученные результаты. Емкость линий будет варьироваться в зависимости от вида, размера, концентрации и диэлектрической проницаемости данного вируса. Изменяя изменение емкости соответствующих линий перед и после захвата вирусов, можно обнаруживать и идентифицировать неизвестные вирусы.

3. Теория и моделирование

3.1. Расчет емкости

Для обнаружения и идентификации неизвестных вирусов были разработаны многие молекулярные и биологические методы. Емкостная иммуносенсорика – это новый метод обнаружения изменений электрической емкости посредством обнаружения связи между зондом, иммобилизованным на поверхности электрода, и подвешенной мишенью.

Панели с многократными обнаружениями биомаркеров заболеваний для определения риска конкретного заболевания более надежны, чем обнаружение одного биомаркера для одного и того же заболевания.

Емкостные элементы обычно отражают поведение молекул на границе электрод-электролит, что может предоставить важную информацию о характере, количестве, размерах и скорости связывания зонд-мишень (в нашем случае антитело-антиген).

Электрическая емкость плоского конденсатора, содержащего N слоев изолятора, при соответствующей площади поверхности электродов A (площадь одной линии в плоскости XY (см. рис.1)), толщинах d_i и диэлектрических проницаемостях ϵ_i i -ых слоев определяется как

$$C = \frac{\epsilon_0 A}{\sum_{i=1}^N (d_i / \epsilon_i)}. \quad (2)$$

Здесь $\epsilon_0 = 8.85 \times 10^{-12}$ Ф/м – диэлектрическая проницаемость вакуума.

Предполагая, что антитела со своими платформами полностью покрывают всю поверхность данной линии, представим их как дополнительный изолирующий слой на оксидном слое. Так как антитела не создают сплошную среду, и между ними на линии будут области водного раствора, то этот слой «изолятора» будем описывать средней диэлектрической проницаемостью. Заметим, что диэлектрическая проницаемость водного раствора с РН7 величина того же порядка что и диэлектрическая проницаемость большинства антител. Поэтому среднюю диэлектрическую проницаемость слоя антител со своими платформами примем равным диэлектрической проницаемости антител ϵ_{Ab} . Тогда емкость плоского конденсатора с двухслойным диэлектриком (слои SiO_2 и Ab), с диэлектрическими проницаемостями каждого слоя ϵ_i и ϵ_{Ab} и соответствующими толщинами, равными d_i и d_{Ab} , будет определяться следующим выражением:

$$C_{Ab} = \frac{\epsilon_0 A}{d_i / \epsilon_i + d_{Ab} / \epsilon_{Ab}} = \frac{\epsilon_0 \epsilon_i \epsilon_{Ab} A}{d_i \epsilon_{Ab} + d_{Ab} \epsilon_i}. \quad (3)$$

На следующем этапе, предполагая, что антитела полностью захватываются Ag /вирусами, будем считать, что вирусы также образуют сплошной и плотный изолирующий третий слой на слое антител. Это дополнительный 3-й слой изолятора на полупроводниковой подложке (рис.2). Тогда емкость плоского конденсатора с трехслойным диэлектриком (слои SiO_2 , антител и вирусов) с диэлектрическими проницаемостями ϵ_i , ϵ_{Ab} и ϵ_{Ag} каждого слоя и соответствующими толщинами, равными d_i , d_{Ab} и d_{Ag} , будет определяться выражением:

$$C_{Ab-Ag} = \frac{\epsilon_0 A}{d_i / \epsilon_i + d_{Ab} / \epsilon_{Ab} + d_{Ag} / \epsilon_{Ag}} = \frac{\epsilon_0 \epsilon_i \epsilon_{Ab} \epsilon_{Ag} A}{d_i \epsilon_{Ab} \epsilon_{Ag} + d_{Ab} \epsilon_i \epsilon_{Ag} + d_{Ag} \epsilon_i \epsilon_{Ab}}. \quad (4)$$

Заметим, что значения d_{Ab} , ϵ_{Ab} и d_{Ag} , ϵ_{Ag} могут принимать разные значения для разных вирусов. Предполагается, что площади поверхности голой линии, слоев антител и вирусов одинаковы и равны A .

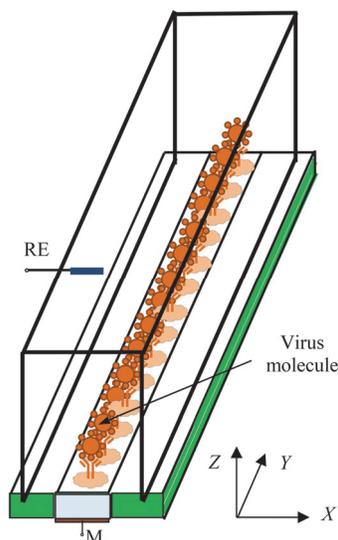


Рис.2. Схематическое изображение иммуносенсора на основе EIS для одного типа вируса и используемая система координат.

3.2. Относительная емкостная чувствительность

Безразмерную относительную емкостную чувствительность S иммуносенсора можно определить как изменение емкости иммуносенсора ΔC после иммобилизации антител и вирусов:

$$S = \frac{\Delta C}{C_B} = \frac{C_B - C_{Ab-Ag}}{C_B} = \frac{d_{Ab}\varepsilon_i\varepsilon_{Ag} + d_{Ag}\varepsilon_i\varepsilon_{Ab}}{d_i\varepsilon_{Ab}\varepsilon_{Ag} + d_{Ab}\varepsilon_i\varepsilon_{Ag} + d_{Ag}\varepsilon_i\varepsilon_{Ab}}. \quad (5)$$

Относительная емкостная чувствительность биосенсора не зависит от площади поверхности линий, а зависит от параметров диэлектрического слоя (слоев), диэлектрической проницаемости и размеров антител и вирусов.

3.3. Влияние концентрации вируса

Обозначим через A'_V среднюю площадь поперечного сечения одного вируса в плоскости XY (рис.1), через A_V – суммарную площадь поверхности всех вирусов данного конкретного вида в линии, через n – количество молекул данного типа вируса в водном растворе, захваченных соответствующими антителами. В этом случае можно написать:

$$A_V = nA'_V \approx A,$$

а зависимость емкости от количества вирусов определенного типа n будет иметь вид

$$C_{Ab-Ag}(n) \approx \frac{\varepsilon_0 A_V}{d_i/\varepsilon_i + d_{Ab}/\varepsilon_{Ab} + d_{Ag}/\varepsilon_{Ag}}, \quad (6)$$

так как эффективная поверхность электродов конденсатора A теперь становится равной общей площади поперечного сечения вирусов A_V . По мере увеличения количества вирусов увеличивается и емкость датчика.

4. Типы распространенных вирусов и их параметры

Ниже приведены данные о размерах и диэлектрических проницаемостях некоторых распространенных типов вирусов.

Вирусы гриппа А классифицируются по подтипам на основе свойств их поверхностных белков гемагглютинина (Н) и нейраминидазы (N). Существует 18 различных подтипов НА и 11 различных подтипов NA. Частицы вируса гриппа имеют размер 80–120 нм в диаметре [24,25]. Диэлектрическая проницаемость подтипов НА составляла $\varepsilon = 51-55$, а для подтипов NA $\varepsilon = 61-65$ в диапазоне частот 2.4–3 ГГц [26]. По данным [25] вероятный диаметр частиц около 70 нм.

Аденовирусы (AV) представляют собой безоболочечные вирусы среднего размера (90–100 нм) с икосаэдрическим нуклеокапсидом, содержащим геном дцДНК. Измеренные значения удельных емкостей AV5 в диапазоне частот переменного тока $10 - 10^4$ Гц близки к 10^{-6} Ф/см² [27]. По этому значению можно рассчитать диэлектрическую проницаемость. Как известно, удельная емкость определяется как

$$C \equiv 10^{-6} \frac{F}{\text{cm}^2} = \frac{\varepsilon\varepsilon_0}{d}.$$

Подставляя сюда $d = 100$ нм, находим $\varepsilon = 113$.

Вирусы простого герпеса 1 и 2 (HSV1, HSV2) имеют размер 170 ± 20 нм [27]. Измеренные значения емкостей HSV-1 в диапазоне частот переменного тока

$10 - 10^4$ Гц близки к 10^{-6} Ф/см² [27]. Мутация на капсиде вируса HSV1 с зелеными флуоресцентными белками увеличивала емкость с 9×10^{-6} Ф/см² до 10^{-5} Ф/см² на частоте 10^4 Гц [27]. Принимая $C \approx 10^{-6}$ Ф/см², находим $\varepsilon = 192$.

Вирус гепатита С (HCV) представляет собой небольшой (размером 55–65 нм) оболочечный вирус с положительной смысловой РНК [28,29]. Частицы HCV имеют сферическую форму и гетерогенный размер, как правило, в диапазоне 40–80 нм в диаметре [30]. По данным [31] диэлектрическая проницаемость очень высока и равна 3250–5800 вплоть до частот (0.1–1) ГГц.

Вирус иммунодефицита человека 1 (HIV-1) является одним из двух типов HIV. Вирус имеет диаметр около 120 нм [32]. Как отмечено в работе [33], подходящий диапазон внутренней диэлектрической проницаемости составляет 1.4–1.6 (или 1.8–2.0).

Обезьяний вакуолизирующий вирус 40 (SV40) представляет собой ДНК-вирус, который может вызывать опухоли у животных, но чаще всего персистирует в виде латентной инфекции. Размер 55 ± 3 нм [27]. Измеренные значения емкостей в диапазоне частот $10 - 10^4$ Гц близки к 10^{-6} Ф/см² [27]. Тогда $\varepsilon = 62.5$.

Мимивирус имеет диаметр капсида 400–500 нм и общий диаметр частиц, включая отходящие от капсида волокна, примерно 750 нм [34]. Измеренные значения диэлектрической проницаемости равны 4–16 [34].

COVID-19 вирус. Выделенные вирусы могут иметь диаметр от 20 нм до 500 нм. Помимо сферических вирусных частиц, таких как SARS-CoV-2, длина палочковидных или нитевидных вирусов может достигать 1000 нм [35]. Измеряемое значение диэлектрической проницаемости изменяется от 35 до 65 в диапазоне частот до 12 ГГц [36].

5. Типы антител и их параметры

Антитела представляют собой большие сложные белки. Обычно макромолекула рассматривается как среда с низкой диэлектрической проницаемостью, а водная фаза моделируется как однородная среда с диэлектрической проницаемостью 80. Белки представляют собой чрезвычайно сложные молекулы. Определяемые как гетерополимеры аминокислот, они содержат смесь нейтральных, полярных и заряженных боковых цепей. Вирус представляет собой небольшой набор генетического кода, ДНК или РНК, окруженный белковой оболочкой. Вирусы не могут размножаться в одиночку. Они должны заражать клетки и использовать компоненты клетки-хозяина для создания своих копий. Часто они убивают клетку-хозяина в процессе и наносят ущерб организму-хозяину. Диаметр большинства вирусов варьируется от 20 нм до 250–400 нм, однако самые большие имеют диаметр около 500 нм и длину около 700–1000 нм. Любое определение размера вируса также должно учитывать его форму, поскольку разные классы вирусов имеют различную форму. Например, типичное антитело иммуноглобулина G (IgG) имеет следующие размеры: высота 8.5 нм, ширина 14.4 нм и толщина 4 нм [37]. Анализ большого набора белков показывает, что средняя диэлектрическая проницаемость внутри белка относительно низкая, около 6–7, и достигает значения около 20–30 на поверхности белка [38]. Средняя диэлектрическая проницаемость имеет определенное распределение в зависимости от

расстояния от центра масс белка. Наиболее часто используемое значение диэлектрической проницаемости для белков составляет $\epsilon = 4$, что, как полагают, объясняет электронную поляризацию и небольшие флуктуации остова [39]. Однако сообщалось и о более высоких значениях, таких как $\epsilon = 8$ [40], $\epsilon = 10$ [41], $\epsilon = 11$ [42] и $\epsilon = 20$ [43].

Для SARS-CoV-2 средняя диэлектрическая проницаемость на границе белок–вода составляет около 20–30 [44]. Для COVID-19 средний размер шиповидного белка составляет от 10 до 20 нм, а характерная высота частиц после блокировки BSA (бычий сывороточный альбумин) составляет 4.59 ± 1.75 нм [44]. Высота белковых частиц увеличивается до 8.17 ± 1.77 нм, что подтверждает связывание антитела с антигеном. Высота комплекса антиген–антитело составляет около 6.3 нм.

6. Численное моделирование для COVID-19

Предположим, что размеры иммуносенсора таковы, что на одной чувствительной линии можно иммобилизовать антитела в количестве $n = 100000$ (см. рис.2). Предположим также, что площадь поперечного сечения вирусов $A'_v = 300$ нм \times 300 нм. Тогда $A_v = nA'_v = 9 \times 10^{-5}$ см². Диэлектрические проницаемости изолирующих слоев следующие: $\epsilon_{SiO_2} = 3.8$, $\epsilon_{Si_3N_4} = 6$. Имеем также следующие параметры: $\epsilon_{Ab} = 35 - 65$ [36], принимаем $\epsilon_{Ab} \approx 50$; $\epsilon_{Ag} = 20 - 30$ [45], $\epsilon_{Ag} \approx 25$; $d_{Ab} = 20 - 500$ нм [35], $d_{Ab} \approx 200$ нм; $d_{Ag} = 8.17 \pm 1.77$ нм [44] и $d_{Ag} \approx 8$ нм.

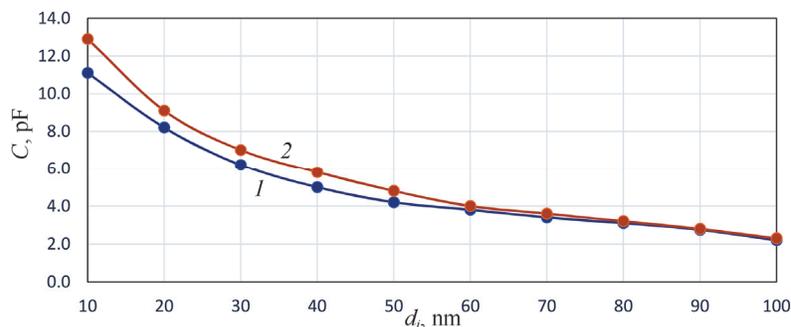


Рис.3. Зависимость емкости от толщины слоя изолятора для вируса COVID-19 для разных слоев изолятора: 1 – SiO₂, 2 – Si₃N₄.

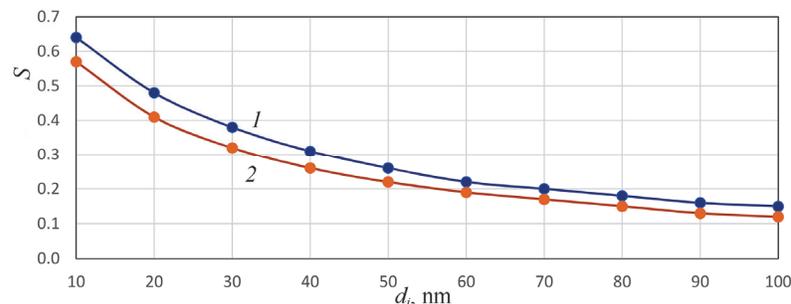


Рис.4. Зависимость безразмерной емкости чувствительности от толщины слоя изолятора для вируса COVID-19 для разных слоев изолятора: 1 – SiO₂, 2 – Si₃N₄.

Ниже, на рис.3–6, представлены зависимости емкостей и емкостной чувствительности от толщины слоя изолятора и концентрации вирусов для COVID-19 согласно формулам (4) –(6).

Емкость C_{Ab-Ag} и безразмерная емкостная чувствительность S уменьшались с увеличением толщины диэлектрического слоя d_i . Очевидно, чем больше изменение емкости после прикрепления вирусов к антителам (т. е. больше изменение ΔC), тем выше чувствительность.

Емкость предлагаемого иммуносенсора линейно возрастает с увеличением концентрации вирусов в водном растворе (рис.5,6). Понятно, что это повышает точность измерений.

7. Заключение

Рассчитана электрическая емкость иммуносенсора многоразового использования, содержащего как слои изолятора с различной диэлектрической проницаемостью, так и линии исследуемых неизвестных вирусов. Проведен подробный анализ физических размеров и диэлектрической проницаемости наиболее распространенных вирусов. Получены формулы для емкости и емкостной чувствительности EIS иммуносенсоров. Выявлены зависимости емкости от размеров, концентрации и диэлектрической проницаемости исследуемых антител и вирусов. Отметим, что использование предлагаемого метода полностью оправдано

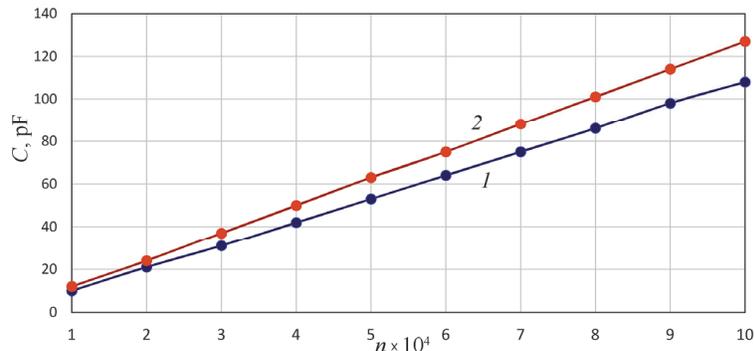


Рис.5. Зависимость емкости от концентрации вируса COVID-19 для разных слоев диэлектрика при $d_i = 10$ нм: 1 – SiO₂, 2 – Si₃N₄.

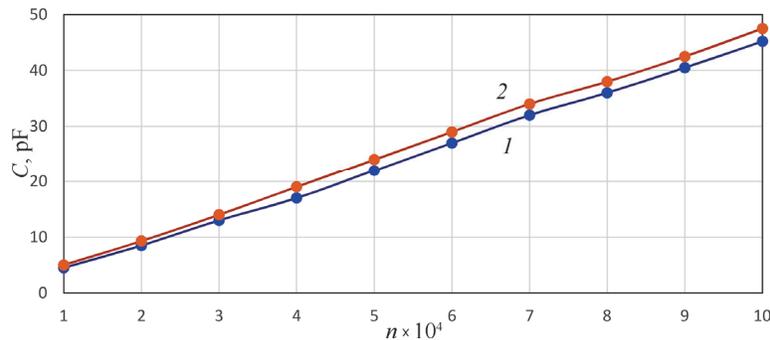


Рис.6. Зависимость емкости от концентрации вируса COVID-19 для разных слоев диэлектрика при $d_i = 50$ нм: 1 – SiO₂, 2 – Si₃N₄.

для определения вида вирусов, но не для точного определения концентрации вирусов. Последнее ограничивается размером чувствительных «линий» и количеством иммобилизованных на них антител. Метод применим для случаев низких концентраций вирусов вплоть до «насыщения» антителами.

Результаты численного моделирования биосенсорной панели многоцветного обнаружения на основе EIS, проведенной для случая вирусов COVID-19, показывают, что: емкость биосенсоров на основе EIS с тремя изолирующими слоями: (а) принимает значения порядка пикофарад (пФ), которые легко измеряются; (б) снижается с увеличением толщины слоя изолятора при постоянных значениях толщин антител и антиген/вирусов; (в) увеличивается с увеличением диэлектрической проницаемости слоя SiO₂ при постоянных значениях диэлектрических проницаемостей антител и вирусов. Это означает, что должны использоваться диэлектрики с высокой диэлектрической проницаемостью; (г) линейно возрастает с увеличением концентрации вирусов, что позволяет легко и с высокой точностью определять концентрацию вирусов в водном растворе.

Сравнивая измеренные значения емкости с нормированными табличными значениями для каждого отдельного вируса, можно идентифицировать тип неизвестного вируса в водном растворе. Емкостная чувствительность иммуносенсора снижается с увеличением диэлектрической проницаемости и толщины диэлектрического слоя SiO₂.

Для повторного использования предлагаемой конструкции необходимо очистить антитела от связанных с ними вирусов. Аффинная хроматография представляет собой эффективный метод разделения антител, антигенов и белков, основанный на взаимодействии между специфическими иммобилизованными лигандами и целевыми антителами, антигенами и т.д. Популяции доступных лигандов можно использовать для разделения антител или их Fab-фрагментов. Точно так же антигены можно выделить с помощью иммуноаффинной хроматографии (IAC) на иммобилизованных антителах с низким сродством [46]. Все виды очистки и выделения антител и антиген с использованием IAC, в том числе очистка антител с использованием иммобилизованных и синтетических белков-миметиков А, G и L, высвобождение антигенов иммобилизованными антителами подробно обсуждается в работе [46]. В работах [47, 48] обсуждаются вспомогательные аффинные матрицы и лиганды для аффинной хроматографии, включая основные принципы использования, их потенциальную ценность и эффективность при очистке различных типов антител.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Комитета по науке РА в рамках научного проекта №21AG-2B011.

ЛИТЕРАТУРА

1. **I.E. Tothill.** *Sem. Cell Dev. Biol.*, **20**, 55 (2009).
2. **A. Lambrianou, S. Demin, E.A.H. Hall.** *Adv Biochem Engin/Biotechnol.*, **109**, 65 (2008).
3. **B.B. Haab.** *Mol. Cell. Proteomics*, **4**, 377 (2005).
4. **B.M. de Boer, J.A.H.M. Kahlman, T.P.G.H. Jansen, H. Duric, J. Veen.** *Biosens. Bioelectron.*, **22**, 2366 (2007).
5. **D. Tang, R. Yuan, Y. Chai.** *Anal. Chem.*, **80**, 1582 (2008).
6. **Y.N. Yang, H.I. Lin, J.H. Wang, S.-C. Shiesh, G.-B. Lee.** *Biosens. Bioelectron.*, **24**, 3091

- (2009).
7. **A. Qureshi, J.H. Niazi, S. Kallemputi, Y. Gurbuz.** *Biosens. Bioelectron.*, **25**, 2318 (2010).
 8. **H.R. Hill, T.B. Martins.** *Methods*, **38**, 312 (2006).
 9. **O.A. Sadik, A.O. Aluoch, A. Zhou.** *Biosens. Bioelectron.*, **24**, 2749 (2009).
 10. **J.G. Kirkwood, J.B. Shumaker.** *Chemistry*, **38**, 855 (1952).
 11. **R. Pethig, D.B. Kell.** *Phys. Med. Biol.*, **32**, 933 (1987).
 12. **C. Tiede, R. Bedford, S.J. Heseltine, et al.** (43 more authors). *eLife*, **6**, e24903 (2017).
 13. **S. Weiss, P. Millner, A. Nelson.** *Electrochim. Acta*, **50**, 4248 (2005).
 14. **J. Leva-Bueno, S.A. Peyman, P. Millner.** *Medical Microbiology and Immunology*, **209**, 343 (2020).
 15. **M.Z. Rashed, J.A. Kopechek, M.C. Priddy, K.T. Hamorsky, K.E. Palmer, N. Mittal, J. Valdez, J. Flynn, S.J. Williams.** *Biosens. Bioelectron.*, **171**, 112709 (2021).
 16. **M. Shevtsov, L. Zhao, U. Protzer, M.A.A. van de Klundert.** *Viruses*, **9**, 193 (2017).
 17. **F. Li, Y. Feng, P. Dong, B. Tang.** *Biosens. and Bioelectron.*, **25**, 2084 (2010).
 18. **C.-C. Chen, Z.-L. Lai, G.-J. Wang, C.-Y. Wu.** *Biosens. and Bioelectron.*, **77**, 603 (2016).
 19. **M. Shourian, H. Ghourchian, M. Boutorabi.** *Anal. Chim. Acta*, **895**, 1 (2015).
 20. **A. Moreno, D. Lelli, E. Brocchi, E. Sozzi, L.J. Vinco, G. Grilli, P. Cordioli, J. Virol. Methods**, **187**, 424 (2013).
 21. **M. Al Ahmad, F. Mustafa, L.M. Ali, T.A. Rizvi.** *Sci. Rep.*, **4**, 6831 (2014).
 22. **M. Al Ahmad, F. Mustafa, L.M. Ali, J.V. Karakkat, T.A. Rizvi.** *Sci Rep.*, **5**, 9809 (2015).
 23. **S. Nisha, A.S. Karthick, N. Gobi.** *Che. Sci. Rev. Lett.*, **1**, 148 (2012).
 24. **J. Vajda, D. Weber, D. Brekel, B. Hundt, E. Müller.** *Chromatography A*, **1465**, 117 (2016).
 25. **W.M. Stanley.** *J. Exp. Med.*, **79**, 267 (1944).
 26. **A. Lonappan.** *J. Biomedical Science and Engineering*, **5**, 476 (2012).
 27. **R.I. MacCuspie, N. Nuraje, S.-Y. Lee, A. Runge, H. Matsui.** *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 887 (2008).
 28. **J. Dubuisson, F.L. Cosset.** *Hepatology*, **61**, S3 (2014).
 29. **M. Kaito, S. Ishida, H. Tanaka, S. Horiike, N. Fujita, Y. Adachi, M. Kohara, M. Konishi, S. Watanabe.** *Medical Molecular Morphology*, **39**, 63 (2006).
 30. <https://www.hepatitisc.uw.edu/biology/structure>
 31. **D.M. Beltagy, Y.I. Khedr, A.-H.A. Sakr.** *J. App. Pharm. Sci.*, **10**, 105 (2020).
 32. **G. Gemila, D. Esteban-Ferrer, L. Fumagalli.** *Nanotechnology*, **24**, 505713 (2013).
 33. **Y. Li, Y. Cong, G. Feng, G. Feng, S. Zhong, J.Z.H. Zhang, H. Sun, L. Duan.** *Struct. Dyn.*, **5**, 064101 (2018).
 34. **D.R. Wessner.** *Nature Education*, **3**, 61 (2010).
 35. **B. Cuffari.** <https://www.news-medical.net/health/The-Size-of-SARS-CoV-2-Compared-to-Other-Things.aspx>.
 36. **Y.I. Abdulkarim, H.N. Awl, F.F. Muhammadsharif, K.R. Sidiq, S.R. Saeed, M. Karaaslan, S. Huang, H. Luo, L. Deng.** arXiv:2009.08862 [physics.app-ph].
 37. [https://www.google.com/search?q=sizes+of+the+immunoglobyn+G+\(IgG\)&oq=sizes&aqs=chrome.69i59j69i57j0i512l8.4632j0j7&sourceid=chrome&ie=UTF-8](https://www.google.com/search?q=sizes+of+the+immunoglobyn+G+(IgG)&oq=sizes&aqs=chrome.69i59j69i57j0i512l8.4632j0j7&sourceid=chrome&ie=UTF-8).
 38. **L. Li, C. Li, Z. Zhang, E. Alexov.** *J. Chem. Theory Comput.*, **9**, 2126 (2013).

39. **M.K. Gilson, B. Honig.** Proteins: Struct., Funct., Bioinf., **4**, 7 (2004).
40. **M. Gunner, X. Zhu, M.C. Klein.** Struct., Funct., Bioinf., **79**, 3306 (2011).
41. **J. Warwicker.** Struct., Funct., Bioinf., **79**, 3374 (2011).
42. **V.Z. Spassov, L. Yan.** Protein Sci., **17**, 1955 (2009).
43. **J. Antosiewicz, J.A. McCammon, M.K. Gilson.** J. Mol. Biol., **238**, 415 (1994).
44. **H. Liu, A. Yang, J. Song, N. Wang, P. Lam, Y. Li, H. K.-W. Law, F. Yan.** Science Advances, **7**, 38 (2021).
45. **B. Luan, T. Huynh.** J. Med. Chem., **65**, 2820 (2022).
46. **S. Sheng, F. Kong.** Pharm. Biol., **50**, 1038 (2012).
47. **B.V. Ayyar, S. Arora, C. Murphy, R. O'Kennedy.** Methods., **56**, 116 (2012).
48. **S.J. Park, S.H. Cha, G.A. Shin, Y.H. Ahn.** Opt. Express, **8**, 3551 (2017).

ԷԼԵԿՏՐԱԼԻՏ-ՄԵԿՈՒՄԻՉ-ԿԻՍԱՀԱՂՈՐԴԻՉ ԿԱՌՈՒՑՎԱԾՔՆԵՐԻ ՎՐԱ
ՀԻՄՆՎԱԾ ՈՒՆԱԿԱՅԻՆ ԻՍՈՒՆԱՍԵՆՍՈՐՆԵՐ

Ֆ.Վ. ԳԱՍՊԱՐՅԱՆ, Վ.Վ. ՍԻՄՈՆՅԱՆ, Լ.Ֆ. ԳԱՍՊԱՐՅԱՆ

Ներկայացված են էլեկտրալիտ-դիէլեկտրիկ-կիսահաղորդչային (EIS) կառուցվածքի հիման վրա ստեղծվող բազմակի օգտագործման ունակային իմունոսենսորների էլեկտրաֆիզիկական բնութագրերի մոդելավորման արդյունքները: Միասնական տեսանկյունից հավաքվել և դասակարգվել են ամենատարածված վիրուսների վերաբերյալ եղած էլեկտրաֆիզիկական և երկրաչափական տվյալները: Ներկայացված և վերլուծված են COVID-19 վիրուսի համար բազմակի օգտագործման EIS իմունոսենսորների ունակության և ունակային զգայնության տեսական հաշվարկների արդյունքները:

CAPACITIVE IMMUNOSENSORS BASED ON STRUCTURES
ELECTROLYTE-INSULATOR-SEMICONDUCTOR

F.V. GASPARYAN, V.V. SIMONYAN, L.F. GASPARYAN

The results of modeling the electrophysical characteristics of reusable capacitive immunosensors based on the electrolyte-dielectric-semiconductor (EIS) structure are presented. Electrophysical and geometrical data on the most common viruses are collected and classified from a unified point of view. The results of theoretical calculations of the capacitance and capacitive sensitivity of multiple use EIS immunosensors for COVID-19 viruses are presented and analyzed.