

Создание оптического Label-Free биосенсора на основе анодных оксидов ниобия и тантала

Богданов Е. А.

Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники
Минск, Республика Беларусь

Гога У.Е. – аспирант

Позняк А.А. – канд. физ.-мат. наук, доцент

В данной работе рассмотрена возможность функционализации наноструктур на основе анодных оксидов ниобия и тантала с целью последующего их использования в качестве оптического биосенсора на примере системы биотин-стрептавидин.

Наноструктуры на основе анодных оксидов вентильных металлов являются перспективной платформой для биосенсинга [1]. Благодаря развитой поверхности и свойствам 2D-фотонных кристаллов они чувствительны к минимальным концентрациям биомолекул.

Синтез наноструктур с подходящей морфологией. Для использования наноструктуры в качестве основы для биосенсора, необходимо максимально увеличить площадь поверхности для повышения чувствительности и уменьшения габаритов получаемого биосенсора. Также наноструктуры должны были обеспечивать достаточное межколонное пространство для проникновения биомолекул и реализации их биоспецифических взаимодействий. Режим анодирования для получения оптимальной структуры был выбран на основе анализа литературных данных, предыдущих исследований и моделирования оптических свойств [2].

Протокол поверхностной модификации

1. Первичная модификация поверхности. Среди всех известных методов первичной модификации оксидных поверхностей для использования в данной работе выбрали метод силанизации. Альтернативный метод с использованием перфторфенилазида (*PFPA*) был отклонен ввиду необходимости применения жесткого УФ-облучения и его преимущественного применения для инертных поверхностей [3]. Основными преимуществами метода силанизации является образование прочных ковалентных связей с оксидной поверхностью, насыщенной гидроксильными группами, и, как следствие, высокая устойчивость в сравнении с другими вариантами модификации. Также такой метод дает возможность ковалентного связывания молекулы аналита, что обеспечивает устойчивость будущего биосенсора в агрессивных биологических средах. Выбор (3-хлорпропил)трихлорсилана (рис. 1) обусловлен его высокой реакционной способностью в безводных средах.

После силанизации поверхность была модифицирована азидными группами (рис.1), т.к. поверхностные азидные группы представляют собой удобный способ получения различных нанобиосопрежений в мягких условиях с использованием клик-химических реакций.

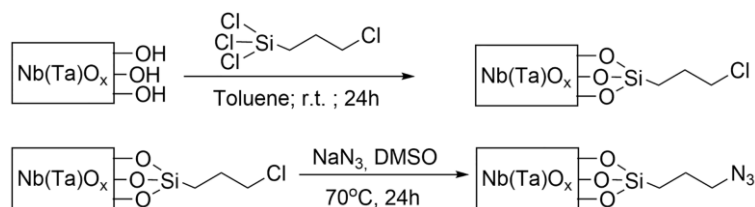


Рисунок 1 – Схема, иллюстрирующая силанизацию и последующую азидную модификацию наноколонн оксидов ниобия и тантала

2. Оценка поверхностной загрузки функциональных групп. Для оценки плотности активных функциональных групп вместо общего термogravиметрического метода [4] использован селективный метод «расщепляемых зондов» [5] (рис. 2). Для количественного определения поверхностной загрузки азидных групп (их количества на единицу площади) была использована Cu-катализируемая клик-реакция с *DMT* (диметокситриил)-бутиниолом. Использование *DMT*-фрагмента в качестве оптического индикатора позволяет надежно определять плотность азидных групп благодаря количественному выходу реакции. Схема прошедших реакций (рис. 2). Результаты количественной оценки можно увидеть в таблице 1.

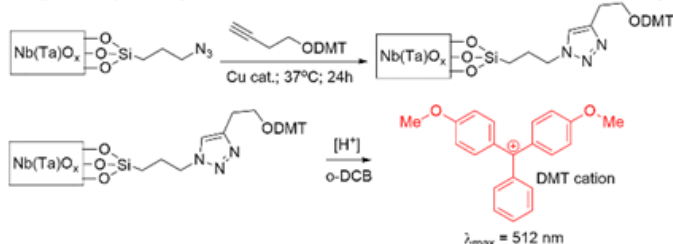


Рисунок 2 – Схема клик-реакции *DMT*-бутиниола на поверхности наноколонн с последующим фотометрическим количественным определением поверхностных функциональных групп

Таблица 1 – Количественная оценка функционализации структур на основе оксидов ниобия и тантала.

Тип наностолбиков	Оптическая плотность (DMT+)	Площадь образца, см ²	Загрузка поверхности функциональными группами, нм ⁻²
NbO _x	0,22±0,02	0,61±0,02	0,89±0,11
TaO _x	0,17±0,01	0,99±0,03	0,88±0,09

3. Модификация поверхности биотином. Повторная азидная модификация поверхности обеспечила загрузку групп $0,39 \pm 0,04 \text{ нм}^{-2}$ для NbO_x и $0,56 \pm 0,07 \text{ нм}^{-2}$ для TaO_x. Последующая модификация поверхности биотином по схеме (рис. 3) позволила достичь загрузки $0,41 \pm 0,02 \text{ нм}^{-2}$ для NbO_x и $0,29 \pm 0,01 \text{ нм}^{-2}$ для TaO_x. Биоактивность биотина подтверждена связыванием со стрептавидин-пероксидазой хрена: ферментативное окисление *ТМВ* (3,3',5,5'-тетраметилбензидин) доказало специфичность взаимодействия.

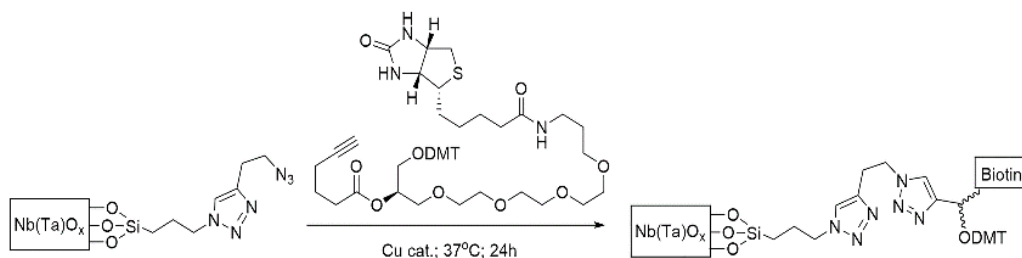


Рисунок 3 – Схема функционализации поверхности биотином

Оптический отклик полученного биосенсора. Далее был изучен отклик ранее модифицированных наноструктур по отношению к молекуле стрептавидина при изменении угла падения и значения *pH* раствора. Наибольшим смещением пика, равным 9 нм, на спектре отражения характеризовался раствор при *pH* = 6,6 и угле падения 25° (рис. 4). Данный результат примечателен тем, что может быть зафиксирован доступным лабораторным спектрофотометром.

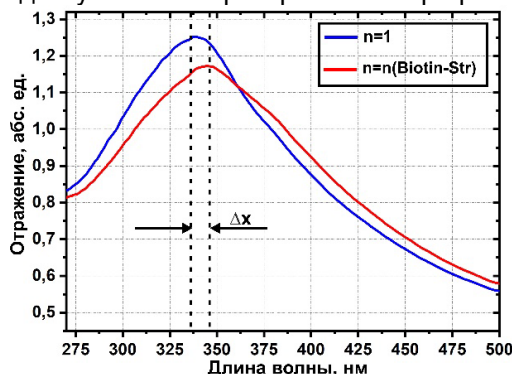


Рисунок 4 – Оптический отклик биосенсора

Заключение. В работе изучена возможность создания *label-free* биосенсоров на основе оксидов вентильных металлов. Предложенный протокол модификации с применением силан-азидной химии и метода «расщепляемых зондов» позволяет рассчитывать плотность функциональных групп. Продемонстрированная функционализация биотином и зафиксированный оптический отклик подтверждают перспективность использования данных наноструктур в качестве платформы для биосенсинга.

Список использованных источников:

1. Pligovka, A. *Optical Properties of Porous Alumina Assisted Niobia Nanostructured Films* / A. Pligovka, A. Poznyak, M. Norek // *Micromachines*. – 2021. – Vol. 12, № 6. – P. 589.
2. *Formation-Structure-Properties of Niobium-Oxide Nanocolumn Arrays via Self-Organized Anodization* / A. Mozalev, R. M. Vázquez, C. Bittencourt (et al.) // *J. Mater. Chem. C*. – 2014. – Vol. 2, № 24. – P. 4847–4860.
3. Liu, L.-H. *Perfluorophenyl Azides: New Applications in Surface Functionalization and Nanomaterial Synthesis* / L.-H. Liu, M. Yan // *Acc. Chem. Res.* – 2010. – Vol. 43, № 11. – P. 1434–1443.
4. *Quantification of surface functional groups on silica nanoparticles: comparison of TGA and NMR* / F. Kunc, V. Balhara, Y. Sun (et al.) // *Analyst*. – 2019. – Vol. 144, № 18. – P. 5589–5599.
5. *Analyzing the surface of functional nanomaterials — how to quantify the number of functional groups* / D. Geißler, N. Nirmalanathan-Budau, L. Scholtz (et al.) // *Microchim. Acta*. – 2021. – Vol. 188, № 9. – P. 321.