

ЗАТВЕРДЖУЮ

В.о. директора Інституту фізики напівпровідників

ім. В.Є. Лашкарьова НАН України

д. ф.-м. н., професор

В.П. Мельник

ГНБ

(підпис)

М.П.



АНОТОВАНИЙ ЗВІТ

**про виконану роботу в рамках реалізації проєкту
із виконання наукових досліджень і розробок**

**2020.01/ 0504 Молекулярно-напівпровідникові наноструктуровані електроди для
імпедіометричних ДНК-сенсорів**

(заключний)

Назва конкурсу: Наука для безпеки людини та суспільства

Реєстраційний номер Проєкту: 214/01.2020 від 10.11.2020

Підстава для реалізації Проєкту з виконання наукових досліджень і розробок (реєстраційний номер та назва Проєкту) 214/01.2020 від 10.11.2020 „Молекулярно-напівпровідникові наноструктуровані електроди для імпедіометричних ДНК-сенсорів”

Рішення наукової ради Національного фонду досліджень України щодо визначення переможця конкурсу Наука для безпеки людини та суспільства

протокол від « 16-17 » « вересня » 2020 року № 21

1. ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ ПРО ПРОЄКТ

Тривалість виконання Проєкту

Початок – дата укладання Договору про виконання наукових досліджень і розробок: 20.11.2020

Закінчення – 15.12.2021.

Загальна вартість Проєкту, грн. 6 213 800,00 (шість мільйонів двісті тринадцять тисяч вісімсот гривень, нуль копійок)

Вартість Проєкту по роках, грн.:

1-й рік 1 650 000,00 (один мільйон шістсот п'ятдесят тисяч гривень, нуль копійок)

2-й рік 4 563 800,00 (чотири мільйони п'ятсот шістдесят три тисячі вісімсот гривень, нуль копійок)

3-й рік 0,00 (нуль гривень, нуль копійок)

2. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ВИКОНАВЦІВ ПРОЄКТУ

до виконання Проєкту було залучено 12 виконавців, з них:

доктори наук 3;

кандидати наук 5;

інші працівники 4.

3. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ГРАНТООТРИМУВАЧА ТА ОРГАНІЗАЦІЇ СУБВИКОНАВЦІВ ПРОЄКТУ

Грантоотримувач - Інститут фізики напівпровідників ім.В.Є.Лашкарьова НАН України

Субвиконавці 1. Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, 2. Інститут фізики НАН України

4. ОПИС ПРОЄКТУ

4.1. Мета Проєкту

Створення нових молекулярно-напівпровідникових матеріалів та технологій виготовлення електрохімічних електродів і методик спектроскопії електричного імпедансу для селективних ДНК-сенсорів

4.2. Основні завдання Проєкту

Виготовлення наноструктурованих електродів двох типів: у формі мікродропу з масивом нанониткових кристалів CdS на його поверхні та у вигляді поруватого шару оксиду титану на титані. Біофункціоналізація електродів відповідними олігонуклеотидами. Створення біосенсорної платформи і розв'язання фундаментальних проблем створення подібних сенсорів ДНК

4.3. Детальний зміст Проєкту:

- Сучасний стан проблеми

Створення нанобіосенсорних технологій і нових біонаноструктурованих матеріалів, здатних розпізнавати біологічні маркери генетичних та інфекційних захворювань суттєво поліпшать умови для швидкої діагностики і лікування багатьох патологій. Детектування специфічних послідовностей ДНК методом спектроскопії електричного імпедансу є ефективним методом реєстрації факту гібридизації.

- Новизна Проєкту

Запропоновано нові дешеві технології виготовлення і контролю властивостей щіткоподібних або поруватих наноструктурованих напівпровідникових електродів, що можуть масово вироблятися в Україні та бути універсальною основою для виготовлення високоінформативних ДНК-сенсорів. Функціоналізація такого електроду олігонуклеотидами забезпечить селективність гібридизації з цільовою ДНК.

- Методологія дослідження

Використання принципово нових електродів з розвиненою поверхнею у вигляді наноструктурованих молекулярно-напівпровідникових систем для електрохімічної імпедансної спектроскопії має вирішити декілька проблем одночасно: збільшення поверхні електродів, здешевлення виготовлення завдяки використанню методів «знизу-вгору», реалізувати можливість резонансно підвищити чутливість імпедіометрії.

5. ОТРИМАНІ НАУКОВІ АБО НАУКОВО-ТЕХНІЧНІ РЕЗУЛЬТАТИ в рамках реалізації Проєкту, зокрема:

5.1. Опис наукових або науково-технічних результатів, отриманих в рамках виконання Проєкту (із зазначенням їх якісних та кількісних (технічних) характеристик)

Розроблені нові наноструктуровані напівпровідникові матеріали електродів для електрохімічних імпедіометричних сенсорів ДНК:

вуглецеві волокна або золоті мікродропи з вирощеними на їх поверхні нанокристаллами CdS у вигляді призм (діаметром від 70 нм до 450 нм, довжиною від 0,4 мкм до 12 мкм, відстанню від 100 нм до 400 нм);

електроди з титанової фольги з поверхневим шаром наноструктурованого оксиду титану (поверхня у вигляді квазірегулярних наноколодязів діаметром від 30 нм до 50 нм, глибиною від 0,3 мкм до 12 мкм, відстанню від 70 нм до 100 нм) .

Структурні та геометричні характеристики електродів з нанокристаллами CdS були досягнуті в результаті реалізації процесу росту нанокристалів - хімічного осадження з газової фази при температурі від 400 С до 720 С в вакуумі.

Розроблено методику виготовлення шару наноструктурованого оксиду титану на поверхні титанової фольги в процесі контрольованого окислення на аноді в органічному електроліті. Протестовано плазмові методику додаткової обробки поверхні електродів.

Морфологію всіх типів електродів досліджували і контролювали за допомогою скануючої електронної мікроскопії. Неруйнуючий оперативний контроль щіток нанокристалів CdS реалізовано методами оптичної спектроскопії поглинання та фотолюмінесценції в діапазоні довжини хвилі від 400 нм до 900 нм.

Реалізовано електрохімічні дослідження процесів формування молекулярних оболонок на поверхні електродів з різною морфологією. Діапазон експериментально перевірених концентрацій P1 становив від 0,001 нМ до 100 нМ в буферних розчинах SSC. За допомогою методу спектроскопії електричного імпедансу досліджено особливості взаємодії олігонуклеотидів-зондів, іммобілізованих на поверхні електродів на основі нанокристалів CdS та електродів на основі наноструктурованого діоксиду титану, з комплементарними, частково-комплементарними та некомплементарними послідовностями нуклеїнових кислот.

Реалізовано лабораторний прототип гібридизаційного ДНК сенсорного пристрою на основі напівпровідникових наноструктурованих електродів, який забезпечує можливість проведення експериментів в проточній мікрокомірці об'ємом до 200 мкл за постійної температури у діапазоні від 30 С до 95 С з відтворюваністю термостабілізації комірки $\pm 0,1$ С.

Показано, що застосування електродів на основі нанокристалів CdS як селективних елементів біосенсорного пристрою забезпечує високоселективний аналіз послідовностей нуклеїнових кислот з межею визначення від 0,001 нМ до 0,1 нМ, залежно від умов проведення аналізу, що на два порядки нижче порівняно до пристроїв на основі традиційних золотих електродів. Лінійний динамічний діапазон розроблених ДНК-сенсорних пристроїв становить від 1 пМ до 10 нМ.

Запропоновано шляхи підвищення селективності розроблених гібридизаційних ДНК-сенсорів та підходи до їх багаторазового використання. Показано, що проведення аналізу за підвищеної температури, яка відповідає оптимальній температурі гібридизації іммобілізованого олігонуклеотиду-зонду з повністю комплементарною послідовністю, забезпечило зниження межі визначення комплементарних олігонуклеотидів до 0,001 нМ, а також істотне підвищення його селективності за присутності потенційних інтерферентів (частково-комплементарних та некомплементарних послідовностей нуклеїнових кислот) у аналізованих зразках.

Електрохімічні дослідження проведені за допомогою універсального потенціостата VoltaLab80 (Франція) та імпедіометра ISX-3 (Германія). На основі досвіду проведених досліджень процесів гібридизації сформульовано технічне завдання на розробку і виготовлення імпедіометра гібридизаційних ДНК-сенсорів та проаналізовано системні рішення його реалізації в Україні.

5.2. За наявності науково-технічної продукції обґрунтування її переваг у порівнянні з існуючими аналогами

Розроблені ДНК-сенсори використовують наноструктуровані напівпровідникові електроди і переважають існуючі аналогічні пристрої на основі золотих електродів-перетворювачів: межа визначення цільового ДНК аналізу є на 2-3 порядки нижчою. Сенсорні пристрої є недорогими, забезпечують отримання результатів протягом хвилин і не потребують висококваліфікованого персоналу.

5.3. Практична цінність отриманих результатів реалізації Проєкту для економіки та суспільства (стосується проєктів, що передбачають проведення прикладних наукових досліджень і науково-технічних розробок)

Розроблені нові високочутливі і селективні гібридизаційні сенсори для визначення специфічних послідовностей ДНК. Розроблено методологію і технологічні аспекти виготовлення дешевих

наноструктурованих напівпровідникових матеріалів для електродів ДНК-сенсорів. Розроблені ДНК-сенсори та методи їх використання є універсальними і можуть бути використані для визначенні різноманітних цільових ДНК-последовностей, які асоційовано з генетичними порушеннями, захворюваннями та біо-патогенами.

5.4. Опис шляхів та способів подальшого використання результатів виконання Проєкту в суспільній практиці.

Результати Проєкту є важливими для України та світу, оскільки може забезпечити широке використання безреагентної гібридаційної ДНК-діагностики для діагностики різноманітних онкологічних, спадкових, інфекційних захворювань на ранній стадії, розпізнавання патогенів у формі бактерій, грибків або вірусів, а також розробки нових вакцин і лікарських препаратів.

Примітка: Анотований звіт не містить відомостей, заборонених до відкритого опублікування

Науковий керівник Проєкту

СТ. Н.С., К.Т.Н.

(посада)

Гринько Д.О.

ІІБ



(підпис)