

Tiesiogiai susintetinto MW-PECVD grafeno biojutiklis SARS-CoV-2 spyglio (S) baltymo detekcijai

MW-PECVD synthesised graphene biosensor for detection of SARS-CoV-2 spike (S) protein

Nerija Žurauskienė¹, Rimantas Gudaitis², Andrius Vasiliauskas², Asta Guobienė², Šarūnas Jankauskas², Voitech Stankevič¹, Skirmantas Keršulis¹, Arūnas Stirke¹, Eivvydas Andriukonis¹, Wanessa Melo¹, Vilius Vertelis¹, Šarūnas Meškėnis²

¹Fizinių ir technologijos mokslų centras, Funkcinių medžiagų ir elektronikos skyrius, Savanorių pr. 231, 02300 Vilnius
nerija.zurauskiene@ftmc.lt

²Kauno technologijos universitetas, Medžiagų mokslo institutas, K. Baršausko St. 59, LT-51423 Kaunas

2023 m. liepos mėn. duomenimis, pasaulyje patvirtinta daugiau kaip 767 000 000 COVID-19 atvejų, nuo kurių mirė beveik 7 mln. žmonių. Susirgimų COVID-19 registruojama kasdien. Virusas vis dar egzistuoja, todėl tolesni šios infekcijos tyrimai yra labai aktualūs. Nors tikslus procesas, kuriuo SARS-CoV-2 sukelia ligą, iš dalies lieka neišaiškintas, naujausi tyrimai rodo, kad jis naudoja angiotenziną konvertuojantį fermentą II (ACE2) kaip patekimo į šeimininko ląsteles kelią. Svarbu pabrėžti, kad ACE2 taip pat nustatytas kaip pripažintas SARS-CoV ląstelių receptoriaus [1].

Ankstytas SARS-CoV-2 nustatymas yra labai svarbus, siekiant užkirsti kelią greitai ligos plitimui, ypač atsižvelgiant į tai, kad nuolat daugėja mutacijų, kurios gali neigiamai paveikti diagnostikos tikslumą. Dažniausiai infekcijos diagnostikai pasitelkiami PGR (polimerazės grandininė reakcija) ir ELISA (fermentais susieto imuno-sorbento analizė) metodai. Tačiau šiems diagnostikos metodams reikia daug įrangos, mokymo ir laiko, siekiant atlikti tikslią diagnozę. Taip pat šie metodai netinka greitiems didelio masto tyrimams. Nors jie pasižymi dideliu jautriu, pasitaiko atvejų, kai gaunami klaidingi rezultatai. Be to, jautris ir aptikimo riba (LoD) priklauso nuo COVID-19 viruso dozės ir užkrečiamumo, o tai gali kelti sunkumų jutiklių platformoms.

Todėl mokslininkai aktyviai ieško prieinamo, patikimo ir paprasto metodo, kuriuo būtų galima tiksliai nustatyti SARS-CoV-2. Lauko tranzistoriaus (FET) principu pagrįsti biojutikliai tampa vienu iš tinkamiausių metodų dėl daugelio privalumų, tokių kaip didelis jautris, ištyrimo greitis su puikia LoD, miniatiūrizacijos galimybė, reikalaujanti tik nedidelio analitės kiekio, ir nebrangi gamyba [2]. Be to, FET biojutiklius galima lengvai integruoti į mikroskystinę platformą, dar labiau padidinant prietaiso jautrį [3]. FET principu veikiančios biojutikliai laikomi vienu iš perspektyvių jutiklių tipų, kurie gali būti potencialiai naudingi atliekant tyrimus sveikatos priežiūros vietoje.

Šiame darbe pateikiami grafeno lauko tranzistoriaus (G-FET), skirto aptikti COVID-19 spyglio S baltymą ir jo receptorių ACE2, kūrimo ir tyrimų rezultatai. Grafeno sluoksniai buvo tiesiogiai susintetinti ant SiO₂/Si padėklo mikrobangų plazma aktyvuoto cheminio garų nusodinimo būdu (MW-PECVD). Palyginimui buvo naudojamas komercinis CVD-grafenas, perneštas ant stiklo pagrindo. Grafeno struktūra ir paviršiaus morfologija buvo tiriama Ramano sklaidos

spektroskopija ir atominės jėgos mikroskopija. Grafeno paviršius buvo funkcionalizuotas PBASE (1-pirenbutano rūgšties succinimidilo esteriu), o vėliau atliktas ACE2 receptoriaus imobilizavimas. Buvo sukurta mikroskystinė sistema, kurioje lauko tranzistoriaus su skystąja užtūra perdavimo charakteristikos buvo išmatuotos po kiekvienos grafeno paviršiaus modifikavimo procedūros ir skirtingų ACE2 bei spyglio S baltymo koncentracijų. Tiesiogiai susintetinto grafeno FET jautris receptoriui ACE2, įvertintas pagal Dirako įtampos ΔV_D poslinkį, viršijo pernešto komercinio grafeno pagrindu pagaminto FET jautrį. Spyglio S baltymo koncentracija buvo aptikta jau nuo 10 ag/mL ir matuojama iki 10 μ g/mL, naudojant sukurta mikroskystinę sistemą. Nustatyta, kad Dirako įtampos poslinkis priklauso nuo spyglio S koncentracijos. Tiesiogiai susintetinto grafeno G-FET biojutikliui didžiausias $\Delta V_D = 27$ mV buvo nustatytas, esant 10 pg/mL koncentracijai ir nebekito toliau ją didinant, tuo tarpu pernešto grafeno G-FET biojutikliui ΔV_D didėjo iki 70 mV, esant koncentracijai 10 μ g/mL. Abiejų G-FET LoD buvo žema ir siekė 10 ag/ml. Biojutiklių jautris, kai S spyglio koncentracija yra 10 pg/mL, išmatuotas kaip santykinis srovės pokytis, esant pastoviai užtūros įtampai, atitinkančiai didžiausią G-FET perdavimo charakteristikos statumą, buvo nustatytas atitinkamai 5,6% ir 8,8% tiesiogiai susintetinto ir pernešto grafeno biojutikliams. Taigi, MW-PECVD būdu tiesiogiai susintetinto grafeno biojutiklis, pasižymintis dideliu jautriu ir žema aptikimo riba, turi puikų potencialą pritaikant jį COVID-19 diagnostikoje.

Reikšminiai žodžiai: grafenas; tiesioginė PECVD sintezė; lauko efekto tranzistoriaus principu veikiantis biojutiklis; COVID19; SARS-CoV-2 spyglio baltymas; receptoriaus ACE2; Dirako įtampos poslinkis.

Padėka: Darbas finansuotas Europos regioninės plėtros fondo lėšomis (projekto Nr. 13.1.1-LMT-K-718-05-0015) pagal dotacijos sutartį su Lietuvos mokslo taryba (LMTLT). Finansuojama kaip Europos Sąjungos atsako į COVID-19 pandemiją priemonė.

Literatūra

- [1] W. Li, M.J. Moore, N. Vasilieva, J. Sui, S.K. Wong, M.A. Berne, M. Somasundaran, J.L. Sullivan, K. Luzuriaga, T.C. Greenough, H. Choe, M. Farzan, *Nature* **426**, 450 (2003).
- [2] A. Panahi, D. Sadighbayan, S. Forouhi, E. Ghafar-Zadeh, *Biosensors* **11**, 103 (2021).
- [3] R. Hao, L. Liu, J. Yuan, L. Wu, S. Lei, *Biosensors* **13**, 426 (2023).