

## Влияние импульсного электрического поля на генерацию заряда в проточных медицинских и диагностических системах

### Аннотация

Рассмотрено влияние импульсного электрического поля на процесс генерации заряда при движении воды в проточной системе, рутинно используемой в медицинских проточных и диагностических устройствах. Показано, что использование импульсного электрического поля приводит к росту величины сгенерированного заряда в процессе движения жидкости ( $\sim 80\%$ ,  $T = 35^\circ\text{C}$ ). Обнаруженный эффект необходимо учитывать при разработке новых высокочувствительных диагностических систем, использующих проточную систему подачи растворов.

### Введение

Известно, что при подаче воды и водных растворов по трубкам или инжекторам медицинских проточных, диагностических и биоаналитических систем в измерительную ячейку наблюдается генерация заряда [1], [2]. Также в [2] показано, что наблюдается тенденция возрастания эффективности регистрации белковых маркеров, находящихся в сверхнизких концентрациях (фемтомолярных и субфемтомолярных), с генерацией заряда в инжекторе этих систем. Актуальность регистрации белка в таких сверхнизких концентрациях обусловлена тем, что необходимо создавать новые диагностические устройства для диагностики заболеваний на ранней стадии развития патологического процесса, в том числе онкозаболеваний. Кроме того, ранее было определено стимулирующее влияние импульсного электрического поля на эффективность регистрации белков в системе на основе атомно-силового микроскопа (АСМ-систем), позволяющего регистрировать молекулы белка в режиме их счета [3]. В [3], [4] применялась технология АСМ-фишинга низкокопийных белков на примере человеческого мембранного белка – цитохрома  $b_5$  ( $b_5$ ), являющегося одним из важных компонентов электронотранспортной цепи цитохром Р450-содержащей монооксигеназной системы. АСМ-фишинг белка – это технология вылавливания белка из большого объема раствора на небольшую поверхность АСМ-чипа и подсчета выловленных молекул белка с помощью атомно-силового микроскопа. Идентификация молекул белка на АСМ-чипе проводится с помощью программы распознавания образов. Программа распознавания образов применяется не только в атомно-силовой микроскопии, но и в световой микроскопии [5]. Как отмеча-

лось в [3], импульсное электрическое поле стимулировало вылавливание белка  $b_5$  из 100 мл белкового раствора на поверхность высокоориентированного пиролиитического графита (ВОПГ) при концентрации  $10^{-15}$  М, что невозможно было реализовать без использования импульсного электрического поля. На *рис. 1* показано характерное АСМ-изображение этого белка, выловленного в импульсном электрическом поле на поверхность ВОПГ.

Это влияние, как обсуждалось в статье [3], связано с рядом эффектов, в том числе, возможно, с генерацией заряда в белковом растворе, поступающем в измерительную ячейку АСМ-фишинг системы.

Поэтому исследование эффектов влияния импульсного электрического поля на генерацию заряда в движущемся белковом растворе важны при разработке новых высокочувствительных диагностических систем, работающих в диапазоне фемтомолярных концентраций белка.

В представленной работе исследовалось влияние импульсных электромагнитных полей на генерацию заряда в движущейся по трубкам воде при температуре  $35^\circ\text{C}$ , соответствующей физиологической температуре человека и условиям работы медицинских проточных систем при этой температуре.

Полученные результаты могут быть использованы для повышения эффективности работы проточных диагностических систем, например в АСМ-фишинге, нанопроводных и других, учитывая то, что в этих системах существенное влияние на их чувствительность может оказывать зарядовое состояние растворов и белков, движущихся по трубкам или капиллярам в чувствительную зону детекции.

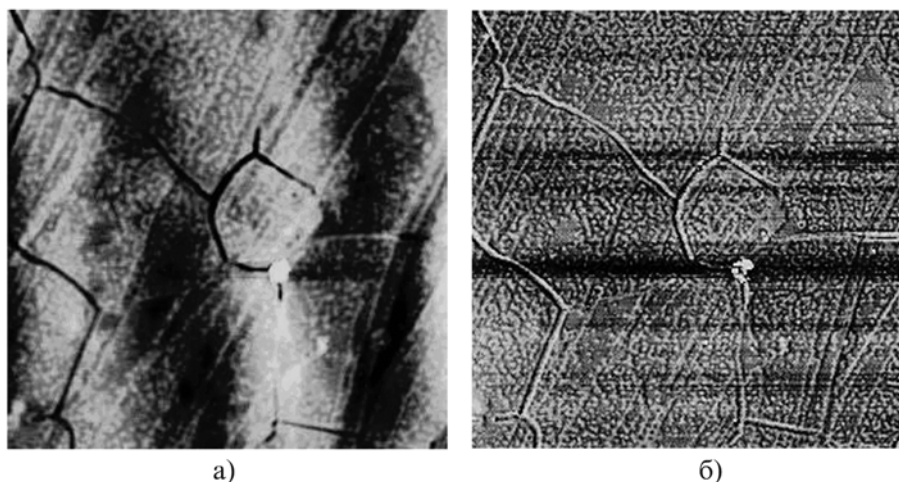


Рис. 1. Пример АСМ-изображения поверхности высокоориентированного пиролиитического графита после фишинга на нее молекул белка цитохрома  $b_5$  в присутствии импульсного электрического поля: а) топография поверхности; б) сигнал фазы колебания кантилевера. Полуконтактный режим измерений. Размер скана  $5 \times 5$  мкм<sup>2</sup>, шкала Z от 0 до 8 нм. Экспериментальные условия: концентрация белка  $10^{-15}$  М

## Методика

Деионизованная вода (удельное сопротивление 18 МОм·см) была получена на установке «Millipore Simplicity UV» (Франция).

### Методика измерения заряда в измерительной ячейке

В качестве проточной системы для исследования влияния импульсного электрического поля на генерацию заряда в воде или белковом растворе использовалась инжекторная часть проточной протеомной системы на основе АСМ-фишинг устройства, описанного ранее в [3]. Схема установки представлена на рис. 2. Измерения величины электрического заряда проводились с помощью электрометра, включенного в проточную систему подачи образца для АСМ-фишинга [3] (см. рис. 1). Основные элементы системы подачи образца – перистальтический насос, трубка для подачи раствора с наконечником и измерительная ячейка. В процессе измерений вода из полипропиленовой пробирки 1 ( $V = 50$  мл) через наконечник 6 непрерывно подавалась в ячейку 4 с помощью насоса 3 [«Ismatech» («IDEX»)]. Для подачи воды использовалась стерильная силиконовая трубка 5 (длина 40 см, внутренний диаметр 2 мм) с наконечником 6 (внутренний диаметр 0,4 мм). В качестве наконечника использовался стандартный одноразовый наконечник к автоматической пипетке (номинальной вместимостью 10 мкл). Скорость потока ( $\sim 15$  мкл/с) была подобрана таким образом, чтобы на наконечнике подающей трубки формиро-

вались капли. Рассчитанный объем капли составил  $\sim 15$  мкл. Для поддержания потенциала исходного раствора на постоянном уровне земли в исходный раствор 1 был помещен заземленный электрод, который располагался на расстоянии 40 см от среза наконечника. Ячейка 4 из нержавеющей стали являлась внутренним цилиндром в системе, сопряженной с электрометром 7, разработанным в ИБМХ. Точность регистрации заряда составляла 0,1 нКл. Воздействие на жидкости импульсным электрическим полем проводилось с помощью генератора импульсов 8, разработанного в ИБМХ. Для этого наконечник подающей жидкости трубки 6 помещался между параллельными металлическими пластинами 9, на которые подавалось импульсное напряжение с GRA-2 (8) со следующими параметрами: фронт нарастания импульса 100 В за 10 нс, ширина импульса 50 нс, время повторения импульса 2 мкс. Температура воды устанавливалась с помощью шейкера, в который была помещена пробирка 1 для подачи воды. Эксперименты проводились при  $T = 35$  °С. Экспериментальная серия для каждого набора условий состояла не менее чем из трех повторов.

### Результаты

На рис. 3 представлены результаты – типичные временные зависимости величины заряда, накопленного в измерительной ячейке при подаче воды в присутствии и без импульсного электрического поля при температуре 35 °С.

Как видно из рис. 3 (кривые 1-4), при выключенном генераторе наблюдается линейная от времени зависимость накопления заряда в измерительной ячейке (до 38...58 нКл за 7 мин).

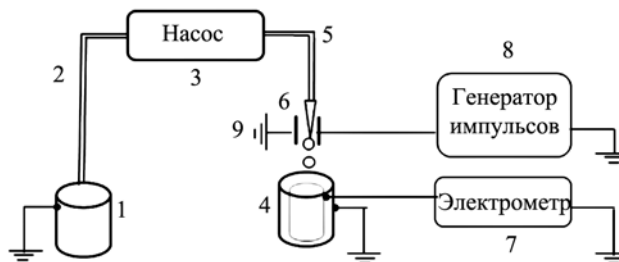


Рис. 2. Схема установки для измерений: 1 – пробирка с исходной жидкостью; 2 – силиконовая трубка (входящий участок); 3 – перистальтический насос; 4 – измерительная ячейка с подключенным электрометром 7; 5 – силиконовая трубка (исходящий участок); 6 – наконечник; 7 – электрометр; 8 – генератор импульса; 9 – параллельные металлические пластины

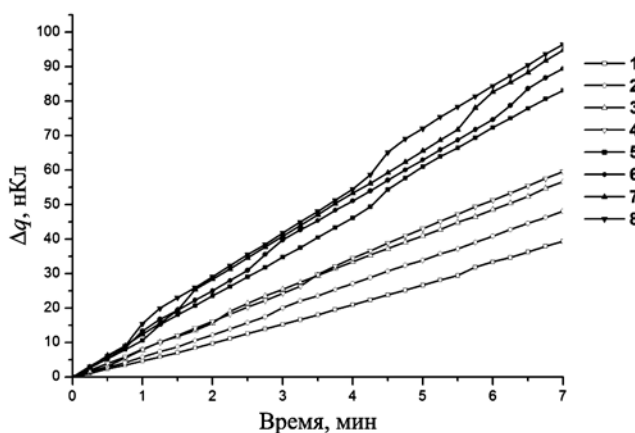


Рис. 3. Типичные зависимости  $\Delta q(t)$ , полученные при подаче воды с помощью проточной системы в измерительную ячейку при отсутствии импульсного электрического поля (кривые 1-4, белые маркеры) и в присутствии импульсного электрического поля (кривые 5-8, черные маркеры).

Условия эксперимента:  $T = 35$  °С

Среднее значение заряда, аккумулированного в ячейке за 7 мин, составляло ( $51 \pm 9$ ) нКл (среднее значение на 7-й минуте для кривых 1-4).

После включения генератора (рис. 3, кривые 5-8) наблюдается повышение уровня накопленного заряда (до 83...96 нКл за 7 мин) в виде зависимости от времени, близкой к линейной. Среднее значение заряда, аккумулированного в ячейке за 7 мин, составляло ( $91 \pm 6$ ) нКл (среднее значение на 7-й минуте для кривых 5-8).

## Обсуждение

Результаты, полученные в работе, свидетельствуют о влиянии импульсов электрического поля на величину заряда, возникшего при движении воды по силиконовой трубке. Согласно полученным данным, импульсное электрическое поле с фронтом нарастания  $\sim 10$  нс вызывает увеличение количества аккумулированного заряда в измерительной ячейке при подаче воды при  $T = 35$  °С. Так, для воды показано увеличение накопленного заряда на  $\sim 80$  %.

Физическая природа этого явления может быть следующая. Как обсуждалось в работах [6], [7], при пипетировании воды через наконечник пипетки генерируется положительный заряд за счет трибоэлектрического эффекта и существует термодинамический барьер при истечении воды из наконечника. Одной из причин существования этого барьера является сложная структура воды, представляющая собой смесь льдообразной и жидкой фаз (пара- и ортосостояний воды), которые определяют влияние трибоэлектрического эффекта и гидродинамику истечения воды из наконечника. При воздействии импульсного электрического поля может происходить повышенная конверсия парасостояния воды в ортосостояние. Возможность таких переходов в СВЧ-полях отмечалась в работе [8]. Таким образом, одной из причин наблюдаемой стимуляции генерации заряда в воде может являться уменьшение доли льдообразных структур воды в присутствии импульсного электрического поля. Полученные результаты по существенному влиянию импульсных полей на генерацию заряда в воде могут быть полезны при разработке новых высокочувствительных диагностических систем, работающих в области фемтомолярных концентраций.

## Заключение

Показано стимулирующее влияние импульсного электрического поля с наносекундным фронтом нарастания на генерацию заряда в воде, движущейся через инжекторную часть проточной системы подачи образцов. Эффект зарегистрирован при температуре  $T = 35$  °С, соответствующей физиологической температуре человеческого организма. Учет обнаруженного эффекта важен при разработке новых высокочувствительных диагностических систем, работающих в области фемтомолярных концентраций.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013-2020 гг.*

### Список литературы:

1. Whitesides G.M., McCarty L.S. Electrostatic Charging Due to Separation of Ions at Interfaces: Contact electrification of ionic electrets // *Angew. Chem. Int. aEd.* 2008. Vol. 47. PP. 2188-2207.
2. Ivanov Y.D., Pleshakova T., Malsagova K. et al. Highly sensitive protein detection by combination of atomic force microscopy fishing with charge generation and mass spectrometry analysis // *FEBS J.* 2014. Vol. 281. PP. 4705-4717.
3. Плевакова Т.О., Мальсагова К.А., Козлов А.Ф. и др. Высокочувствительный АСМ-фишинг альбумина // *Патогенез.* 2016. Т. 14. № 3. С. 23-30.

4. Ivanov Y.D., Pleshakova T.O., Malsagova K.A. et al. AFM-based protein fishing in the pulsed electric field // *Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry.* 2015. Vol. 9. PP. 121-129.
5. Pleshakova T.O., Malsagova K.A., Kaysheva A.L. et al. Highly sensitive protein detection by biospecific AFM-based fishing with pulsed electrical stimulation // *FEBS Open Bio.* 2017. Vol. 7. № 8. PP. 1186-1195.
6. Choi D., Lee H., Im D. J. et al. Spontaneous electrical charging of droplets by conventional pipetting // *Scientific Reports.* 2013. Vol. 3. P. 2037.
7. Иванов Ю.Д., Козлов А.Ф., Галиуллин Р.А. и др. Генерация и аккумуляция заряда в проточной системе для выявления белковых маркеров заболеваний // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2018. Т. 62. № 1. С. 109-116.
8. Першин С.М. Новая концепция действия электромагнитного поля на воду и водные растворы с учетом квантовых отличий орто-пара спиновых изомеров  $H_2O$  / *Научные труды IV Международной конференции «Человек и электромагнитные поля»*, Саров, 2013. С. 17.

Юрий Дмитриевич Иванов,  
д-р биол. наук, профессор,  
руководитель,  
Андрей Федорович Козлов,  
ведущий инженер,  
Рафаэль Анварович Галиуллин,  
ведущий программист,  
лаборатория нанобиотехнологии,  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт  
биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича»,  
Вадим Юрьевич Татур,  
исполнительный директор,  
Фонд перспективных технологий и новаций,  
Вадим Серафимович Зиборов,  
канд. физ.-мат. наук, ст. научный сотрудник,  
лаборатория ударно-волновых воздействий,  
ФГБУН «Объединенный институт  
высоких температур» РАН,  
Нина Дмитриевна Иванова,  
преподаватель,  
кафедра иностранных и русского языков,  
ФГБОУ ВПО «Московская государственная  
академия ветеринарной медицины  
и биотехнологии им. К.И. Скрябина»,  
Валентин Григорьевич Никитаев,  
д-р техн. наук, профессор,  
зав. кафедрой,  
Екатерина Александровна Дружинина,  
студент,  
кафедра компьютерных медицинских систем,  
ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский  
ядерный университет «МИФИ»,  
Татьяна Олеговна Плевакова,  
канд. хим. наук, ст. научный сотрудник,  
лаборатория нанобиотехнологии,  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт  
биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича»,  
г. Москва,  
e-mail: VGNikitayev@mephi.ru