

*Ибраева М.¹, Манишарипов Д.², Кив А.³, Шунин Ю.⁴, Северова Е.⁵,
Гусейнов Н.⁶, Мухамедиев Р.⁷, Манишарипова А.⁸*

ИЗУЧЕНИЕ И МОДЕЛИРОВАНИЕ НОВОГО ПОДХОДА К РАСПОЗНАВАНИЮ БАКТЕРИЙ.

¹НИИШ, РК

²КазНМУ имени С.Д.Асфендиярова, РК

³Университет Бен-Гуриона, Израиль

⁴Институт твердого тела, Латвия

⁵КазНУ имени аль-Фараби, РК

⁶Ассоциация Акшам, РК

⁷КБТУ, РК

⁸КРМУ, РК

Ключевые слова: нанобиосенсор, бактерия, треки, наноструктуры

Резюме: Бактерии являются частыми причинами заболеваний. Целью работы было изучение и моделирование наноструктур с заданными свойствами для диагностики бактерий. Были применены методы: биофизические, трековой электроники, компьютерного моделирования. В результате работы получена модель нанобиосенсора, которая применима для быстрого и точного выявления бактерий в биологических средах.

Resume: Bacteria are a common cause of the disease. The goal was modeling nanostructures for diagnostics of bacteria. They were used biophysical techniques, tracking electronics, computer simulation. As a result of the model received nanobiosensors based tracking technology for fast and accurate identification of bacteria.

Актуальность. Инфекционные заболевания являются постоянными угрозами для жизни человека. Медицинские технологии должны способствовать точному и быстрому определению бактерий, чтобы в будущем предотвратить масштабные вспышки опаснейших бактериальных заболеваний. Известно, что трековые устройства используются для создания целого ряда биологических сенсоров, которые смогут идентифицировать огромное количество биологических объектов [1, 2]. Технология ионных треков основана на уникальном явлении - воздействие тяжелых ионов на вещество приводит к формированию узких и протяженных областей радиационного повреждения (с диаметрами ~ 5-10 нм, длиной от 30 до 300 мкм), которые получили название «латентные ионные треки». Учитывая, что диаметр каждого трека составляет от 1 до 10 нм, число латентных ионных треков на 1 см² площади поверхности достигает 1012 треков/см². Особенностью трековых мембран, в частности трековых мембран является высокая адсорбция ряда биологически важных молекул [2].

Целью исследования: было изучение и моделирование наноструктур с заданными свойствами для диагностики бактерий.

Задачами исследования: явились: 1) исследование трековых структур для обнаружения бактерий, 2) изучение молекулярной динамики микроскопических величин наноструктуры, 3) моделирование нанобиосенсора для диагностики бактерий.

Материалы и методы исследования. В работе были применены физические методы исследований (работа с ионами тяжелых металлов с помощью ядерной пушки), биофизические методы (оптические методы), биологические методы (микроскопия) и биохимические методы (спектрометрия) по стандартным методикам. При создании треков применялись стандартные методы трековой электроники [2, 3].

Изучение многофункциональных наноструктур проведено в ННЛОТ КазНУ имени аль-Фараби и в научно-исследовательских лабораториях университетов. В работе применялись: многофункциональный растровый электронный микроскоп Quanta 3D 200i с интегрированными системами фокусированного ионного пучка, энергодисперсионного спектрометра и кристаллографического анализа для диагностики и исследований полимера с треками, микроскоп LeicaDM6000 M моторизованный цифровой материаловедческий микроскоп с отдельным управляющим блоком CTR6000 и встроенным в штатив сенсорным дисплеем Leica Screen, с галогеновыми осветителями 100 Вт и запоминанием 2 - х положений для исследования бактерий.

Применялся метод молекулярной динамики, в котором временная эволюция системы взаимодействующих атомов или частиц отслеживается интегрированием их уравнений движения. Для описания движения атомов или частиц применялась классическая механика. При моделировании силы межатомного взаимодействия представляли в форме классических потенциальных сил (как градиент потенциальной энергии системы). Наборы конфигураций, получаемые в ходе расчетов, были распределены в соответствии с некоторой статистической функцией распределения, например, отвечающей микроканоническому распределению [4,5].

Для разработки модели использовали классическую молекулярную динамику с алгоритмом Верлета [6]. Нами использовано приложение C#.Net с графическим движком Unity3d. Научно-исследовательская работа выполнялась в рамках гранта Комитета науки МОН РК по теме «Конструирование и создание наноструктур для обнаружения бактерий (NANOBAC) и терапевтических вмешательств» (№3455/ГФ 2015-2017 годы), получено этическое согласие локального комитета НУО КРМУ №34 от 5.05.2015.

Результаты исследования. Одна из основных причин высокой сорбционной способности трековых мембран, в частности по отношению к белкам, заключается в способе получения мембран. При облучении пленки ускоренными заряженными частицами и последующей физико-химической обработке на ее поверхности, и особенно на внутренней поверхности пор, образовались различные пероксидные соединения и группы, обладающие сродством к электрону или протону. Число таких функциональных групп было велико, поскольку в каждом мономерном звене присутствует сложноэфирная группа, являющаяся основой их образования при облучении и физико-химической обработке пленки. Они диссоциировали в нейтральных и щелочных растворах, что приводило к появлению «сетки» отрицательных зарядов на поверхности самой мембраны и, особенно, на внутренней поверхности пор. Функциональные группы были

способны образовывать донорно-акцепторную связь с соответствующими группами белков или ферментов, обеспечивая их прочную связь с мембраной и соответственно увеличивая сорбцию. Поэтому при фильтрации или концентрировании различных биологических сред происходила адсорбция биологических агентов. Уникальные оптические, электронные и магнитные свойства трековых устройств использовались нами для создания нанобиосенсоров, которые смогут определять бактериальные инфекции более точно и быстро по сравнению с существующими методами. Ионные треки, содержащие тонкие полимерные пленки, погруженные в подходящие электролиты использовались нами в качестве субстратов для построения нанобиосенсоров, которые используют принцип биореакции $x + y \rightarrow Z$, где X представляет собой аналит, Y и Z агент продукт реакции.

Это достигнуто с помощью множества (обычно $10^6 \dots 9$ см) параллельных протравленных треков (каждый из них соответствует определенному биологическому агенту) в тонкой полимерной пленке. Ионно-трековая технология, основанная на осаждении в каналы трековых мембран различных материалов, представляет широкие возможности для модификации материалов в биомедицине, в микро- или нанотехнологиях и в связи с этим может стать одной из технологий, интегрирующей наноструктурную инженерию. Перспективы развития полученной технологии связываются не только с реализацией возможности формирования ионных треков в различных материалах, но и с получением наноструктур еще меньшего диаметра с целью изучения роли размерного фактора на различные физико-химические и механические свойства [7].

С помощью технологии ионных треков в веществе подложки можно получить множество многослойные наноструктуры с чередующимися слоями из параллельно расположенных нанодиодов [8,9,10]. Клетки биомассы, связанные с узорами на обеих поверхностях подложки смогут поддерживать определенные прямые связи друг с другом через трековые структуры. Молекулярные механизмы клеточной адгезии с подложкой изучается с использованием данных об их пространственном расположении, совместной локализации и активации рецепторов адгезии и связанных с ними структурных и сигнальных белков, таких как паксиллин, талин, винкулина и киназы фокальной адгезии [9,10]. Подобную наноплатформу можно использовать для идентификации микроорганизмов.

Метод молекулярной динамики позволил найти мгновенные значения микроскопических величин системы, таких как координаты и скорости частиц. С помощью микроскопических величин вычисляли мгновенные значения макроскопических величин системы: энергии, полного импульса, момента инерции [5]. Нами проведено моделирование, чтобы проверить как разработанная модель будет отражает основные свойства пульсаций в трековом приборе. Компьютерный эксперимент показал, что с увеличением абсолютного значения внешней силы увеличивается средняя амплитуда колебаний модельных частиц. Однако, время от времени средняя амплитуда колебаний модельных частиц увеличивается очень резко (рисунок 1). Это соответствует появлению скачков тока в трековом приборе (рисунок 2).

Как видно из рисунков 1 и 2, наблюдаемые скачки колебаний модельных частиц соответствуют тем случаям, когда достаточно большое количество модельных частиц, в результате их взаимодействия друг с другом, движутся одновременно на большое расстояние от их узловых центров, а затем через короткий промежуток времени возвращаются назад. Условия такого модельного импульса определяются параметрами потенциала взаимодействия между модельными частицами, действием внешней силы и температурой.

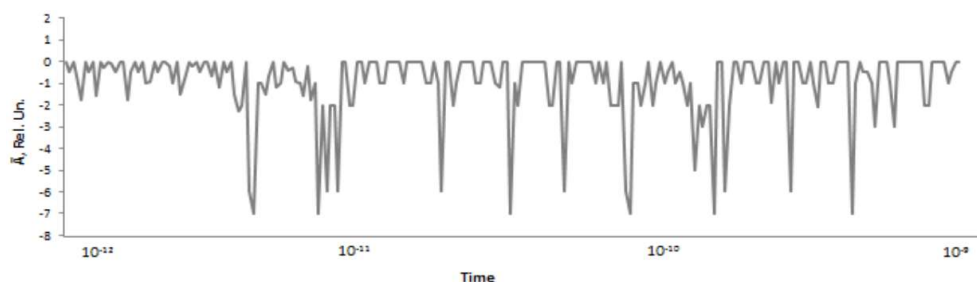


Рисунок 1. Импульсы модели в компьютерном эксперименте. По горизонтальной оси - компьютерное время в секундах. По вертикальной оси - средняя амплитуда колебаний модельных частиц

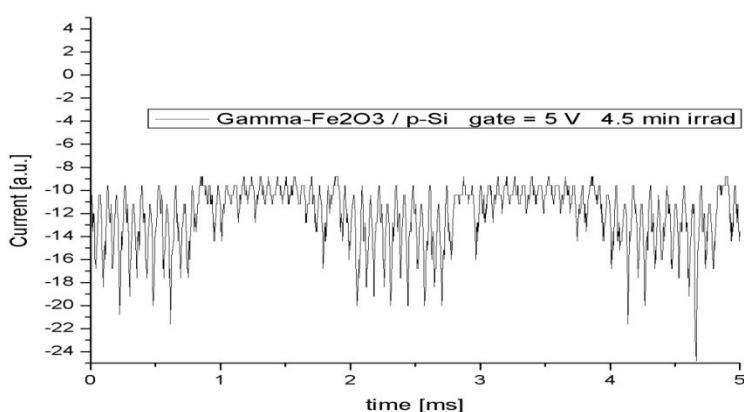


Рисунок 2. Импульсы тока в реальном эксперименте с трековым прибором

При создании модели мы основывались на том факте, что при разных формах треков (латентных, воронкообразных) и при различных материалах пленок основные свойства импульсов тока остаются одними и теми же. Так возникла идея создания обобщенной феноменологической модели. Нам была необходима модель, которая бы отражала основные характеристики реальных трековых приборов. Результаты компьютерных экспериментов, полученных на основе нашей модели показала, что наша модель дает хорошую качественную картину пиков тока, наблюдаемых в реальном трековом приборе.

Выводы. Таким образом, в результате работы разработана модель нанобиосенсора, работающего на основе трековой технологии, которая применима для быстрого и точного выявления бактерий в биологических средах.

Литература

1. Action plan against the rising threats from Antimicrobial Resistance // COM 2011: 748 final, Brussels.- 2011.-56 p.

2. Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology // Nalwa H. S.- USA: American Scientific Publishers, 2011.- 45p.
3. Fink D., Cruz S., Vacik J., Hnatowicz V. Conducting swift heavy ion track networks // Rad. Effects Def. Solids.- 2010.-Vol.165.-P. 818 –833.
4. Fink D., Klinkovich I., Bukelman O., Marks R. S., Kiv A., Fuks D., Fahrner W. R., Alfonta L. Glucose determination using a re-usable enzyme-modified ion track membrane, Biosensors and Bioelectronics //Biosensors and Bioelectronics.-2009.-Vol.24.-P.2702-2706.
5. Метод молекулярной динамики в физической химии. Под ред. Ю.К. Товбина. - М.: Наука, 1996.-233с.
6. Hairer E., Lubich C., Wanner G. Geometric numerical integration illustrated by the Störmer Verlet method //Acta Numerica. -2003.- Vol.12.- P.399–450.
7. Fink D., Munoz H. G., Alfonta L. Highly sensitive ion track-based urea sensing with ion-irradiated polymer foils // Nucl. Instr. Meth. -2012.- Vol.273.- P.164–170.
8. Fink D., Cruz S., Vacik J., Hnatowicz V. Electrical current pulsations of funnel-type tracks in electrolytes // Rad. Effects Def. Solids.- 2010.- Vol.165.-P. 818 – 833.
9. Mykytenko N., Fink D., Kiv A. Generalized model of pulsating track device // Computer modelling & new technologies.-2014.-Vol.18.-P.7-12.
10. Mykytenko N., Fink D., Kiv A. Computer modeling of ion current pulsations in track-containing foils //Journal of Computational Science.-2015.-V.6.- P.34-39.