



## ВЗВЕШИВАНИЕ ЧАСТИЦ НА УРОВНЕ АТТОГРАММ

Инженеры Массачусетского технологического института разработали способ измерения массы частиц с точностью более чем аттограмм – одна миллионная от одной триллионной грамма. Взвешивание таких мелких частиц, включая искусственные синтетические наночастицы и биологические компоненты клеток, поможет учёным лучше понять их строение и функции.

Система базируется на технологии, разработанной ранее профессором биологических и медицинских технологий МТИ (института совместных исследований рака имени Коха) Скоттом Маналисом для взвешивания более крупных частиц, таких как клетки. Эта система, известная как подвешенный микроканальный резонатор (SMR – Suspended Microchannel Resonator), определяет массу частиц по мере их течения через узкий канал. Уменьшив размер всей системы, исследователи смогли повысить её разрешение до 0,85 аттограмм – т.е. более чем в 30 раз улучшить результат устройства предыдущего поколения. «Теперь мы можем взвешивать мелкие вирусы, внеклеточные везикулы и большинство созданных человеком наночастиц, используемых в наномедицине», – говорит Селим Одкум, сотрудник лаборатории Маналиса, один из авторов статьи, описывающей систему в недавнем выпуске журнала *Proceedings of the National Academy of Sciences*.

Другими авторами статьи являются выпускник института Натан Кермак и Скотт Маналис, сотрудник подразделения МТИ. Кроме того, в исследование внесли свой вклад профессора МТИ и сотрудники института Коха Ангела Белчер и Сангита Бхатиа. Маналис разработал систему SMR для измерения массы живых клеток и частиц на уровне фемтограмм (1000 аттограмм) еще в 2007 году. За это время лаборатория использовала прибор для изучения роста клеток, измерения их плотности и других физических параметров. Измерительное устройство состоит из заполненного жидкостью микроканала, выточенного в миниатюрном кремниевом коромысле и колеблющегося внутри вакуумной кюветы. При прохождении клетки или частицы по одной через канал их масса в некоторой степени изменяет частоту колебаний коромысла. Изменение частоты колебаний коромысла позволяет определить и массу изучаемого объекта.

Чтобы сделать прибор чувствительным к меньшим массам исследователи уменьшили размер коромысла, которое, по словам Олкума, работает наподобие трамплина. Когда прыгун балансирует на конце трамплина, он вибрирует с большой амплитудой и малой частотой. Когда прыгун спрыгивает, трамплин начинает вибрировать быстрее, так как происходит существенное уменьшение массы системы. Чтобы измерять меньшие массы требуется меньший по размерам «трамплин». «Измерять наночастицы при помощи большого коромысла – то же самое, как посадить блоху на большой трамплин. Когда она спрыгнет с него, вы не заметите никакой разницы. Вот почему нам потребовалось создать очень-очень маленькие трамплины», – говорит Олкум.

В предыдущей работе сотрудники лаборатории Маналиса создали 50-микронное коромысло – примерно в одну десятую размера устройства, применяемого для взвешивания клеток. Эта система, названная подвешенный наноканальный резонатор (SNR – Suspended Nanochannel Resonator),

позволяет взвешивать частицы массой 77 аттограмм со скоростью 1-2 частицы в секунду. Коромысло в новой версии SNR-устройства имеет размер 22,5 мкм, а канал внутри – 1 мкм в ширину и 400 нм в глубину. Миниатюризация делает систему более чувствительной, так как увеличивает частоту колебаний коромысла. При больших частотах колебаний коромысло чувствительнее к меньшим изменениям массы.

Учёным удалось еще больше повысить разрешение, изменив источник возбуждения колебаний коромысла с электростатического на пьезоэлектрический, что позволяет получить большую амплитуду, что, в свою очередь, снижает влияние спонтанных вибраций, накладывающихся на измеряемый сигнал. Такая система позволяет исследователям измерять почти 30 000 частиц за время немногим более 90 минут. «За секунду мы можем пропустить четыре или пять частиц и в перспективе, увеличив концентрацию, можно пропускать частицы ещё быстрее», – говорит Кермак.

Чтобы продемонстрировать пользу прибора при анализе наночастиц, команда МТИ осуществила взвешивание наночастиц, состоящих из ДНК, с привитыми золотыми сферами, что позволило определить какое количество золотых сфер связалось с ДНК-структурой. Эта информация может быть использована, чтобы оценить выход, что важно при разработке точных наноструктур, например, клеточных каркасов для наноустройств.

Кроме того, учёные проверили систему SNR на биологических наночастицах, называемых экзосомами (везикулы, переносящие белки, RNA или другие молекулы, выделяемые клетками, которые, как полагают, играют роль в передаче сигналов между удалёнными друг от друга участками тела). Они определили, что экзосомы, производимые клетками печени и фибробластами (клетками, образующими соединительные ткани), имеют разные массовые распределения, что позволяет предположить возможность различать везикулы, выделяемые разными клетками и, возможно, имеющими различные биологические функции. Сейчас учёные исследуют при помощи SNR экзосомы в крови пациентов с глиобластомой, разновидностью рака мозга. Этот тип опухоли выделяет большие количества экзосом, наблюдая за изменением концентрации которых врачи могут следить за пациентами в процессе лечения. Экзосомы глиобластомы в настоящее время определяют, смешивая образцы крови с магнитными наночастицами, покрытыми антителами, связывающимися с маркерами на поверхности везикул. SNR может предложить более простой метод.

Мы с особым энтузиазмом относимся к использованию высоких разрешающих возможностей SNR для количественного определения микровезикул в крови пациентов с глиобластомой. Хотя методы, основывающиеся на сродстве, позволяют изолировать подгруппы микровезикул, SNR потенциально может предоставить метод подсчёта микровезикул не использующий специальные метки и независящий от состояния их поверхности, – говорит Маналис. Исследования поддерживаются Отделом исследования вооружённых сил США через институт Совместных биотехнологий, Центром интеграции медицинских и инновационных технологий, Национальным научным обществом и Национальным институтом раковых заболеваний. ■