

# Изменение адсорбционных свойств графена в процессе получения биосенсоров вирусных инфекций

© И.А. Елисеев<sup>1</sup>, Е.А. Гуцина<sup>1</sup>, С.А. Клотченко<sup>2</sup>, А.А. Лебедев<sup>1</sup>, Н.М. Лебедева<sup>1</sup>, С.П. Лебедев<sup>1</sup>, А.В. Нащекин<sup>1</sup>, В.Н. Петров<sup>1</sup>, М.В. Пузык<sup>3</sup>, А.Д. Роенков<sup>4</sup>, А.Н. Смирнов<sup>1</sup>, Е.М. Танклевская<sup>1</sup>, А.С. Усиков<sup>4,5</sup>, Е.И. Шабунина<sup>1</sup>, Н.М. Шмидт<sup>1,¶</sup>

<sup>1</sup> Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе Российской академии наук, 194021 Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197376 Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, 191186 Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup> ООО Группа компаний „Нитридные кристаллы“, 194156 Санкт-Петербург, Россия

<sup>5</sup> Университет ИТМО, 197101 Санкт-Петербург, Россия

¶ E-mail: natalia.shmidt@mail.ioffe.ru

Поступила в Редакцию 9 декабря 2022 г.

В окончательной редакции 15 декабря 2022 г.

Принята к публикации 28 декабря 2022 г.

Показано, что известный эффект локального взаимодействия графена с фоторезистом при создании биосенсоров приводит к неоднородному распределению сжимающих напряжений. Это ухудшает адсорбционные свойства графена, воспроизводимость параметров и детектирующую способность биосенсоров вирусов гриппа В и коронавируса SARS-CoV-2. Показано также, что контроль появления областей локального взаимодействия графена с фоторезистом на поверхности графена методами атомно-силовой микроскопии или введение защитного слоя между графеном и фоторезистом позволяют свести к минимуму негативное влияние эффекта локального взаимодействия графена с фоторезистом. Представлены результаты визуализации вирусов гриппа В и SARS-CoV-2 на поверхности графена в чипах биосенсоров в растровом электронном микроскопе.

**Ключевые слова:** графен, биосенсоры, SARS-CoV-2, вирус гриппа В.

DOI: 10.21883/FTP.2022.12.54513.4429

## 1. Введение

Уникальные свойства графена позволяют применять этот низкоразмерный материал для создания биосенсоров вирусов гриппа и коронавируса (SARS-CoV-2) [1–3]. Наряду с изучением свойств исходного графена и основных операций создания биосенсоров, уделяется внимание повышению воспроизводимости параметров биосенсоров [3,4]. Высокая чувствительность адсорбционных свойств графена к физико-химическим воздействиям и к флуктуациям деформаций [5] может приводить к невоспроизводимости параметров биосенсоров на основных стадиях процесса их создания. Начальная стадия процесса заключается в получении чипов, определенной геометрии, из пленки графена с двумя (сопротивление) или тремя омическими контактами (транзистор). Затем проводится контролируемая обработка (функционализация) поверхности графена для создания ковалентных связей, обеспечивающих протекание селективных химических реакций присоединения биомолекул–антител [1–8].

Иммобилизация (присоединение) соответствующих антител на функционализированный графен обеспечивает условия для протекания иммунной реакции антитело–антиген (вирус) на поверхности графена в чипе для

детектирования вирусов в растворе анолита (водный раствор натрия хлорида). Иммунная реакция антитело–антиген (вирусы) на поверхности графена изменяет его электронное состояние, что можно зарегистрировать, например, по изменению тока, протекающего через чип на основе графеновой пленки. На этой стадии методы электрохимии позволяют детектировать вирусы на поверхности графена.

Предельная чувствительность такого биосенсора определяется свойствами графена и физико-химическими процессами, протекающими на поверхности графена на всех этапах производства биосенсора. Кроме того, предельная чувствительность зависит также от степени однородности этих процессов по всей площади графенового чипа. Следует отметить, что при проведении исследований биосенсоров были использованы инактивированные вирусы гриппа В. В статье используем термин вирус, как более привычный для понимания. Начальная стадия создания биосенсора осуществляется методами фотолитографии (ФЛГ). Результаты исследований [9,10], проведенные во многих странах, показали, что в процессе ФЛГ происходит взаимодействие фоторезиста с графеном, с образованием локальных областей с остатками резиста (ЛОР), плохо удаляющимися с поверхно-

сти графена. В результате усиливается шероховатость поверхности графена. При этом выбор фоторезиста не позволяет в полной мере решить эту проблему, так как взаимодействие происходит на уровне бензольных колец, присутствующих во всех типах используемых фоторезистов, а также в графене, не зависимо от способа его получения [11]. Усугубляет проблему то, что традиционный метод контроля удаления фоторезиста в оптическом микроскопе не позволяет обнаружить ЛОР. Наиболее полную информацию о присутствии ЛОР позволяют получить методы атомно-силовой микроскопии (АСМ) и спектроскопии комбинационного рассеяния света (КРС) [11]. Одно из направлений решения этой проблемы — введение защитного слоя (ЗС) между графеном и фоторезистом, ограничивающего взаимодействие между ними [12,13]. Получены обнадеживающие результаты по данным АСМ и спектроскопии КРС при использовании ЗС [12]. Однако практически нет данных, в какой степени удалось сохранить исходные адсорбционные свойства графена после ФЛГ с ЗС и улучшить результаты детектирования вирусов гриппа и коронавируса SARS-CoV-2. Следует также отметить, что большая часть исследований проводилась на слоях графена, полученных эпитаксиальными методами.

В данной работе приведены экспериментальные результаты исследования свойств графена, полученного на подложках SiC методом термического разложения, до и после создания заданной топологии чипа биосенсора. Выяснено влияние ЛОР на воспроизводимость параметров чипов биосенсоров, а также на адсорбционные и детектирующие свойства графена в чипах.

## 2. Методика эксперимента

Исследования проводились на чипах с двумя контактами (графеновые сопротивления) с размерами  $1.5 \times 2$  мм, смонтированных на держатель из текстолита. Размер сенсорной площади (рабочей поверхности графена в чипе) —  $1 \times 1.5$  мм. Вид чипа биосенсора приведен в работе [14]. Чипы были получены из нескольких пластин с пленками графена, сформированными методом термического разложения полуизолирующих подложек 4H-SiC. Детали процессирования чипов и их монтажа на держатели приведены в работе [14].

### 2.1. Получение пленок графена на поверхности SiC методом сублимации

В наших экспериментах использовались полуизолирующие подложки 4H-SiC с минимальным углом разориентации ( $\alpha \sim 0$ ), рост осуществлялся в ориентации (0001)  $\pm 0.25^\circ$  (грань Si). Для предварительной очистки поверхности подложки SiC применяли предостовое травление в атмосфере водорода. Использовалась газовая смесь, содержащая аргон (объемная доля 95%) и водород (объемная доля 5%). Затем проводили выращивание графена на поверхности SiC при температуре 1700–1800°C в

атмосфере аргона (720–750 Торр) в графитовом тигле с индукционным нагревом.

### 2.2. Формирование топографии биосенсорных чипов на пластинах графен/SiC

Для формирования топографии чипов на пластинах графен/SiC использовались методы фотолитографии и фоторезист AZ1318. Удаление фоторезиста осуществлялось в ацетоне. Наряду с традиционным контролем удаления фоторезиста с поверхности графена под оптическим микроскопом был введен контроль поверхности графена методами АСМ на пластине и после ФЛГ. Кроме того, были проведены эксперименты с введением защитного слоя LOR-10B между фоторезистом и графеном, предотвращающего их взаимодействие. Удаление защитного слоя осуществлялось в разбавленном растворе проявителя (1% раствор щелочи). Для получения омических контактов использовали напыление Ti/Au (2/200 нм) [14].

### 2.3. Проведение процессов формирования биосенсорного чипа на основе структуры графен/SiC

Для обеспечения сенсорной способности графенового чипа обычно осуществляется функционализация графена [7,8]. Функционализация графена создает ковалентные связи на его поверхности для присоединения специализированного иммунного белка и (или) антитела. Мы использовали ковалентную функционализацию графена как наиболее простую, надежную и доступную. В данной работе процесс функционализации поверхности графена в чипе осуществлялся в два этапа: путем создания ковалентных связей при нанесении нитрофениловых групп (нитробензол,  $C_6H_5NO_2$ ) и их последующего восстановления до фениламинных групп (аминобензол,  $C_6H_5NH_2$ ) с применением метода циклической вольт-амперометрии. Процесс функционализации графена описан авторами в деталях в работе [15].

После функционализации поверхности все чипы инкубировались в растворе, содержащем моноклональные антитела к нуклеопротеину вируса гриппа В, в течение 3 ч при 37°C, после чего проводилась однократная промывка в фосфатно-буферном солевом растворе (PBS). Затем проводилось обнаружение вирусных антигенов гриппа В и SARS-CoV-2 в PBS. Концентрация вируса гриппа В в растворе PBS составляла  $10^{-14}$ – $10^{-9}$  г/мл. Следует отметить, что процедура присоединения антител и детектирования вируса гриппа В и SARS-CoV-2 отличаются только использованными антителами и антигенами. Антитела к NP вируса гриппа В — клон 6G1. Антитела к NP коронавируса SARS-CoV-2 — клон 3CV4.

Для иммобилизации антител на функционализированной поверхности графена во всех экспериментах мы использовали антитела одинаковой концентрации, разведенные в буферном растворе. Моноклональные антитела

были растворены в концентрации 200 мкг/мл в PBS. Концентрация антител была выше, чем возможные места с нитрогруппами, подходящие для прикрепления антитела.

#### 2.4. Детектирование вирусов

В детектировании использовали штаммы вируса гриппа В/Brisbane/46/15, полученные из коллекции музея вирусов „НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева“ Минздрава России. Все эксперименты с вирусами проводились в установке BSL-2 НИИ гриппа его сотрудниками, которые являются соавторами работы.

В качестве анолита использовали лизаты (смесь антигенов, полученных из инактивированных вирусов) очищенных концентратов вирусов. Лизаты получали путем разведения вирусов в лизирующем буфере (200 мМ DTT, 0,05% Tween 20 в PBS) с последующей стадией замораживания–оттаивания. Такие вирусные лизаты содержат в основном разрушенные вирионы (полностью сформированные вирусные частицы, состоящие из нуклеиновой кислоты и липидной оболочки (капсида) и находящиеся вне живой клетки), поэтому концентрацию вирусов в лизатах оценивали по тотальному вирусному белку, измеренному модифицированным методом Лоури с использованием RC DC Protein Assay Kit („Bio-Rad“, США). Растворы анолитов готовили путем десятикратных разведений в PBS. Инкубацию с анолитами проводили при комнатной температуре.

Работа биосенсора в наших исследованиях основана на иммунореакции антиген–антитело на поверхности графена. Селективность зондирования в основном обусловлена природой иммунореакции: только родственные (совпадающие) антигены и антитела участвуют во взаимодействии и могут изменять электрические свойства графена. Однако другие вирусы могут влиять на отклик биосенсора через механизмы, отличные от иммунореакции.

Отклик биосенсоров с иммобилизованными антителами исследовался в условиях разбавленных растворов соответствующих антигенов, чтобы сделать понятным влияние поверхности графена на детектирование.

В процессе детектирования на графеновый чип, покрытый антителами к нуклеопротеину вируса гриппа В или SARS-CoV-2, подавалось напряжение постоянного тока (20–80 мВ). Чип погружался в разбавленный PBS раствор вируса гриппа В (содержащий антиген нуклеопротеина) на 30 с. Нуклеопротеин вируса гриппа В химически присоединяется к комплементарному ему антителу, что приводит к изменению сопротивления графенового канала, которое может быть быстро обнаружено по току, протекающему через чип графен/SiC.

#### 2.5. Методы исследования

На исходных чипах на основе пленок графена и после каждой стадии получения биосенсора исследовались вольт-амперные характеристики (ВАХ), спектры КРС,

несущие информацию о структурных свойствах пленки графена. Морфология поверхности и распределение поверхностного потенциала контролировались методами атомно-силовой микроскопии (АСМ) и кельвинзондовой микроскопии (КЗМ). Кроме того, для визуализации присоединения антител и вирусов гриппа на поверхность графена использовались методы растровой электронной микроскопии (РЭМ).

Измерения АСМ и КЗМ проводились на установке Ntegra AURA (НТ-МДТ, Россия). АСМ-исследования проводились с использованием кантилевера HA\_FM (www.tipsnano.com) в резонансном режиме работы. Работа АСМ проводилась в контактном полуконтактном режиме при частоте и скорости сканирования 0,6 Гц и 1,3 мкм/с соответственно. Коэффициент жесткости такого кантилевера составляет 3,5 Н/м, радиус кривизны —  $\sim 10$  нм, размер поля сканирования —  $256 \times 256$  точек.

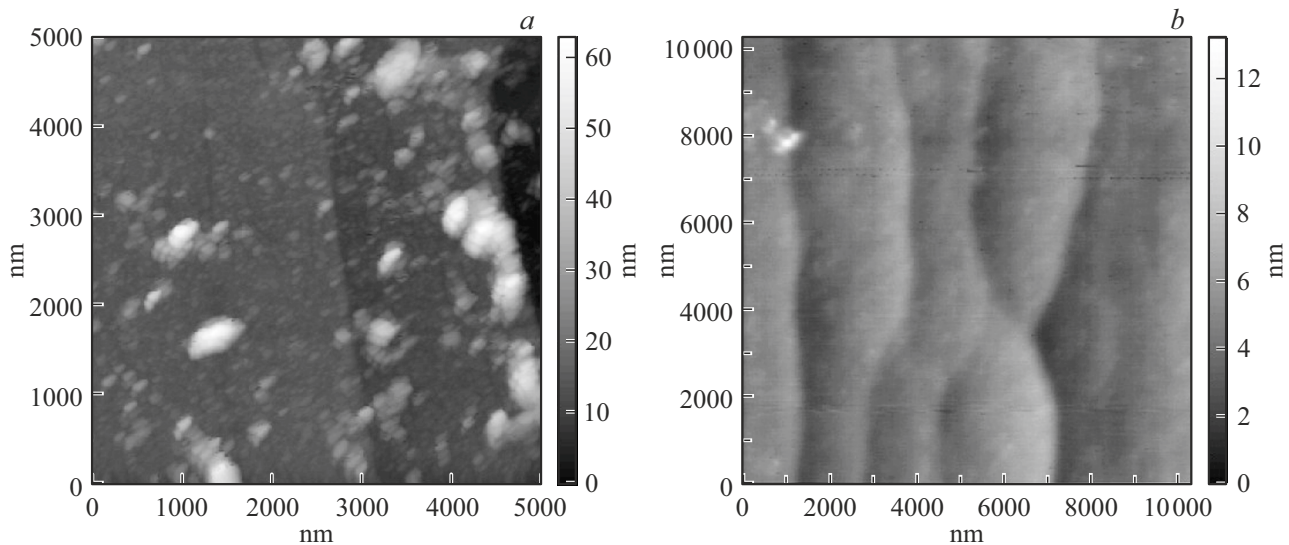
ВАХ измерялись с помощью источника питания KEITHLEY 6487. РЭМ анализ поверхности чипа проводился на микроскопе JSM 7001F (Jeol, Япония) в режиме вторичных электронов при ускоряющем напряжении 5 кэВ и токе пучка 12 пА.

Измерения спектров проводились при комнатной температуре в геометрии обратного рассеяния с помощью спектрометра Horiba LabRAM HREvo UV-VIS-NIR-Open, оснащенного конфокальным микроскопом. Мощность YAG:Nd лазера с длиной волны 532 нм была ограничена до 1,0 мВт в пятне диаметром 1 мкм для предотвращения повреждения и модификации графеновых пленок. Наряду с локальными измерениями анализировались участки образцов размером  $10 \times 10$  мкм с последующим построением карт КРС и гистограмм параметров спектральных линий.

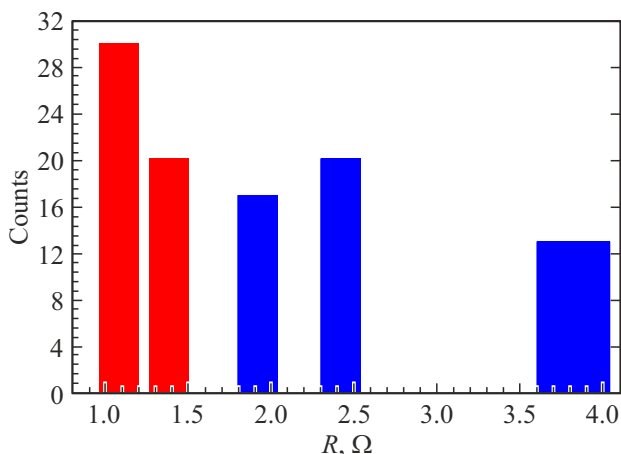
### 3. Экспериментальные результаты

Контроль топографии поверхности графена проводился методами АСМ на всех этапах получения графенового чипа и превращения его в сенсор вирусных инфекций: после формирования пленки графена, металлизации контактных областей, нанесения и удаления фоторезиста, резки на чипы, а также на собранных чипах до и после детектирования вирусных антигенов. Количественно изменение морфологии графена оценивалось по изменению величины среднеквадратичной шероховатости поверхности графена (rms) в полях сканирования  $10 \times 10$  и  $2 \times 2$  мкм.

На рис. 1, а приведена топография поверхности графена в чипе после процесса фотолитографии при контроле удаления остатков фоторезиста АСМ после всех операций получения (процессирования) чипов, которые включали 3–4 операции нанесения и удаления резиста. После удаления резиста наблюдается появление неоднородно распределенных ЛОР (светлые области разных размеров и формы на изображении) и рост rms по сравнению с



**Рис. 1.** АСМ-изображения топографии поверхностей графена в чипах в поле сканирования  $10 \times 10$  мкм: *a* — после многократного проведения нанесения и удаления фоторезиста на пластину при процессировании чипа,  $\text{rms} = 12$  нм, и *b* — после оптимизации процесса фотолитографии,  $\text{rms} = 1.4$  нм.



**Рис. 2.** Гистограмма распределения значений сопротивления чипов биосенсоров на пластинах EG402 (синие столбцы) и EG417 (красные столбцы). Общее количество чипов, изготовленных из каждой пластины, — 50 штук. (Цветной вариант рисунка представлен в электронной версии статьи).

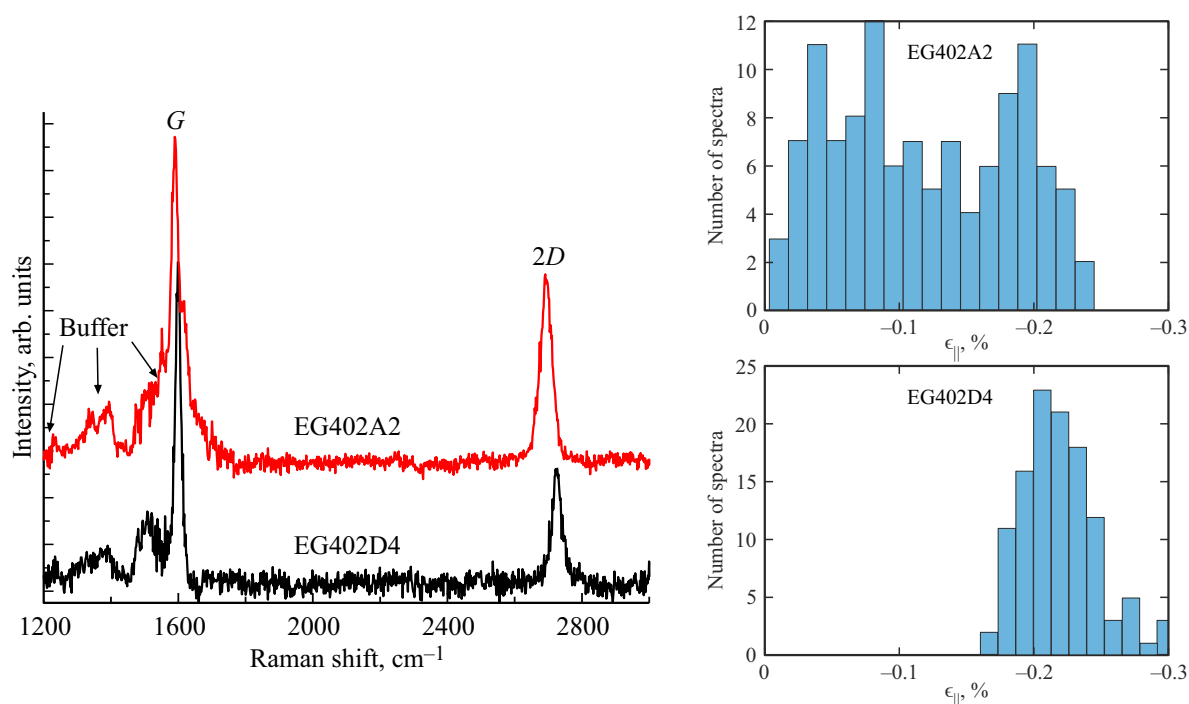
исходными значениями на пластине с графеном до ФЛГ. При этом в отдельных полях сканирования  $10 \times 10$  и  $2 \times 2$  мкм наблюдается увеличение  $\text{rms}$  до 10 раз.

Присутствие ЛОР на поверхности графена приводит к не воспроизводимости величины сопротивления чипов, полученных из одной пластины. На рис. 2 представлены гистограммы распределения величины сопротивления чипов, полученных с двух пластин. Синие столбики отражают разброс величины сопротивления чипов от 1.8 до 4 Ом, полученных из пластины с неоднородным распределением ЛОР и увеличением параметра  $\text{rms}$  от 1.4 до 12 нм до и после ФЛГ соответственно.

Для уменьшения загрязнения поверхности графена ЛОР было апробировано два способа: (1) уменьшение числа фотолитографий с контролем удаления фоторезиста после каждой ФЛГ методами АСМ; (2) введение ЗС между графеном и фоторезистом при каждом нанесении фоторезиста. Оба способа позволили существенно уменьшить количество ЛОР и получить значения  $\text{rms}$  поверхности графена в чипах, близкие к исходным значениям до ФЛГ. Типичный вид такой поверхности графена в чипе приведен на рис. 1, *b*. Установлено, что на чипах, полученных из пластин с оптимизированным процессом ФЛГ, наблюдается значительное уменьшение величины и дисперсии сопротивления чипов, полученных из одной пластины, от 1 до 1.5 Ом, как показано на гистограмме на рис. 2 красными столбцами.

Исследование спектров комбинационного рассеяния света на чипах с отличающимися значениями  $\text{rms}$  1.4 и 12 нм (рис. 3) показало, что присутствие ЛОР не только уменьшает площадь пленки графена, адсорбирующей антитела и вирусные антигены, но приводит к неоднородному распределению сжимающих напряжений и концентрации носителей заряда в пленках графена.

Следует отметить, что спектры чипов (рис. 3) демонстрируют высокое качество графена в чипах, исходя из соотношения интенсивности полос  $G$  и  $2D$  линий, а также отсутствия линии  $D$  в спектрах, связанной с дефектами [16,17]. Анализ распределения ширины линии  $2D$  на полувысоте на площади  $10 \times 10$  мкм [18], показывает, что монослойный графен в чипах содержит не более 30% бислойного графена. Известные соотношения [19] позволяют получить из данных спектроскопии КРС карты распределения биаксиальных напряжений ( $\epsilon_{\parallel}$ ) и концентрации свободных электронов ( $n_e$ ) в пленках графена в чипах.



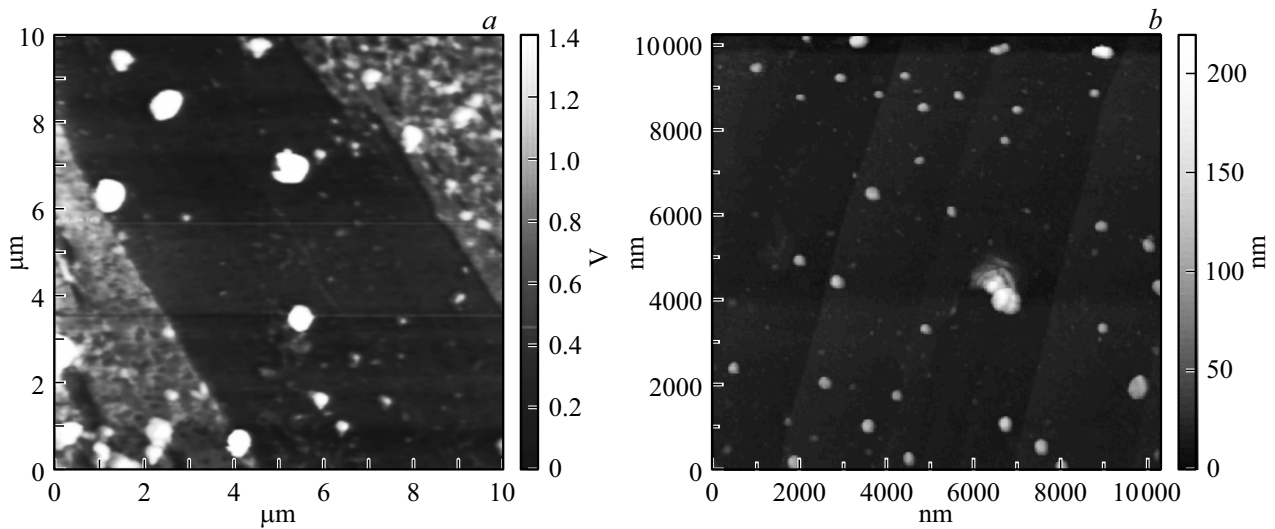
**Рис. 3.** Типичные спектры КРС графена в двух чипах с отличающимися значениями  $gms$ : Черная линия — чип EG402D4 с малым содержанием ЛОР ( $gms = 1.4$  нм). На вставке показана гистограмма распределения сжимающих напряжений. Красная линия — чип EG402A2 с большим содержанием ЛОР ( $gms = 12$  нм). На вставке показана гистограмма распределения сжимающих напряжений.

Гистограммы распределения сжимающих напряжений в чипах с отличающимися значениями  $gms$  представлены на вставках к рис. 3. На чипах со значением  $gms = 12$  нм, с большим количеством ЛОР, наблюдается довольно большой разброс значений сжимающих напряжений от 0 до  $-0.25\%$ , а также разброс концентрации электронов  $(1-8) \cdot 10^{12} \text{ см}^{-2}$ . На чипах со значениями  $gms = 1.4$  нм, близкими к исходным значениям на пластине, разброс существенно меньше и по напряжениям (от  $-0.16$  до  $-0.3\%$ ), и по концентрации электронов  $(4-8) \cdot 10^{12} \text{ см}^{-2}$ .

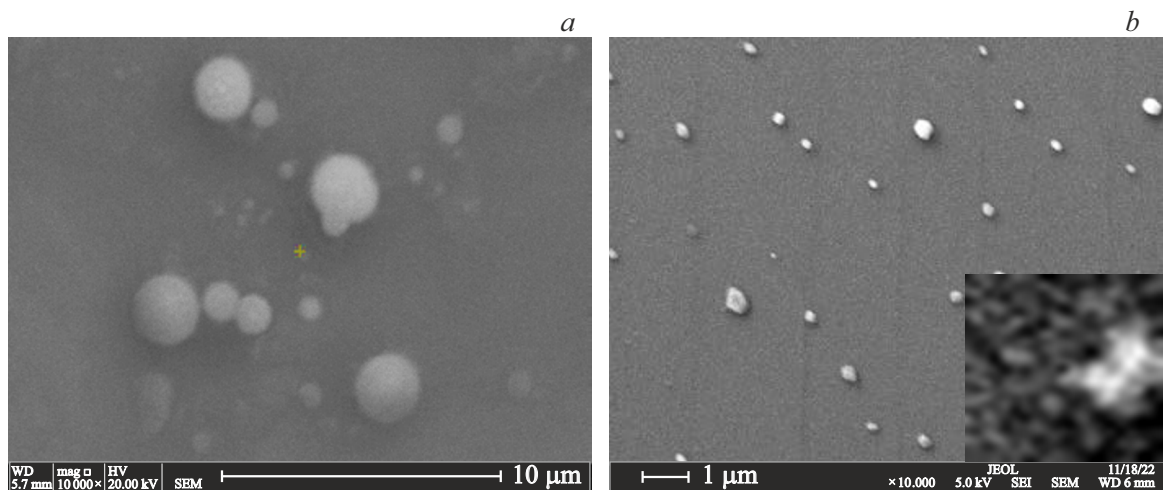
На этих же чипах, существенно отличающихся по содержанию ЛОР и  $gms$ , были одновременно проведены все последующие стадии обработки поверхности графена (функционализация и иммобилизация к вирусным антигенам) и эксперименты по детектированию вирусов. Процедура проведения детектирования вирусов приведена в разд. 2.4. Был использован набор разведений вируса гриппа В и белка NP SARS-CoV-2 в растворе PBS с концентрациями:  $10^{-9}$ ,  $10^{-10}$ ,  $10^{-11}$ ,  $10^{-12}$ ,  $10^{-13}$  г/мл. Для каждой концентрации измерялась величина тока через чип и строилась зависимость величины тока (сопротивления) от концентрации вирусов в растворе. Общепринятым считается, что существование концентрационной зависимости сигнала биосенсора подтверждает протекание реакции присоединения вирусного антигена к антителу, иммобилизованному на поверхности графена, в том числе и при нелинейном характере этой зависимости [20]. На чипах с превышением значений  $gms$

в несколько раз после ФЛГ относительно исходных значений, как правило, концентрационная зависимость сигнала биосенсора не выявляется. Наилучшие результаты по детектированию вирусов наблюдаются на чипах с отклонениями  $gms$  после ФЛГ от исходных значений не более чем на 30%. На таких чипах наблюдается не только концентрационная зависимость, но и появление новых локальных областей преимущественно сферической формы в АСМ-изображениях (рис. 4), в полях  $10 \times 10$  и  $2 \times 2$  мкм, по сравнению с топографией исходной поверхности (рис. 1, *b*). При этом размеры локальных областей существенно отличаются (до 10 раз).

Поверхность графена этих же чипов исследовалась в РЭМ. Вид поверхностей представлен на рис. 5. Размеры локальных областей, так же, как и в АСМ, отличаются на порядок. Предполагается, что в локальных областях изображений АСМ и РЭМ визуализированы вирусы и их агрегаты разного размера. На вставке к рис 5, *b* (общий размер вставки  $300 \times 300$  нм) видно, что локальная область малых размеров,  $\sim 100$  нм, состоит из более мелких частиц. Корреляция изображений локальных областей на графене в РЭМ с вирусами была показана нами ранее в работе [2]. Вид крупных, до нескольких микрон, агрегатов вируса гриппа В в РЭМ оказался идентичным изображениям агрегатов свиного гриппа в РЭМ на других поверхностях [21]. РЭМ-изображения (рис. 5) выявляют присутствие на поверхности вирусов с существенно отличающимися размерами, особенно для вируса SARS-CoV-2. Для них даже локальные области



**Рис. 4.** АСМ-изображения поверхностей графена в чипах после детектирования вирусов с близкой концентрацией  $10^{-9}$  г/мл гриппа В (*a*) и SARS-CoV-2 (*b*).



**Рис. 5.** Изображения поверхностей графена в чипах после детектирования вирусов гриппа В (*a*) и SARS-CoV-2 (*b*) с близкой концентрацией  $10^{-9}$  г/мл. На вставке показано увеличенное изображение маленькой локальной области ( $300 \times 300$  нм).

с размером 100 нм оказались агрегатами более мелких частиц (см. вставку к рис. 5, *b*). В связи с этим сразу возникает вопрос о концентрационной зависимости сигнала биосенсора в случае агрегации вирусов и о влиянии агрегатов разных размеров на вид этой зависимости.

#### 4. Заключение

Представлены результаты исследования модификации адсорбционных свойств графена в процессе создания топологии чипов биосенсоров вирусов гриппа В и SARS-CoV-2 методами фотолитографии. Пленки графена получены термическим разложением подложек SiC. Экспериментально показано, что локальные области, возникающие при проведении ФЛГ в результате

взаимодействия бензольных колец в графене и резисте, уменьшают площадь адсорбционной поверхности графена. Кроме этого, эти области также усиливают неоднородность распределения напряжений и концентрации свободных носителей в пленках графена. Такая модификация свойств графена приводит к ухудшению воспроизводимости значений сопротивления чипов биосенсоров, полученных из одной пластины. Кроме того, она ухудшает эффективность обнаружения вирусов, вплоть до отсутствия зависимости сигнала биосенсора от концентрации вирусов. Контроль состояния поверхности графена методами АСМ, в том числе количественно по значениям  $gms$ , или введение защитного слоя между слоями графена и резиста в процессе ФЛГ позволяет минимизировать эти негативные эффекты. Наилучшие результаты по детектированию вирусов наблюдаются на

чипах с отклонениями rms после ФЛГ от исходных значений не более чем на 30%. На таких чипах наблюдается не только концентрационная зависимость, но и появление новых локальных областей на изображениях поверхности графена в АСМ и РЭМ. Обсуждается предположение о визуализации этими методами агрегатов вирусов в выявленных локальных областях, а также существенно меньшие размеры агрегатов вирусов SARS-CoV-2 по сравнению с вирусами гриппа В.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

### Список литературы

- [1] R.M. Torrente-Rodriguez, H. Lukas, J. Tu, J. Min, Y. Yang, C. Xu, H.B. Rossiter, W. Gao. *Nature Biotechnol.*, **38**, 217 (2020).
- [2] N.M. Schmidt, A.S. Usikov, E.I. Shabunina, A.V. Nashchekin, E.V. Gushchina, I.A. Eliseev, V.N. Petrov, M.V. Puzyk, O.V. Avdeev, S.A. Klotchenko, S.P. Lebedev, E.M. Tanklevskaya, Yu.N. Makarov, A.A. Lebedev, A.V. Vasin. *Biosensors*, **12**, 8 (2022).
- [3] A.D. Da Silva, W.J. Paschoalino, J.P.V. Damasceno, L.T. Kubota. *ChemElectroChem*, **16**, 4508 (2020)
- [4] D.M.A. Mackenzie, J.D. Buron, P.R. Whelan, J.M. Caridad, M. Bjergfelt, B. Luo, A. Shivayogimath, A.L. Smitshuysen, J.D. Thomsen, T.J. Booth, L. Gammelgaard, J. Zultak, B.S. Jessen, P. Bøggild, D.H. Petersen. *Nano Research*, **10**, 3596 (2017).
- [5] I. Shteplyuk, F. Giannazzo, R. Yakimova. *Appl. Sci.*, **11**, 5784 (2021).
- [6] T.J.M. Fraga, M.N. Carvalho, M.G. Ghislandi, M.A. da Motta Sobrinho. *Braz. J. Chem. Eng.*, **36**, 1 (2019).
- [7] E.H. Lock, J.C. Prestigiacomo, P. Dev, A. Nath, R.L. Myers-Ward, T.L. Reinecke, D.K. Gaskill, M.S. Osofsky. *Carbon*, **175**, 490 (2021).
- [8] G. Wu, X. Tang, M. Meyyappan, K.W.C. Lai. *Appl. Surf. Sci.*, **425**, 713 (2017).
- [9] M. M. Ali, J.J. Mitchell, G. Burwell, K. Rejnhard, C.A. Jenkins, E. Daghigh Ahmadi, S. Sharma, O.J. Guy. *Nanomaterials*, **11**, 2121 (2021).
- [10] K. Kumar, Y.S. Kim, E.H. Yang. *Carbon*, **65**, 35 (2013).
- [11] Sh.-W. Lee, M. Muoth, T. Helbling, M. Mattmann, Ch. Hierold. *Carbon*, **66**, 295 (2014).
- [12] A. Choi, A. Tuan Hoang, T.Th. Ngoc Van, B. Shong, L. Hu, K.Y. Thai, J.-H. Ahn. *Chem. Eng. J.*, **429**, 132504 (2022).
- [13] Ch-Y. Zhu, S. Peng, X. Zhang, Y. Yao, X. Huang, Y. Yan, D. Zhang, J. Shi, Zh. Jin. *Nanotechnology*, **32**, 315201 (2021).
- [14] A.A. Lebedev, V.Y. Davydov, D.Y. Usachov. *J. Phys. Conf. Ser.*, **951**, 012007 (2018).
- [15] A. Usikov, K. Borodkin, S. Novikov, A. Roenkov, A. Goryachkin, M. Puzyk, I. Barash, S. Lebedev, S.A. Zubov, Y. Makarov. *Proc. Est. Acad. Sci.*, **68**, 207 (2019).
- [16] V.Yu. Davydov, D.Yu. Usachov, S.P. Lebedev, A.N. Smirnov, V.S. Levitskii, I.A. Eliseyev, P.A. Alekseev, M.S. Dunaevskiy, O.Yu. Vilkov, A.G. Rybkin, A.A. Lebedev. *Semiconductors*, **51** (8), 1072 (2017).
- [17] T. Wang, J.R. Huntzinger, M. Bayle, C. Roblin, J.M. Decams, A.A. Zahab, S. Contreras, M. Paillet, P. Landois. *Carbon*, **163**, 224 (2020).
- [18] J.E. Lee, G. Ahn, J. Shim, Y.S. Lee, S. Ryu. *Nature Commun.*, **3** (1), 1024 (2012).
- [19] I.A. Eliseyev, V.Yu. Davydov, A.N. Smirnov, M.O. Nestoklon, P.A. Dementev, S.P. Lebedev, A.A. Lebedev, A.V. Zubov, S. Mathew, J. Pezoldt, K.A. Bokai, D.Yu. Usachov. *Semiconductors*, **53** (14), 1904 (2019).
- [20] Zh. Gao, H. Kang, C.H. Naylor, F. Streller, P. Ducos, M.D. Serano, J. Ping, J. Zauberman, R.W. Carpick, Y.-J. Wang, Y.W. Park, Zh. Luo, L. Ren, A.T.Ch. Johnson. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **8**, 27546 (2016).
- [21] Science Photo Library. Available online: [sciencephoto.com/media/249227/view/coloured-sem-of-influenza-virus-on-cell-surface](https://sciencephoto.com/media/249227/view/coloured-sem-of-influenza-virus-on-cell-surface) (accessed on 09.12.2022).

Редактор А.Н. Смирнов

### Modification in adsorption properties of graphene during the development of viral biosensors

I.A. Eliseev<sup>1</sup>, E.A. Gushchina<sup>1</sup>, S.A. Klotchenko<sup>2</sup>, A.A. Lebedev<sup>1</sup>, N.M. Lebedeva<sup>1</sup>, S.P. Lebedev<sup>1</sup>, A.V. Nashchekin<sup>1</sup>, V.N. Petrov<sup>1</sup>, M.V. Puzyk<sup>3</sup>, A.D. Roenkov<sup>4</sup>, A.N. Smirnov<sup>1</sup>, E.M. Tanklevskaya<sup>1</sup>, A.C. Usikov<sup>4,5</sup>, E.I. Shabunina<sup>1</sup>, N.M. Schmidt<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ioffe Institute,

194021 St. Petersburg, Russia

<sup>2</sup> Smorodintsev Research Institute of Influenza,

197376 St. Petersburg, Russia

<sup>3</sup> Herzen State Pedagogical University of Russia,

191186 St. Petersburg, Russia

<sup>4</sup> Nitride Crystals Group,

194156 St. Petersburg, Russia

<sup>5</sup> ITMO University,

197101 St. Petersburg, Russia

**Abstract** The well-known effect of the local interaction between graphene and photoresist (LIGF) during the creation of biosensors is shown to lead to non-uniform distribution of compressive stresses, which deteriorates the adsorption properties of graphene, parameter reproducibility, and detecting ability of influenza B and SARS-Cov-2 biosensors. It is also shown that controlling the occurrence of LIGF areas on a graphene surface by atomic force microscopy or introducing a protective layer between graphene and photoresist can minimize the non-persistent effect of LIGF. The results of influenza B and SARS-CoV-2 imaging on the graphene surface in biosensor chips in a scanning electron microscope are presented.