02

Оптимизация условий функционализации стекла флуоресцентно-меченными олигонуклеотидами для создания воспроизводимых ДНК-наносенсорных и фотонных устройств

© В.В. Веселова [1], К.В. Арабули [2], П.В. Филатов [2,¶], И.А. Резник [2,¶], М.В. Зюзин [2]

[1] Факультет биотехнологий, Университет ИТМО,
Санкт-Петербург, Россия
[2] Физико-технический мегафакультет, Университет ИТМО,
Санкт-Петербург, Россия

[¶] e-mail: filatovpaul22@gmail.com, ivan.reznik@metalab.ifmo.ru

Поступила в редакцию 30.10.2025 г.
В окончательной редакции 19.11.2025 г.
Принята к публикации 20.11.2025 г.

Проведено систематическое сравнительное исследование эффективности четырех протоколов активации стеклянной поверхности (двух химических и двух физико-химических) в комбинации с различными концентрациями (3-аминопропил)триэтоксисилана (APTES: 1%, 2% и 4% об.). Впервые на силанизированной стеклянной подложке в качестве иммобилизуемого олигонуклеотида использовался универсальный молекулярный маяк (UMB), меченный флуоресцеином (FAM). Эффективность методов оценивалась путем измерения краевого угла смачивания и флуоресцентного анализа с расчетом отношения сигнал/фон (S/B). Показано, что протоколы с использованием кислородной плазмы обеспечивают наибольшую гидрофильность поверхности (краевой угол $4.9^\circ - 5.5^\circ$), однако демонстрируют более низкое отношение S/B по сравнению с химическими методами. Наилучшие результаты достигнуты при использовании Протокола 1 (химическая активация раствором серной кислоты и перекиси водорода) с концентрацией APTES 2%, что обеспечило максимальное отношение S/B (5.2 ± 0.9). Таким образом, в результате работы был выбран оптимальный протокол иммобилизации UMB на поверхности стекла, который может лечь в основу создания перспективных ДНК-наносенсоров и фотонных устройств.

Ключевые слова: функционализация стекла, иммобилизация олигонуклеотидов, ДНК-наносенсоры, ДНК-фотоника, активация поверхности.

DOI: 10.61011/OS.2025.11.62172.8712-25

1. Введение

Развитие нанотехнологий создаёт фундамент для направленного конструирования функциональных материалов и устройств, свойства которых контролируются на молекулярном уровне. В этом контексте технологии на основе нуклеиновых кислот занимают особое положение благодаря уникальному сочетанию характеристик, обеспечивающих их широкое применение. Ключевое преимущество заключается в возможности программируемой самосборки структур с нанометровой точностью посредством уотсон-криковских взаимодействий [1], что позволяет создавать объекты заданной формы с высокой точностью [2,3]. Эта способность к молекулярной сборке лежит в основе разработки высокоспецифичных сенсорных и терапевтических систем [4–6], эффективность которых дополняется высокой биосовместимостью и биодеградируемостью ДНК-наноструктур [7–9]. Важным аспектом является также возможность формирования гетероструктур путём иммобилизации олигонуклеотидов на поверхности различных материалов, таких как плазмонные [10] и магнитные наночастицы [11], графеновые наноструктуры [12], полимеры [13] и диоксид кремния [14], что открывает перспективы для использования при поиске однонуклеотидных замен, мутаций и оценке экспрессии генов.

ДНК-технологии также демонстрируют значительный потенциал и в других междисциплинарных исследованиях. Так, перспективным направлением становится интеграция ДНК-технологий в специфических областях фотоники, что позволяет создавать принципиально новые системы с уникальными свойствами. Так, ДНК может служить высокоэффективной матрицей для интеграции органических красителей, квантовых точек и хромофоров, предотвращая их агрегацию и позволяя создавать нелинейные оптические материалы с выраженными нелинейными показателем преломления и двухфотонным поглощением [15–19]. Было также показано, что стабилизация молекул красителя в ДНК-матрице на стеклянной подложке приводит к значительному увеличению квантового выхода флуоресценции за счет подавления безызлучательных переходов, что создает основу для разработки биосовместимых волноводных лазеров и высокоэффективных флуоресцентных сенсоров [20–22]. Внедрение в фотонные системы ДНК-структур позволяет с нанометровой точностью организовывать плазмонные наночастицы и квантовые точки в пространстве,

позволяя конструировать сложные устройства, такие как плазмонные наноантенны, волноводы, метаповерхности и фотонные кристаллы [23,24]. Более того, интеграция ДНК-сенсоров непосредственно в оптические волноводы формирует основу для создания лабораторий-на-чипе, обеспечивая высокочувствительную детекцию биологических аналитов [25,26].

Несмотря на разнообразие направлений в ДНК-фотонике, особую роль играют системы на основе олигонуклеотидов, иммобилизованных на стекле. Подобные системы обладают уникальным набором характеристик, критически важных для оптических применений: высокая прозрачность в диапазоне от видимого до ИК излучения (400–1700 nm) [27–29], низкие оптические потери в волноводах (порядка 0.06 dB/cm) [30], химическая инертность и устойчивость к большинству реагентов, обеспечивающая долговременную стабильность иммобилизованных структур, а также простота фабрикации изготовления и низкая стоимость. Эти достоинства делают такие системы чрезвычайно перспективной платформой для создания современных фотонных и сенсорных систем [31–33].

Ключевым этапом в создании высокочувствительных биосенсоров является оптимальная функционализация стеклянных подложек олигонуклеотидами, для этого требуется подбор подходящих химических и физических показателей поверхности для стабильного и специфичного связывания с сохранением биологической активности. Очистка и активация поверхности — один из основных этапов, обеспечивающих однородное покрытие, повторяемость и долговечность функционализированной поверхности. Более того, такие параметры как нежелательная ориентация и конформация молекул, фоновый сигнал и неспецифическое связывание молекул могут снижать чувствительность и селективность сенсора. Все вместе это подводит к необходимости комплексного анализа и оптимизации функционализации стеклянных подложек олигонуклеотидами [34].

Несмотря на широкую применимость методов, основанных на иммобилизованных на стеклянной подложке олигонуклеотидах, в настоящее время отсутствуют систематические сравнения протоколов модификации поверхностей. Данный факт делает необходимым проведение комплексных экспериментов по подбору оптимальных протоколов перед началом исследований. В настоящей работе была проведена многофакторная оптимизация, в рамках которой рассматривались несколько протоколов силанизации стекла с использованием (3-аминопропил)триэтоксисилана (APTES), являющегося одним из ключевых факторов модификации. С этой целью были отобраны по 2 протокола химической и физической активации стекла с последующим использованием различных концентраций APTES (1%, 2% и 4% v/v). В качестве иммобилизуемого олигонуклеотида был применен универсальный молекулярный маяк (UMB). Насколько нам известно, UMB был впервые иммобилизирован на стеклянной подложке, силанизированной с использованием APTES [35]. Проведенная в рамках работы оптимизация модификации поверхности сенсоров закладывает фундамент для разработки высококачественных и воспроизводимых ДНК-сенсоров и фотонных устройств, поскольку устанавливает стандартизированный и эффективный протокол подготовки поверхности, критически важный для их чувствительности и стабильности.

2. Материалы и методы

2.1. Материалы и оборудование

(3-аминопропил)триэтоксисилан/APTES (ThermoFisher Scientific, США), стекла для микропрепаратов 26 на 76 mm (Минимед, Россия), этиловый спирт (Ekos, Россия), ацетон (Ekos, Russia), гидроксид натрия (Sigma-Aldrich, USA), гидроксид калия (Sigma-Aldrich, USA), изопропиловый спирт (Ekos, Россия), хлороформ (Ekos, Россия), метиловый спирт (Химмед, Россия), глутаровый альдегид (ThermoFisher Scientific, USA), фосфатно-солевой буфер (PBS) (Biolot, Россия), уксусная кислота (Ekos, Россия), раствор олигонуклеотидов (DNA SYNTHESIS, Россия), раствор серной кислоты (Ленреактив, Россия) и перекиси водорода 30% (Aldosa, Россия) (в соотношении 3 : 1). Орбитальный шейкер Vibramax 100 (Heidolph, Германия), ультразвуковая ванна „Сапфир“ ТТЦ (Sapphire, Россия), сухожаровой шкаф Binder ED 53 Avantgarde.Line (Binder GmbH, Германия), плазменная установка низкого давления (Diener ZEPTO 13.56 MHz, Ebhausen, Германия).

2.2. Методы

2.2.1. Очистка и активация стекол Для иммобилизации олигонуклеотидов, поверхность стекла предварительно активировалась. Для реализации процесса активации было выбрано четыре протокола, различающихся по типу воздействия (химическое, физическое) и количеству этапов.

В **Протоколе 1** предметные стёкла помещались в емкость Колпина для окрашивания объёмом 40 ml, наполовину наполненную раствором этанола и гидроксида натрия (10 M) в соотношении 3 : 7, и в течение 30 min инкубировались на орбитальном шейкере. Затем очищались дистиллированной водой и сушились в атмосфере азота. После этого стёкла наполовину погружались в раствор серной кислоты и перекиси водорода в отношении 3 : 1 и подвергались инкубации в течение 30 min на орбитальном шейкере. После активации стекла промывались дистиллированной водой и сушились в атмосфере азота [36].

При использовании **Протокола 2** предметные стёкла, наполовину погруженные в ацетон, подвергались обработке в ультразвуковой ванне в течение 30 min при

30 °C. Далее они подвергались промывке дистиллированной водой и ультразвуковой обработке в 5 M растворе KOH в течение 45 min при температуре 30 °C. Затем стекла очищались дистиллированной водой и подвергались ультразвуковой обработке 10 min при 30 °C. После этого стекла промывались еще раз дистиллированной водой, ацетоном и сушились в атмосфере азота. Далее они помещались в сухожаровой шкаф при температуре 110 °C на 30 min. После сушки стёкла очищались в плазме кислорода в течение 10 min при мощности 80% [37].

В **Протоколе 3** предметные стёкла последовательно активировались в течение 30 s хлороформом, изопропиловым спиртом, метанолом и дистиллированной водой и затем сушились в атмосфере азота [28].

Для активации, согласно **Протоколу 4**, предметные стёкла, наполовину погруженные в ацетон, инкубировались в ультразвуковой ванне в течение 10 min, затем ацетон заменяли на изопропиловый спирт и инкубировали в ультразвуковой ванне также в течение 10 min. Далее воспроизводили те же действия и после очистки с помощью изопропилового спирта стёкла сушили при комнатной температуре. После сушки стекла обрабатывались в плазме кислорода в течение 5 min при мощности 80% [38].

2.2.2. Измерение краевого угла смачивания

После проведения протоколов активации на контрольных стёклах был измерен краевой угол смачивания для воды с помощью прибора OCA 15EC (Filderstadt, Германия). С помощью системы прямой дозировки SD-DM в комбинации с электронным дозирующим модулем ES на стёкла были нанесены капли дистиллированной воды объёмом 10 μl и зафиксированы с помощью USB-камеры. Численные значения угла смачивания были получены при обработке данных с помощью программного обеспечения „SCA 20“.

2.2.3. Модификация стекол

В течение 5 min после активации стекла были помещены в ванночки, заполненные наполовину различными концентрациями APTES (1%, 2% и 4% v/v) в этиловом спирте, на 2 h при комнатной температуре. После инкубации стёкла промывались 96% этанолом, 6% уксусной кислотой и снова этанолом по 5 min на орбитальном шейкере. Затем полученные образцы стекол помещались в сухожаровой шкаф на 20 min при температуре 150 °C [39].

После этого стёкла погружались в 2.5% раствор глутаральдегида в PBS 1X на 1.5 h при комнатной температуре в темноте. После инкубации стекла промывались дистиллированной водой, PBS 1X и снова водой в течение 5 min на орбитальном шейкере. Далее сушились при комнатной температуре.

После высыхания раствор олигонуклеотидов концентрацией 10 μM наносили на подготовленные стекла в объеме 20 μl, в качестве контроля был использован буфер без олигонуклеотидов, наносимый в том же объёме. Стекла с олигонуклеотидами инкубировались в течение 2.5 h при комнатной температуре в емкостях с повышенной влажностью и закрытыми от света. Затем стекла промывались дистиллированной водой, PBS 10X и опять водой в течение 5 min каждый на орбитальном шейкере. Потом стёкла выкладывались вертикально и сушились при комнатной температуре. После высыхания на области куда ранее наносили раствор олигонуклеотидов, раскапывали буфер (Tris 7.4 и MgCl2 50 mM) и инкубировали 20 min при комнатной температуре.

2.2.4. Считывание флуоресцентного сигнала

Для реализации процесса считывания флуоресценции была собрана флуориметрическая оптическая схема (рис. S1, Приложение), основанная на принципе двойного монохроматора для обеспечения высокой спектральной селективности и подавления фонового излучения. В качестве источника возбуждающего света используется галогеновая лампа Avantes. Излучение лампы проходит через входную прямоугольную щель шириной 50 μm, которая служит для формирования узкого и хорошо коллимированного светового пучка. Далее свет попадает на входную отражающую нарезную дифракционную решётку с плотностью штрихов 1200 mm^{-1}, предназначенную для спектрального разложения входного излучения и выделения нужной длины волны возбуждения (493 nm). Дифрагировавший свет направляется при помощи серебряных зеркал к образцу с иммобилизованными олигонуклеотидами. Испускаемое им излучение направляется на выходную дифракционную решетку, аналогичную по параметрам входной. Эта решётка позволяет отделить рассеянный свет и фоновое излучение, а также выбрать для детектирования излучение в узком участке спектра около 517 nm, которое фокусируется на фотоумножителе.

3. Результаты

В работе проведено сравнительное исследование двух основных направлений активации стеклянной поверхности: физико-химического и химического методов. Физико-химический подход был представлен протоколами 2 и 4, основанными на обработке кислородной плазмой, но различающимися методикой предварительной подготовки стекла (см. пункт 2.2.1). В **Протоколе 2** применялась очистка органическими и щелочными растворителями, что вкупе с ультразвуковой обработкой и инкубацией в сушильном шкафу активировало поверхность стекла и удаляло с нее все загрязнения перед воздействием кислородной плазмы. Для сравнения в четвертом протоколе в отличие от второго использовались только органические растворители и в течениие более короткого времени обработки перед плазменной очисткой. Химические методы активации включали **Протокол 1** с использованием щелочи и раствора серной кислоты и перекиси водорода и более мягкий **Протокол 3** на

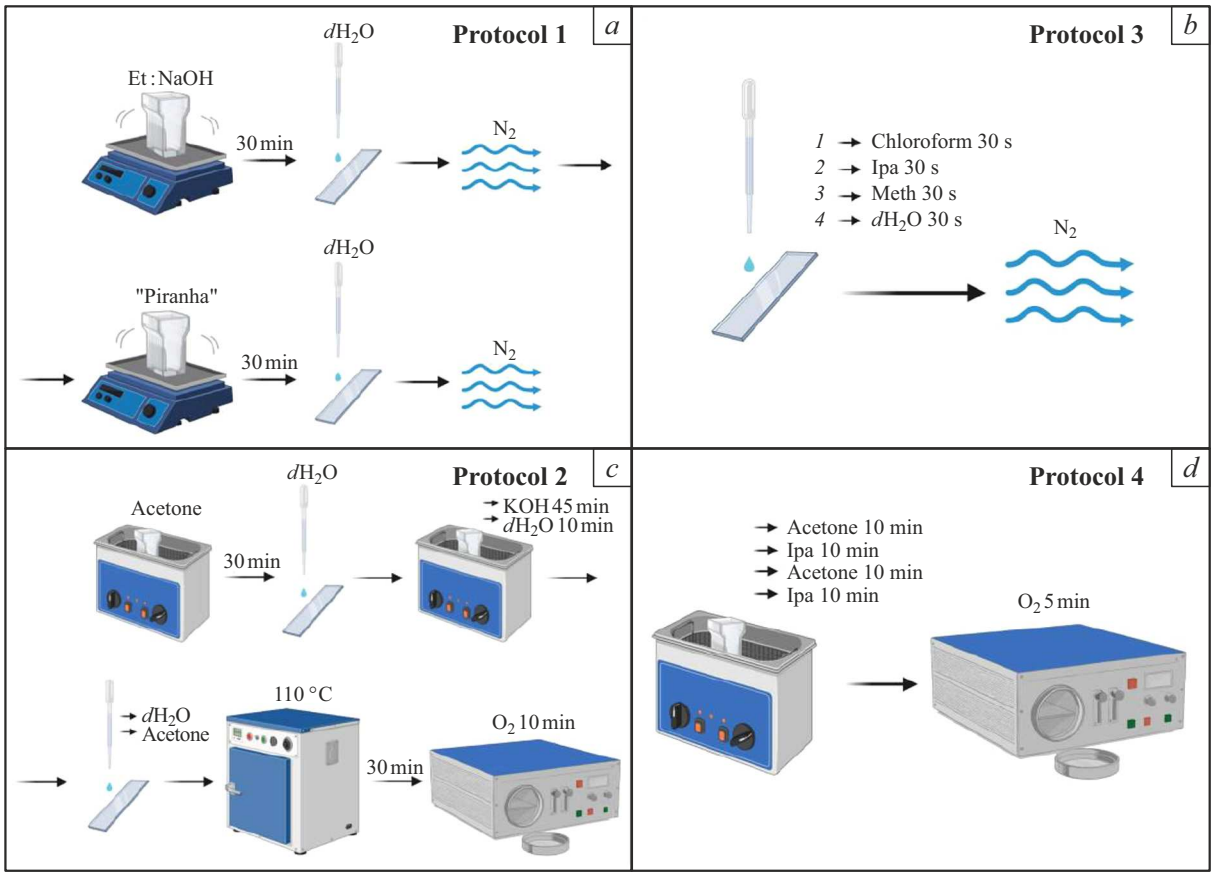

Рис. 1. Графические схемы протоколов активации стеклянной поверхности: химических — **Протокол 1** (*a*), **Протокол 3** (*b*) и физико-химических — **Протокол 2** (c) и **Протокол 4** (*d*).

основе органических растворителей. Схемы протоколов представлены на рис. 1.

3.1. Измерение краевого угла смачивания активированной стеклянной поверхности

Для первичной валидации эффективности выбранных протоколов активации поверхности проводились измерения краевого угла смачивания, позволяющие количественно оценить гидрофильно-гидрофобные свойства стеклянных поверхностей. Схематическое представление методики измерения приведено на (рис. 2, *a*). Анализ полученных данных продемонстрировал существенные различия в смачиваемости поверхностей в зависимости от применяемого протокола активации. Наименьшее значение краевого угла, характеризующее максимальную гидрофильность поверхности, было зарегистрировано для **Протокола 2** и составило $4.9 \pm 0.8°$. Близкие к нему показатели гидрофильности показал **Протокол 4** ($5.5 \pm 0.3°$). **Протокол 1** обеспечил значения угла смачивания, равные $10.3 \pm 1.5°$, в то время как **Протокол 3** привел к формированию наиболее гидрофобной поверхности с краевым углом $22.7 \pm 2.4°$. В качестве контроля использовалась не активированная поверхность стекла с краевым углом смачивания $29.0 \pm 5.5°$. Это подтверждает эффективность всех протоколов активации в повышении гидрофильности поверхности.

Проведенные исследования показали, что наибольшей гидрофильностью характеризовались поверхности, обработанные кислородной плазмой, что согласуется с литературными данными [40]. Столь высокая гидрофильность объясняется образованием на поверхности стекла гидроксильных групп (Si–OH) и силоксановых связей (Si–O–Si), что придает поверхности сверхгидрофильные свойства и повышенную реакционную способность [41,42]. Однако данный метод имеет существенное ограничение: исследования показывают, что высокая реакционная способность плазменной поверхности сохраняется лишь в течение нескольких минут после обработки, после чего полярные группы подвергаются рекомбинации или адсорбируют загрязнения из воздуха, значительно теряя свою реакционную способность [43]. Кроме того, данный метод требует дорогостоящего оборудования.

Химический метод, основанный на погружной обработке стекла, широко применяется в протоколах очистки и последующей силанизации для получения однородно функционализированной поверхности. Обеспечивается условие для равномерного контакта реактива с поверх-

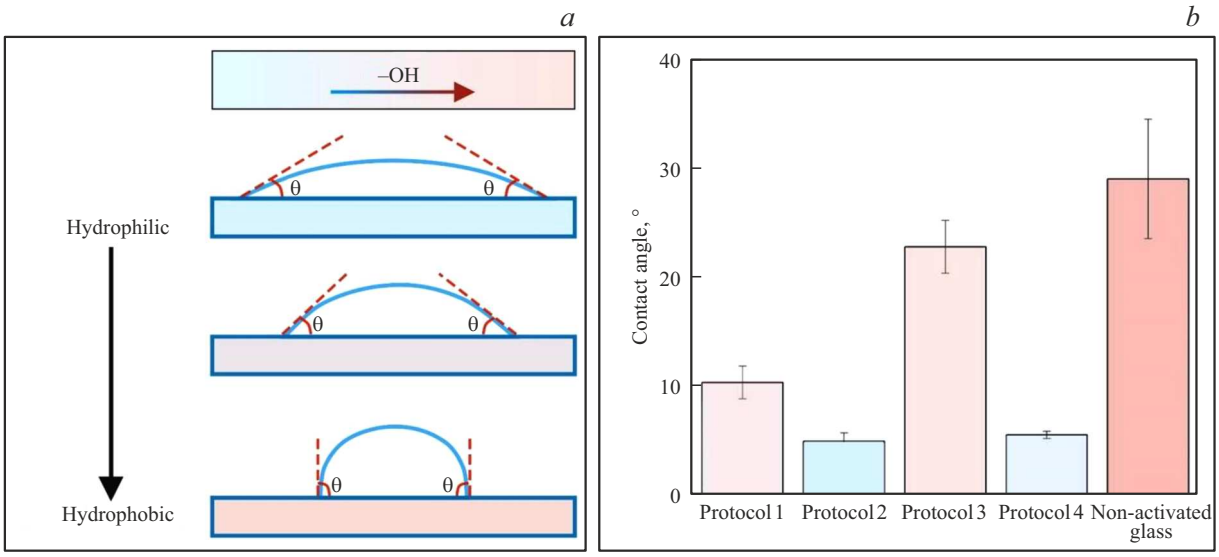

Рис. 2. Измерение краевого угла смачивания: (*a*) Схематичное изображение принципа метода с цветовой кодировкой, демонстрирующей зависимость между количеством гидроксильных групп (−OH) на поверхности и значением краевого угла θ: синий цвет соответствует гидрофильным поверхностям с большим количеством −OH-групп и малым значением θ, красный — гидрофобным поверхностям с меньшим количеством OH-групп и большим значением θ. (*b*) Значения краевого угла для поверхностей, очищенных и активированных по различным протоколам (**Протоколы 1**−**4**), а также для неактивированного стекла (Non-activated Glass).

ностью, что приводит к формированию однородного распределения реакционных групп. Однако следует учитывать, что такие факторы, как динамика жидкости, температурные градиенты и микрошероховатости поверхности, могут приводить к локальным изменениям концентрации реагента и кинетики реакции [44]. Для минимизации этих эффектов следует использовать шейкер или ультразвуковую обработку, которые улучшают массоперенос и обеспечивают равномерность очистки на всей поверхности.

Чаще всего для химической очистки используется раствор серной кислоты и перекиси водорода. Его особенность заключается в его способности гидролизовать силоксановые связи (Si−O−Si) на поверхности, регенерируя силанольные группы (Si−OH), что значительно повышает гидрофильность поверхности [45].

Вместе с тем для стекла с высоким исходным содержанием силанольных групп может оказаться достаточным применения очистки органическими растворителями для эффективного удаления поверхностных загрязнений. Важно отметить, что в отличие от обработки раствором пираньи погружение в органические растворители не увеличивает плотность силанольных (Si−OH) или других полярных групп на поверхности стекла, а лишь открывает существующие гидроксильные центры, удаляя органические загрязнения, которые блокируют их реакционную способность. Это подтверждается полученными нами результатами, показывающими, что гидрофильность стекла до очистки и после очистки органическими растворителями отличается незначительно (после **Протокола 4** $22.7 \pm 2.4°$, само стекло $28.95 \pm 5.5°$), что свидетельствует о сохранении исходной плотности силанольных групп.

3.2. Флуоресцентный анализ поверхности с использованием меченных олигонуклеотидов

Для подтверждения успешной иммобилизации олигонуклеотидов и оценки уровня неспецифической адсорбции после анализа гидрофильности поверхности были проведены флуоресцентные измерения с использованием собранной оптической схемы (рис. S1). Интенсивность флуоресцентного сигнала сравнивалась между целевыми зонами (стекло, модифицированное олигонуклеотидом UMB с NH_2 группой, меченными флуоресцеином (FAM) и контрольными зонами (стекло после модификации APTES+GA без олигонуклеотидов). Общая схема эксперимента приведена на рисунке рис. 3, *a*.

Результаты показали, что для **Протокола 1** уровень флуоресценции на различных концентрациях APTES оставался сравнительно стабильным, варьируясь для целевых зон от 260.5 ± 49.9 (при 2% APTES) до 285.7 ± 24.7 arb. units (при 4% APTES). Сигналы от контрольной зоны составили 53.0 ± 1.1, 54.6 ± 3.4, 57.0 ± 1.2 arb. units, для 1%, 2% и 4% соответственно. Для **Протокола 2** наблюдалась четкая зависимость интенсивности флуоресценции от концентрации APTES: в целевых зонах значения увеличивались с 155.8 ± 25.7 (1%) до 480.2 ± 24.7 arb. units (4%), тогда как в контрольных зонах рост был менее выраженным . с 98.2 ± 13.9 до 190.7 ± 61.8 arb. units. В слу-

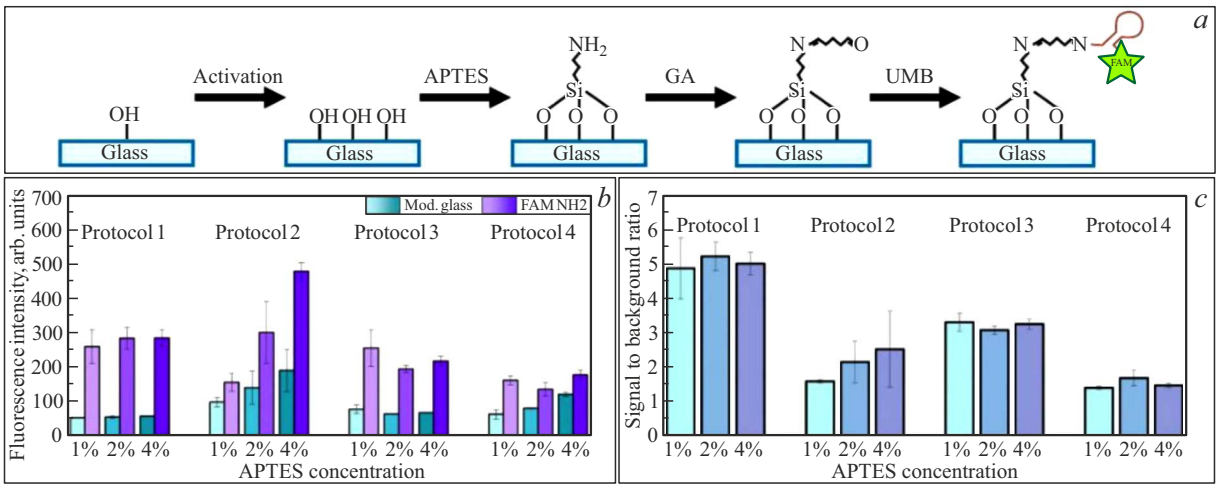

Рис. 3. Схема проведения эксперимента (*a*). Значения интенсивности флуоресценции для стекол, обработанных по различным протоколам активации с использованием концентраций APTES 1%, 2% и 4% (*b*). Сравнивались сигналы от целевых зон с иммобилизированными UMB, меченными FAM (FAM NH_2), и контрольных зон без олигонуклеотидов (Mod. Glass). Расчетные значения отношения сигнал/фон (S/B) для всех исследованных условий (*c*).

чае **Протокола 3** максимальная флуоресценция целевых зон зарегистрирована при концентрации APTES 1% (256.4 ± 53.7 arb. units), с последующим снижением при 2% и 4% до 195.0 ± 10.1 и 217.7 ± 14.2 arb. units соответственно. Контрольные зоны продемонстрировали аналогичную зависимость: 77.8 ± 12.8 (1%), 63.5 ± 0.9 (2%) и 67.1 ± 1.4 arb. units (4%). Для **Протокола 4** значения флуоресценции целевых зон составили 161.9 ± 12.8 (1%), 135.9 ± 19.8 (2%) и 177.8 ± 14.0 arb. units (4%), при этом контрольные зоны показали 115.6 ± 13.2, 80.8 ± 1.6 и 121.0 ± 6.8 arb. units для соответствующих концентраций APTES (рис. 3, *b*).

Последующий расчет отношения сигнал/фон (S/B) выявил, что наивысшие значения были достигнуты при использовании **Протокола 1**. Максимальное отношение S/B продемонстрировали образцы с концентрацией APTES 2% (5.2 ± 0.9). Для других концентраций в рамках данного протокола получены схожие значения: 4.9 ± 0.9 для 1% и 5.0 ± 0.3 для 4% APTES (рис. 3, *c*). Для **Протокола 2** наибольшее значение S/B составило 2.5 ± 1.1 при 4% APTES, для **Протокола 3** — 3.3 ± 0.3 при 1% APTES, для **Протокола 4** — 1.7 ± 0.2 при 2% APTES.

Ключевым критерием при оценке эффективности методов иммобилизации является отношение сигнал/фон (S/B), которое имеет первостепенное значение для большинства практических применений. Данный параметр информативнее абсолютных значений флуоресценции, поскольку отражает не только уровень специфического сигнала от целевой зоны с иммобилизированными олигонуклеотидами, меченными флуорофором, но и интенсивность фонового сигнала от контрольной зоны. Этот аспект приобретает особую важность в контексте использованной химии модификации поверхности, где последовательное применение APTES, содержащего аминогруппы, и GA с альдегидными группами приводит к образованию оснований Шиффа, обладающих собственной флуоресценцией [46]. Следовательно, высокий фоновый сигнал свидетельствует об интенсивном неконтролируемом образовании оснований Шиффа, что, в свою очередь, может быть следствием формирования протяженных полимерных структур на основе APTES и указывать на недостаточную воспроизводимость результатов модификации поверхности.

Также в контексте задач исследования важно отметить, что в качестве иммобилизованного олигонуклеотида использовался UMB — молекулярный маяк, выполняющий роль молекулярного фундамента для сборки ДНК-конструкций на поверхности. Данная последовательность формирует стабильную шпилечную структуру без последовательностей, способных ее развернуть в линейную конфигурацию [47]. Такая архитектура представляет собой удобный инструмент для иммобилизации ДНК-конструкций, что ранее подтверждалось при создании сверхспецифичных ДНК-сенсоров [31,35,48]. Однако в основном в литературных источниках использовался электрохимический метод детекции с иммобилизацией UMB на золотой подложке, тогда как иммобилизация UMB на поверхности стекла остается перспективной и малоизученной научной задачей.

4. Выводы

В рамках данного исследования была проведена комплексная работа по сравнительному анализу методов активации стеклянной поверхности для последующей иммобилизации ДНК-структур. Исследование было нацелено на систематическую оценку эффективности различных протоколов активации и последующей модифи-

кации поверхности с целью определения оптимального метода для создания функциональных поверхностей в ДНК-фотонике.

Проведено сравнение двух основных направлений активации: физико-химического метода (**Протоколы 2** и **3** на основе кислородной плазмы) и химического метода (**Протокол 1** с раствором серной кислоты и перекиси водорода и **Протокол 4** с органическими растворителями). Анализ гидрофильности поверхности показал, что наибольшей гидрофильностью характеризуются поверхности, обработанные кислородной плазмой (**Протокол 2**: $4.9 \pm 0.8°$; **Протокол 4**: $5.5 \pm 0.3°$), однако эти методы имеют ограничения, связанные с временной нестабильностью активированной поверхности и необходимостью использования дорогостоящего оборудования.

Флуоресцентный анализ с использованием меченных FAM олигонуклеотидов UMB продемонстрировал, что наилучшие результаты достигаются при использовании **Протокола 1** с концентрацией APTES 2%, который показал максимальное отношение сигнал/фон (5.2 ± 0.9). Данный протокол обеспечивает стабильные значения флуоресценции целевых зон (260.5 ± 49.9 arb. units при 2% APTES до 285.7 ± 24.7 arb. units при 4% APTES) при минимальном фоновом сигнале (53.0–57.0 arb. units), что свидетельствует о контролируемом процессе иммобилизации и отсутствии неспецифической адсорбции.

Таким образом, **Протокол 1** с концентрацией APTES 2% идентифицирован как оптимальный метод подготовки стеклянной поверхности для иммобилизации ДНК-структур, обеспечивающий высокое отношение сигнал/фон и воспроизводимые результаты, что делает его перспективным для применения в ДНК-фотонике и сенсорных системах.

Финансирование работы

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-73-20100.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

[1] C. Zhou, Y. Song, X. Jin, B. Li, C. Pang. Nanoscale Horiz, **8**, 176 (2023). DOI: 10.1039/D2NH00525E
[2] S. Julin, S. Nummelin, M.A. Kostiainen, V. Linko. J. Nanoparticle Res., **20**, 119 (2018). DOI: 10.1007/s11051-018-4225-3
[3] T. Tian, Y. Li, Y. Lin. Bone Res., **10**, 40 (2022). DOI: 10.1038/s41413-022-00212-1
[4] J. Zhou, J. Rossi. Nat. Rev. Drug Discov., **16**, 181 (2017). DOI: 10.1038/nrd.2016.199
[5] Z. Suo, J. Chen, X. Hou, Z. Hu, F. Xing, L. Feng. RSC Adv., **9**, 16479 (2019). DOI: 10.1039/C9RA01261C
[6] H. Wang, H. Zou, F. Wang, ChemBioChem, **25**, e202400266 (2024). DOI: 10.1002/cbic.202400266
[7] S. Ghosal, S. Bag, S. Bhowmik, Polymers, **15**, (2023). DOI: 10.3390/polym15081850
[8] X. Huang, N.T. Blum, J. Lin, J. Shi, C. Zhang, P. Huang, Mater Horiz, **8**, 78 (2021). DOI: 10.1039/D0MH00715C
[9] J. Huang, A. Chakraborty, L.S. Tadepalli, A. Paul, ACS Pharmacol. Transl. Sci., **7**, 2204 (2024). DOI: 10.1021/acsptsci.4c00308
[10] C.S. Huertas, M. Soler, M.-C. Estevez, L.M. Lechuga, Anal. Chem., **92**, 12596 (2020). DOI: 10.1021/acs.analchem.0c02619

Приложение

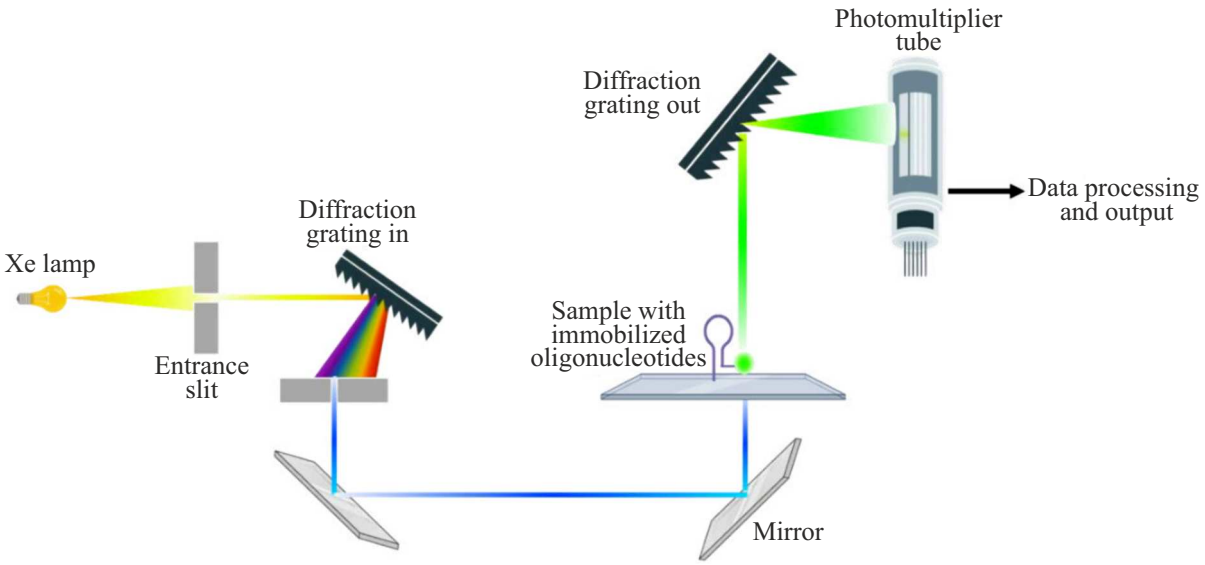

Рис. S1. Оптическая схема монохроматора для измерения флуоресценции.

[11] A. Ligasová, I. Rosenberg, M. Bockov., J. Homola, K. Koberna, Open Biol., **11**, 210136 (2021). DOI: 10.1098/rsob.210136
[12] F. Gao, X. Cai, H. Tanaka, Q. Zhu, F. Gao, Q. Wang. J. Electrochem. Soc., **162**, B291 (2015). DOI: 10.1149/2.0011512jes
[13] D.K. Kannoujia, S. Ali, P. Nahar. Anal Methods, **2**, 212 (2010). DOI: 10.1039/C001661F
[14] T. Strother, R.J. Hamers, L.M. Smith. Nucleic Acids Res., **28**, 3535 (2000). DOI: 10.1093/nar/28.18.3535
[15] E.M. Heckman, J.G. Grote, P.P. Yaney, F.K. Hopkins. Nonlinear Opt. Transm. Multiphoton Process. Org. II. Ed. by A.T. Yeates (SPIE, 2004), p. 47–51. DOI: 10.1117/12.563071
[16] S. Sreeja, B. Nityaja, D. Swain, V.P.N. Nampoori, P. Radhakrishnan, S.V. Rao. Opt. Photonics J., **02**, 135 (2012). DOI: 10.4236/opj.2012.23019
[17] V. Arasu, S.R. Dugasani, M.R. Kesama, H.K. Chung, S.H. Park. Sci. Rep., **7**, 11567 (2017). DOI: 10.1038/s41598-017-11797-7
[18] A. Hajda, R. Guha, S.M. Copp, J. Olesiak-Bańska. Chem. Sci., **16**, 1737 (2025). DOI: 10.1039/D4SC05853D
[19] K. Wu, C. Ma, Y. Wang. Biosensors **13**, (2023). DOI: 10.3390/bios13090836
[20] V. Glembockyte, L. Grabenhorst, K. Trofymchuk, P. Tinnefeld. Acc. Chem. Res., **54**, 3338 (2021). DOI: 10.1021/acs.accounts.1c00307
[21] J. Malicka, I. Gryczynski, J. Fang, J.R. Lakowicz. Anal. Biochem., **317**, 136 (2003) DOI: 10.1016/S0003-2697(03)00005-8
[22] R. Khazaeinezhad, S. Hosseinzadeh Kassani, B. Paulson, H. Jeong, J. Gwak, F. Rotermund, D.-I. Yeom, K. Oh. Sci. Rep., **7**, 41480 (2017). DOI: 10.1038/srep41480
[23] A. Kuzyk, R. Jungmann, G.P. Acuna, N. Liu. ACS Photonics, **5**, 1151 (2018) DOI: 10.1021/acsphotonics.7b01580
[24] I.V. Martynenko, E. Erber, V. Ruider, M. Dass, G. Posnjak, X. Yin, P. Altpeter, T. Liedl. Nat. Nanotechnol., **18**, 1456 (2023) DOI: 10.1038/s41565-023-01487-z
[25] L. Liu, X. Zhou, J.S. Wilkinson, P. Hua, B. Song, H. Shi. Sci. Rep., **7**, 3655 (2017) DOI: 10.1038/s41598-017-03939-8
[26] I. Titov, N. Rutschke, F.A. Kraft, M. Köpke, E. Nebling, M. Gerken, Biomed Opt Express, **13**, 6300 (2022). DOI: 10.1364/BOE.475358
[27] H. Schröder, J. Schwietering, G. Böttger, V. Zamora. J. Opt. Microsyst. **1**, 033501 (2021). DOI: 10.1117/1.JOM.1.3.033501
[28] H.A. Ki, M.J. Kim, S. Pal, J.M. Song. J. Pharm. Biomed. Anal., **49**, 562 (2009). DOI: 10.1016/j.jpba.2008.11.031
[29] J. Li, H. Wang, Y. Zhao, L. Cheng, N. He, Z. Lu. Sensors, **1**, 53 (2001). DOI: 10.3390/s10100053
[30] G.C. Righini, A. Chiappini, Opt. Eng., **53**, 071819 (2014). DOI: 10.1117/1.OE.53.7.071819
[31] A. Camposeo, P. Del Carro, L. Persano, K. Cyprych, A. Szukalski, L. Sznitko, J. Mysliwiec, D. Pisignano. ACS Nano, **8**, 10893 (2014). DOI: 10.1021/nn504720b
[32] L. Ding, B. Liu, A. Peil, S. Fan, J. Chao, N. Liu, Adv. Mater. 2500086 (Early view) DOI: 10.1002/adma.202500086
[33] C.R. Sabanayagam, J.R. Lakowicz. Nucleic Acids Res. **35**, e13 (2006). DOI: 10.1093/nar/gkl1054
[34] J. Sobek, C. Aquino, R. Schlapbach. Microarrays Vol. 2 Appl. Data Anal., ed. by J.B. Rampal (Humana Press, Totowa, NJ, 2007), p. 53–66. DOI: 10.1007/978-1-59745-304-2_4
[35] D.M. Mills, M.V. Foguel, C.P. Martin, T.T. Trieu, O. Kamar, P. Calvo-Marzal, D.M. Kolpashchikov, K.Y. Chumbimuni-Torres. Sens. Actuators B Chem., **293**, 11 (2019). DOI: 10.1016/j.snb.2019.04.149
[36] A.R. Yadav, R. Sriram, J.A. Carter, B.L. Miller. Mater. Sci. Eng. C, **35**, 283 (2014). DOI: 10.1016/j.msec.2013.11.017
[37] Ł. Syga, D. Spakman, C.M. Punter, B. Poolman. Sci. Rep. **8**, 13789 (2018). DOI: 10.1038/s41598-018-32166-y
[38] M. Castano-Alvarez, D.F.P. Ayuso, M.G. Granda, M.T. Fernández-Abedul, J.R. García, A. Costa-García. Sens. Actuators B: Chem., **130** (1), 436–448 (2008) DOI: 10.1016/j.snb.2007.09.043
[39] M. Sypabekova, A. Hagemann, D. Rho, S. Kim. Biosensors **13**, (2023). DOI: 10.3390/bios13010036
[40] W.F. Paxton, P.T. McAninch, S.H.R. Shin, M.T. Brumbach. Soft Matter, **14**, 8112 (2018). DOI: 10.1039/C8SM00343B
[41] A.U. Alam, M.M.R. Howlader, M.J. Deen. ECS J. Solid State Sci. Technol., **2**, P515 (2013). DOI: 10.1149/2.007312jss
[42] A.U. Alam, M. Howlader, M.J. Deen. J. Micromechanics Microengineering, **24**, 035010 (2014). DOI: 10.1088/0960-1317/24/3/035010
[43] K. Shoda, M. Tanaka, K. Mino, Y. Kazoe, Micromachines, **11**, 804 (2020) DOI: 10.3390/mi11090804
[44] F. Lamberti, C. Luni, A. Zambon, P. Andrea Serra, M. Giomo, N. Elvassore, Biomicrofluidics, **6** (2), (2012). DOI: 10.1063/1.4705368
[45] Y. Liao, X. Chen, Y. Jiang, C. Qu, X. Liu, A. Zhao, P. Yang, N. Huang. J. Chen. Front. Bioeng. Biotechnol., **11**, 1166334 (2023). DOI: 10.3389/fbioe.2023.1166334
[46] A. Afrin, A. Jayaraj, M.S. Gayathri, Chinna Ayya Swamy P. Sensors and Diagnostics, **2**, 988 (2023). DOI: 10.1039/D3SD00110E
[47] A. Lake, S. Shang, D.M. Kolpashchikov. Angew. Chem. Int. Ed., **49**, 4459 (2010). DOI: 10.1002/anie.200907135
[48] S.-C. Sun, H.-Y. Dou, M.-C. Chuang, D.M. Kolpashchikov. Sens. Actuators B Chem., **287**, 569 (2019). DOI: 10.1016/j.snb.2019.02.073