На правах рукописи

ВАУЛИН Никита Васильевич

ИССЛЕДОВАНИЕ ИОННОГО И МОЛЕКУЛЯРНОГО ТРАНСПОРТА В БИОСЕНСОРАХ НА ОСНОВЕ ТВЕРДОТЕЛЬНЫХ НАНОПОР ИЗ НИТРИДА КРЕМНИЯ

Специальность 1.3.2 – Приборы и методы экспериментальной физики

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Санкт-Петербург 2025

Работа выполнена в лаборатории возобновляемых источников энергии федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования и науки «Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет имени Ж.И. Алферова Российской академии наук»

Научный руководитель:

Кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник лаборатории возобновляемых источников энергии СПбАУ РАН им. Ж.И. Алферова	Лебедев Денис Владимирович

Официальные оппоненты:

Доктор физико-математических наук, профессор РАН, заведующий лабораторией интегральной оптики на гетероструктурах ФТИ им. А.Ф. Иоффе,	Соколовский Григорий Семенович
Доктор химических наук, профессор кафедры коллоидной химии института химии Санкт-Петербургского государственного университета	Ермакова Людмила Эдуардовна

Ведущая организация:

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Казанский (Приволжский) федеральный университет"

Защита состоится 10 октября 2025 года в 11:00 на заседании диссертационного совета 24.1.029.01 на базе Института аналитического приборостроения (ИАП РАН) по адресу: 198095, г. Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, д. 31-33, лит. А.

С диссертацией можно ознакомиться в научно-технической библиотеке ИАП РАН по тому же адресу и на сайте https://www.iairas.ru/ в сети Интернет. Отзывы на диссертацию и автореферат направлять по адресу: 198095, а/я 140, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31-33, лит. А, Диссертационный совет.

Автореферат разослан «___» _____2025 г.

Ученый секретарь диссертационного совета, доктор физико-математических наук	А.Л.Буляница

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

На сегодняшний день, в мире существует потребность в развитии высокоточных методов исследования биологических молекул [1], разработке новых видов биологических сенсоров [2], а также совершенствовании инструментов генетического анализа [3]. Технологии point-of-care диагностики [4], методы АСМ и SERS, а также микроэлектродные тест системы [5,6] активно применяются для селективного детектирования и исследования малых концентраций биологических молекул. Однако, данные технологии и методы характеризуются недостатком чувствительности для реализации детектирования одиночных молекул, а также сложностью измерительной системы и высокой трудоемкостью проведения экспериментов. Биологические сенсоры на основе одиночных наноразмерных пор (нанопор) [7], в тонких непроницаемых мембранах, являются перспективной платформой, объединяющей высокую чувствительность для реализации одномолекулярного детектирования [8], а также возможность проведения исследований широкого класса биологических соединений без их предварительной модификации [9].

Общий принцип детектирования в одиночных нанопорах заключается в транспорте через их внутренний объем молекул исследуемого вещества под действием внешних сил [10]. При прохождении через нанопору, молекула модулирует нанопоровый ионный ток, вызывая изменения регистрируемого электрического сигнала (сигнала транслокации). Амплитуда и продолжительность сигнала транслокации определяются размерами и физико-химическими свойствами детектируемой молекулы, что позволяет не только обнаруживать, но и исследовать свойства проходящих через нанопору одиночных молекул.

Нанопоровые сенсоры можно разделить на биологические и твердотельные. Биологические поры представлены классом порообразующих белков, встраиваемых в липидные мембраны [11]. Благодаря низкому уровню электрических шумов, малому диаметру канала поры и возможности интеграции с моторными белками, биологические поры характеризуются высокими сенсорными свойствами и активно применяются для секвенирования ДНК. Тем не менее, биологические поры обладают рядом недостатков, включая сложность модификации структуры поры, чувствительность к условиям эксперимента, короткий срок службы и низкую эффективность в приложениях исследования крупных биологических молекул.

Применение твердотельных нанопор, представляющих собой наноразмерные отверстия в тонких непроницаемых мембранах [12], является перспективным направлением развития нанопоровых сенсоров. Преимуществами

твердотельных пор перед биологическими аналогами являются высокая стойкость к внешним воздействиям, широкие возможности формирования мембран и пор с заданными размерами и свойствами поверхности [13], а также возможность модификации пор различными наноразмерными объектами для улучшения их сенсорных характеристик [7,14]. Наиболее распространенными материалами твердотельных мембран являются аморфные пленки SiN_x [15], использующиеся и в данной работе, кремниевые композитные мембраны (Si/TiO_2, Si/HfO_2) [16,17], а также двумерные мембраны (графен, MoS2) [18] и пористые мембраны (Al_2O_3) [19]. К недостаткам твердотельных пор относятся низкое по сравнению с биологическими аналогами пространственное разрешение детектирования, высокий уровень электрических шумов и высокая скорость транслокации молекул через внутренний объем поры.

Твердотельные нанопоры активно используются для безметочного детектирования одиночных объектов и молекул, а также для исследований динамики транслокаций крупных биологических соединений (белков) [20]. Активно развивающимися направлениями применения являются: изучение специфических механизмов связывания молекул; моделирование трансмембранного транспорта; преобразование энергии; использование в качестве ионных диодов [21].

Существует несколько направлений работ по улучшению сенсорных свойств твердотельных нанопоровых сенсоров. В первую очередь это оптимизация толщины мембраны и диаметра поры для наилучшего соответствия целям применения. Кроме того, существует возможность реализации управляемого ионного и молекулярного транспорта в нанопорах с помощью внешних воздействий (например, оптического излучения) или функционализации поры поверхностно активными веществами. Улучшения сенсорных свойств можно также добиться путем модификации области поры наноразмерными объектами (плазмонными антеннами), способными улучшать ее транспортные характеристики [22].

Исходя из этого, работы по реализации управляемого ионного транспорта в твердотельных порах, а также работы по интеграции нанопор с другими наноразмерными структурами крайне важны для повышения эффективности работы нанопоровых сенсоров. Поиск и развитие новых вариантов применения твердотельных нанопор также является перспективным направлением работ в области нанопоровых технологий. Относительная простота формирования твердотельных пор с требуемыми характеристиками открывает широкие перспективы в областях исследования свойств белковых соединений и их

функциональной динамики, без необходимости предварительной модификации таких структур.

Таким образом, исследования методов управления ионным транспортом в одиночных плазмонных SiN_x нанопорах, а также разработка методов фиксации белковых молекул в области нанопоры, являются актуальными направлениями научно-исследовательской деятельности.

Цель работы

Целью диссертации является исследование методов оптического управления ионной проводимостью твердотельных нанопор при создании сенсора для регистрации одиночных молекул белков.

Для достижения данной цели в рамках диссертации были поставлены и решены следующие **задачи**:

1. Отработка методики изготовления тонких свободноподвешенных SiN_x мембран, толщиной 25-200 нм, с интегрированными одиночными нанопорами и плазмонными оптическими Au антеннами-бабочками.
2. Исследование влияния лазерного излучения λ = 632 нм мощностью $P_{опт}$ = 10 КВт/см^2 на ионную проводимость одиночных SiN_x нанопор и одиночных SiN_x нанопор с плазмонными Au оптическими антеннами в водном растворе KCl.
3. Исследование метода управления ионной проводимостью одиночных SiN_x нанопор с плазмонными Au оптическими антеннами при помощи широкополосного λ = 400-1000 нм излучения низкой интенсивности $P_{опт}$ = 35 мВт/см^2 в растворе KCl.
4. Определение диапазона применимости метода управления ионной проводимостью одиночных SiN_x нанопор путем изучения влияния оптического излучения на KCl ионный транспорт, объемный нагрев электролита и локальный нагрев в области нанопоры.
5. Исследование способа фиксации одиночных молекул белков в области SiN_x нанопоры для возможности дальнейшего изучения функциональной активности белков в реальном времени с помощью нанопорового биосенсора.
6. Апробация способа фиксации одиночных молекул белков 20S-протеасомы длиной 15 нм и диаметром 11,5 нм в одиночных SiN_x нанопорах под действием приложенного электрического поля.

Научная новизна

1. Впервые разработан метод оптического управления ионной проводимостью одиночных SiN_x нанопор и одиночных SiN_x нанопор с

плазмонными Au оптическими антеннами в растворе KCl при помощи широкополосного λ = 400 - 1000 нм излучения галогенной лампы $P_{опт}$ = 35 мВт/см^2. Метод впервые позволил снизить плотность мощности внешнего оптического излучения для управления ионным транспортом SiN_x нанопор по сравнению с существующими методами воздействия сфокусированным лазерным излучением.

2. Впервые экспериментально продемонстрировано влияние спектрального состава оптического излучения (широкополосное и лазерное излучение) на ионную проводимость одиночных SiN_x нанопор в растворе KCl. Эффект фотовозбуждения поверхностных состояний в аморфных SiN_x мембранах толщиной 30-40 нм, излучением λ = 400 - 1000 нм, приводит к изменению величины поверхностного заряда на стенках нанопоры и изменению концентрации ионов в её внутреннем объеме.

3. Разработан метод фиксации одиночных белковых молекул в области одиночной SiN_x нанопоры под действием приложенного электрического поля. Впервые продемонстрирована возможность фиксации одиночных молекул 20S-протеасомы под действием приложенного электрического поля.

Практическая значимость

1. Апробирован метод формирования свободноподвешенных SiN_x мембран толщиной 25-200 нм, метод формирования одиночных нанопор заданного диаметра в SiN_x мембранах с помощью литографии сфокусированным электронным пучком, а также метод формирования Au плазмонных антенн-бабочек с размерами $\lesssim$ 600 нм на поверхности свободно подвешенных SiN_x мембран. Комплекс апробированных методов позволяет формировать устойчивые к агрессивным средам и механическим воздействиям одиночные SiN_x нанопоры и одиночные SiN_x нанопоры с плазмонными Au оптическими антеннами для применения в нанопоровых сенсорах.

2. Разработаны и изготовлены измерительные электрохимические ячейки оригинальной конструкции, обеспечивающие возможность проведения экспериментов по оптическому управлению ионной проводимостью одиночных SiN_x нанопор, а также фиксации одиночных молекул белков в области SiN_x нанопор.

3. Разработан метод фиксации одиночных молекул белков, позволяющий регистрировать молекулу белка в области одиночной SiN_x нанопоры под действием приложенного электрического поля для возможности исследования функциональной активности белковых соединений в реальном времени.

Положения, выносимые на защиту

1. Методы оптической и электронной литографии в сочетании с методами жидкостного анизотропного и плазмохимического травления позволяют формировать свободноподвешенные SiN_x мембраны с заданной толщиной в диапазоне от 25 до 200 нм и плазмонные Au оптические антенны на их поверхности, методика травления материала под действием электронного луча просвечивающего электронного микроскопа позволяет интегрировать одиночные нанопоры диаметром 5-10 нм в сформированные мембраны. Численное моделирование полученных плазмонных антенн и экспериментальные исследования показывают наличие локализованных плазмонных мод на длинах волн $\lambda = 773$ и $\lambda = 657$ нм.

2. Сфокусированное лазерное излучение $\lambda = 632$ нм мощностью $P_{опт} = 10$ КВт/см^2 увеличивает ионную проводимость одиночных SiN_x нанопор в растворе KCl на 6% и одиночных SiN_x нанопор с плазмонной Au оптической антенной на 10%.

3. Воздействие широкополосным $\lambda = 400$ - 1000 нм излучением мощностью $P_{опт} = 35$ мВт/см^2 обеспечивает увеличение ионной проводимости одиночных SiN_x нанопор с плазмонными Au оптическими антеннами в растворе KCl на 35%.

4. Метод электрохимического детектирования и фиксации биологических соединений позволяет регистрировать одиночные молекулы белков 20S-протеасомы длиной 15 нм и диаметром 11,5 нм в области SiN_x нанопоры под действием приложенного электрического поля.

Апробация работы

Основные результаты работы были представлены на следующих конференциях: Международная конференция "ФизикА.СПб" 17–21 окт. 2022 (СПб, Россия); I ежегодная всероссийская молодежная конференции по методам и приборам для анализа биологических объектов «АналитБиоПрибор-2022» (СПб, Россия); Всероссийская конференция по электрохимии с международным участием «ЭЛЕКТРОХИМИЯ-2023» 23-27 Октября 2023 (Москва, Россия); Международная конференция "ФизикА.СПб" 23–27 окт. 2023 (СПб, Россия); II ежегодная всероссийская молодежная конференции по методам и приборам для анализа биологических объектов «АналитБиоПрибор-2023» (СПб, Россия); Международная конференция "ФизикА.СПб" 21–25 окт. 2024 (СПб, Россия); III ежегодная всероссийская молодежная конференции по методам и приборам для анализа биологических объектов «АналитБиоПрибор-2024» (СПб, Россия).

Личный вклад автора

Диссертация Ваулина Н.В. является самостоятельной и оригинальной научно-исследовательской работой, вклад автора в которую был определяющим. Личный вклад автора диссертации состоит в проведении исследований по характеризации и анализу свойств одиночных SiN_x нанопор, одиночных SiN_x нанопор с плазмонными Au антеннами-бабочками, а также пористых мембран, в том числе в проведении экспериментов по исследованию ионного транспорта в данных структурах при различных концентрациях электролита. Автором были разработаны и апробированы методы управления транспортными характеристиками одиночных нанопор с помощью сфокусированного лазерного и широкополосного излучения. Автором был разработан метод фиксации одиночных белковых молекул в области нанопоры и проведена его апробация на примере молекул 20S-частиц протеасомы. Автором был проведены работы по подготовке, сборке измерительных ячеек и проведению представленных в работе электрохимическим экспериментов, а также работы по обработке и анализу полученных данных. Автор также принимал участие в подготовке научных публикаций по результатам исследований и представлении результатов работы на международных и всероссийских конференциях.

Публикации

Основные научные результаты опубликованы в 11 печатных трудах, из которых 5 входят в перечень журналов ВАК, 6 публикаций — в международные реферативные базы данных.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, 3 глав, заключения и списка литературы из 106 наименований. Текст диссертации изложен на 130 страницах, содержит 44 рисунка и 2 таблицы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении сформулированы актуальность, цели и задачи диссертационной работы, указывается научная новизна и практическая значимость выполненных в работе исследований. Формулируются положения, выносимые на защиту, а также приводится личный вклад автора, апробация результатов работы и научные результаты, опубликованные в ходе проведенных исследований. Во введении также содержится информация о структуре и объёме диссертационной работы.

Первая глава посвящена литературному обзору темы диссертации, затрагивающему ключевые аспекты нанопоровых технологий и подчеркивающий важность проводимых в работе исследований в разрезе улучшения сенсорных свойств нанопоровых структур и поиска новых методов применения нанопоровых биосенсоров. В данном разделе описаны этапы развития нанопорового детектирования, начиная с технологий микрофлюидики и появления концепта одномолекулярного детектирования в одиночной белковой нанопоре, заканчивая перспективами развития сенсоров на основе твердотельных нанопор.

Кроме того, в первой главе работы рассматриваются теоретические основы ионного транспорта в одиночных нанопорах. Описываются силы, действующие на молекулы в области захвата твердотельных нанопор, приведено строение двойного электрического слоя, возникающего на границе контакта твердого тела с раствором электролита, а также влияние данного слоя на характеристики ионного транспорта в одиночных нанопорах. В главе рассмотрены основные механизмы молекулярного транспорта в твердотельных нанопорах, а также принципы транслокации и фиксации одиночных молекул в нанопоровых сенсорах. Представлены факторы, влияющие на эффективность детектирования одиночных молекул, включая физико-химические и конформационные свойства белков и комплексных молекул на их основе.

Также в данной части работы было приведено описание и проведен анализ основных видов твердотельных мембран, включая тонкие SiN_x пленки, кремниевые композитные мембраны, пористые и двумерные мембраны. Рассмотрены методы синтеза одиночных нанопор, описаны методы нанопорового исследования биологических объектов. Подробно рассматриваются перспективы развития и применения плазмонных нанопор.

Вторая глава посвящена описанию экспериментальных методов, использующихся в диссертационной работе. В главе представлены протоколы подготовки к экспериментам и методы проведения электрохимических измерений. Первая часть главы подробно описывает процесс формирования тонких свободноподвешенных SiN_x мембран на Si/SiO_2 подложке (рисунок 1 а.), основными этапами которого являются эпитаксия аморфного слоя SiN_x методом газофазного осаждения при пониженном давлении (Low pressure chemical vapor deposition – LP-CVD), а также плазмохимическое и анизотропное травление слоев SiO_2 и Si. Данный процесс позволяет изготавливать свободноподвешенные SiN_x мембраны толщиной 20-200 нм, после чего, с помощью травления сфокусированным электронным лучом в просвечивающем электронном

микроскопе (ПЭМ), в мембранах формируются одиночные нанопоры заданного диаметра, как показано на рисунке 1 б.

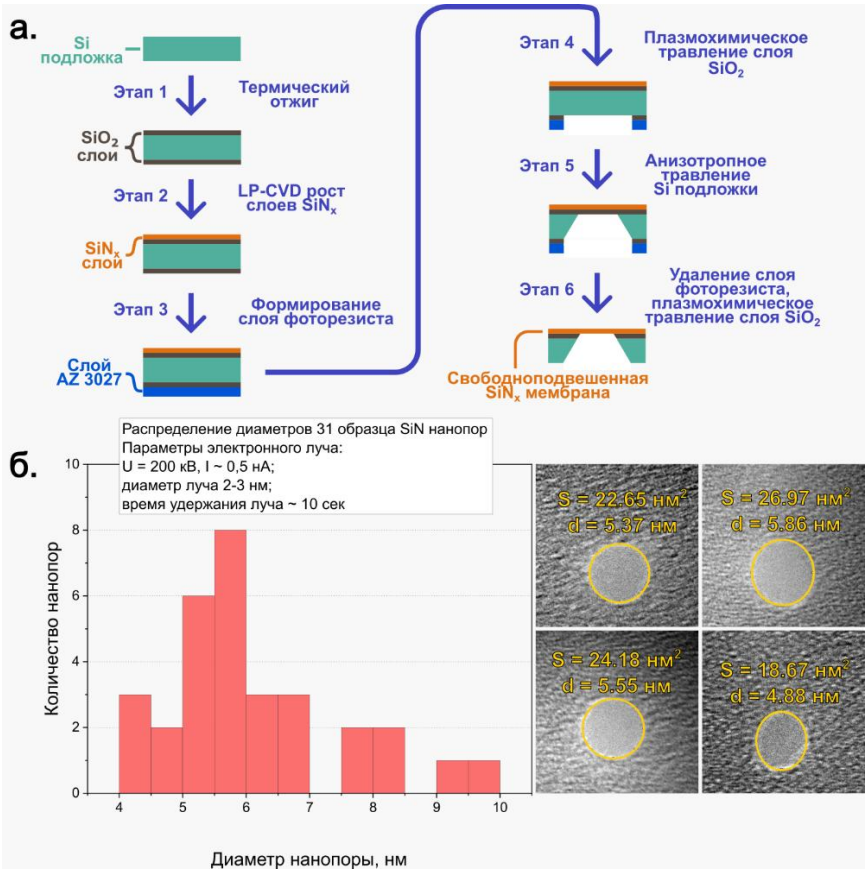

Рисунок 1 – а. Схематическое изображение этапов формирования своподноподвешенной SiN_x мембраны. б. Распределение диаметров изготовленных SiN_x нанопор при фиксированных параметрах электронного пучка (слева), ПЭМ изображения нескольких нанопор диаметром ~ 5 нм (справа).

Вторая часть рассматриваемой главы посвящена описанию способа формирования Au наноструктур на поверхности свободноподвешенных SiN_x мембран методами электронной литографии и напыления слоя металла (рисунок 2 а.). Данный способ позволил получить плазмонные Au антенны-бабочки, представляющие собой 2 треугольника длиной ~ 200 нм, в зазоре между которыми формируется одиночная нанопора (рисунок 2 б.). В главе также уделяется внимание способу исследования оптических резонансных свойств плазмонных структур методом темнопольной микроскопии.

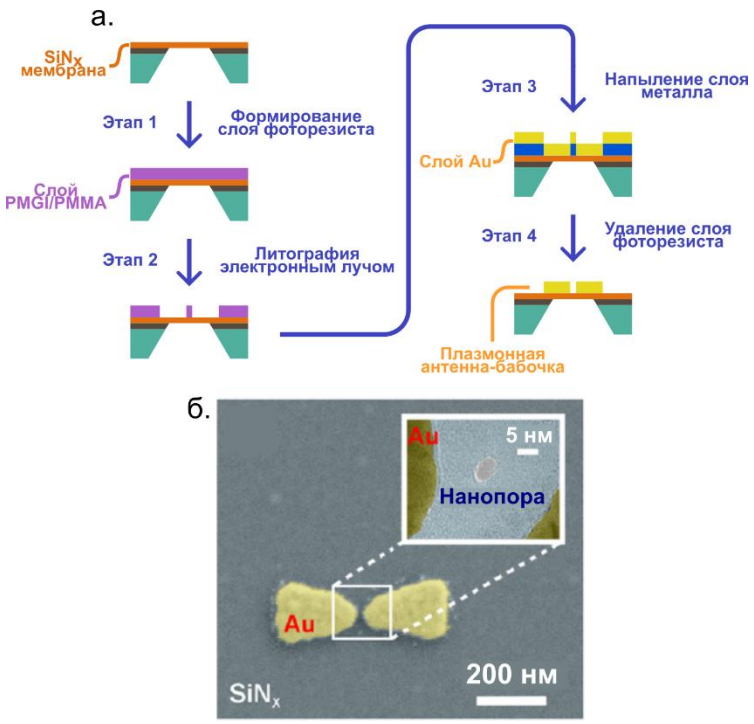

Рисунок 2 – а. Схематическое изображение этапов формирования плазмонных антенн-бабочек на поверхности свободноподвешенной SiN_x мембраны. б. СЭМ изображение плазмонной антенны-бабочки (окрашена желтым). Вставка (ПЭМ изображение) демонстрирует одиночную нанопору, сформированную в зазоре антенны.

В данном разделе также описаны конструкция, методы изготовления и сборки измерительной электрохимической ячейки (рисунок 3). Подробно рассматриваются особенности геометрии и функционала ячеек для исследования ионного транспорта в одиночных нанопорах, ячеек для проведения экспериментов по облучению нанопор оптическим излучением, а также ячеек для проведения экспериментов по детектированию и фиксации одиночных биологических молекул.

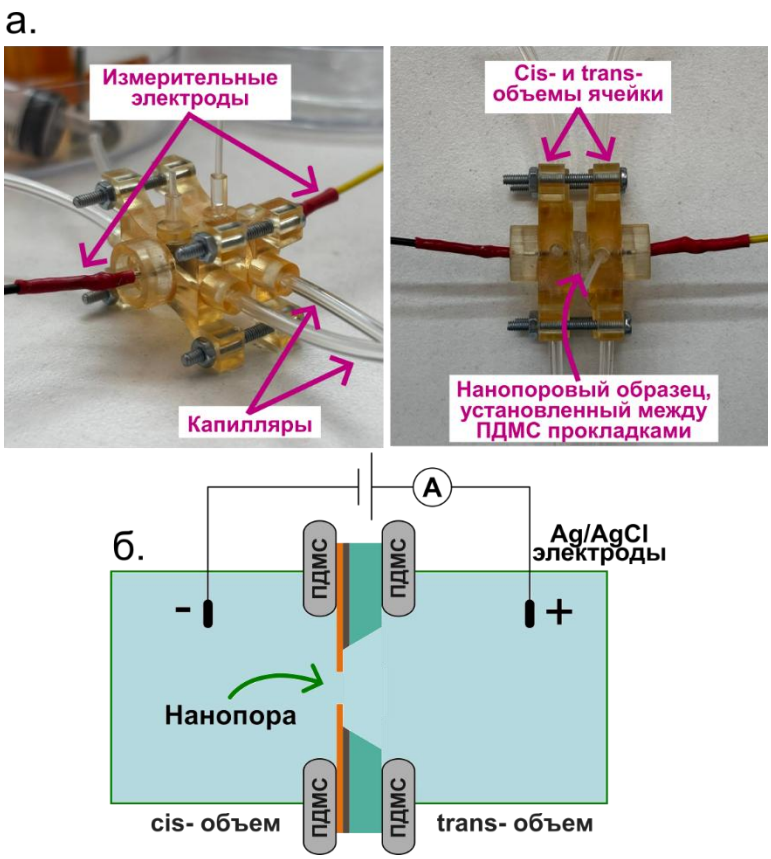

Рисунок 3 – а. Изображение готовой к эксперименту ячейки с обозначенными основными составляющими измерительной системы. б. Схематическое изображение измерительной ячейки с установленным в нее одиночной SiN_x нанопорой.

Глава 2 содержит протоколы подготовки нанопоровых образцов и измерительных ячеек к проведению электрохимических измерений. В разделе рассматривается метод проведения потенциостатических измерений, метод исследования влияния оптического излучения на проводимость одиночных SiN_x нанопор, метод детектирования и фиксации одиночных молекул в SiN_x нанопорах, а также методы проведения исследований объемного нагрева раствора электролита и локального нагрева области поры в измерительной ячейке под действием оптического излучения.

Третья глава посвящена экспериментальным результатам, полученным в ходе работ по теме диссертации.

В **Разделе 3.1** представлены результаты потенциостатических измерений уровня ионного тока в одиночных SiN_x нанопорах, диаметром ~5 нм и длиной 40 нм, в диапазоне прикладываемых напряжений от -300 мВ до + 300 мВ, как показано на рисунке 4 а.

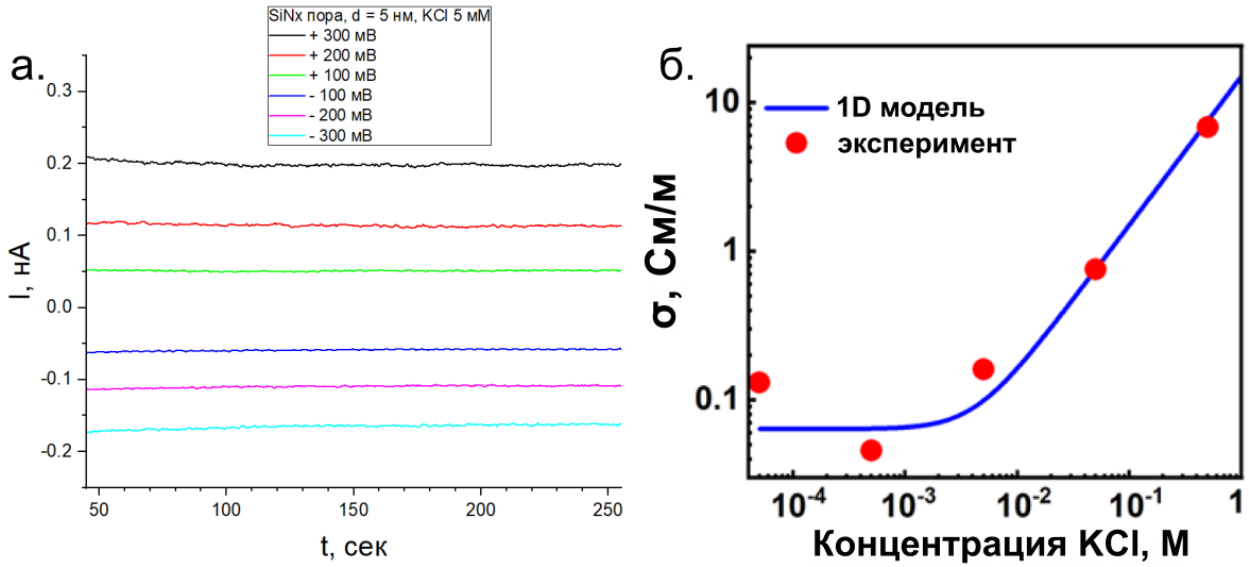

Рисунок 4 – а. Зависимости нанопорового ионного тока от времени, при различных прикладываемых напряжениях. б. Аппроксимация экспериментальной зависимости удельной проводимости одиночной SiN_x нанопоры от концентрации электролита (красные точки) при помощи одномерной модели с постоянным потенциалом (синяя кривая).

Далее, на основе полученных потенциостатических кривых были построены ВАХ и рассчитана зависимость удельной проводимости одиночных SiN_x нанопор от концентрации электролита KCl, в диапазоне от 0,05 мМ до 0,5 М (рисунок 4 б.), демонстрирующая влияние двойных электрических слоев на ионных транспорт нанопоровых структур при низких концентрациях электролита. Также, зависимость удельной проводимости были аппроксимированы одномерным приближением с постоянным потенциалом, что позволило получить величину эффективного диаметра нанопор ~ 5 нм, что хорошо коррелирует с экспериментальными результатами, полученными с помощью ПЭМ.

Раздел 3.2 посвящен исследованию возможности управления ионной проводимостью одиночных SiN_x нанопор с помощью сфокусированного лазерного излучения λ = 632 нм, мощностью 10 кВт/см^2, схема эксперимента представлена на рисунке 5 а. Облучение области нанопоры лазерным излучением через оптическое окно измерительной ячейки приводит к росту удельной проводимости на 6%, как показано на рисунке 5 б.

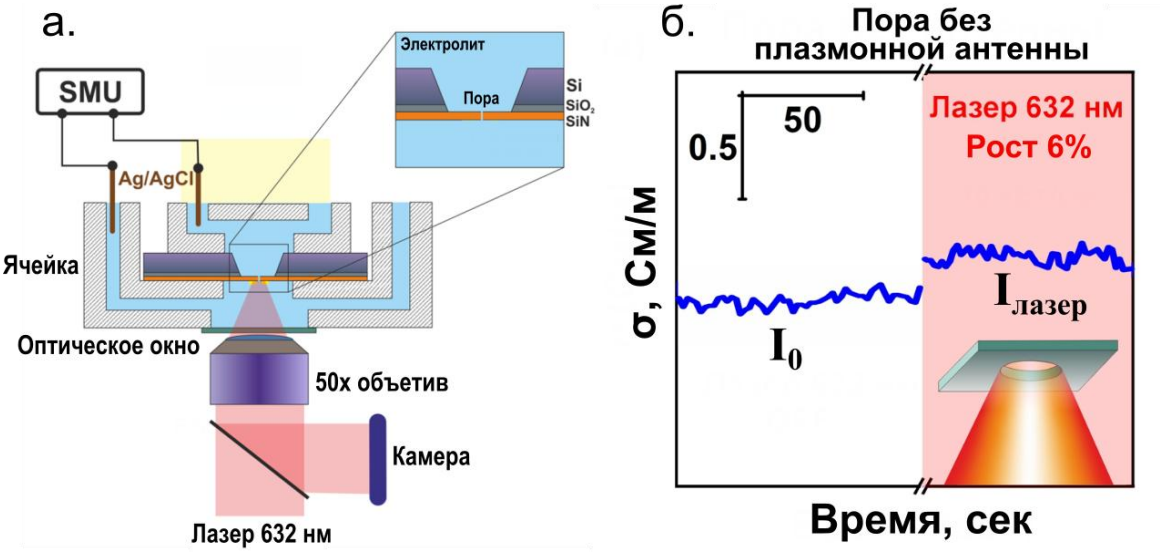

Рисунок 5 – а. Схема проведения эксперимента по управлению ионным транспортом в одиночной SiN_x нанопоре с помощью оптического излучения. б. Зависимость удельной проводимости одиночной SiN_x нанопоры от лазерного излучения, левая часть зависимости соответствует состоянию темнового тока, правая - состоянию облучения области поры лазерным излучением.

В **Разделе 3.3** описаны результаты численного моделирования характеристик изготовленных плазмонных Au антенн-бабочек с использованием программного обеспечения Comsol Multiphysics, которые демонстрируют наличие локализованных плазмонных мод на длинах волн $\lambda = 773$ и $\lambda = 657$ нм. Распределение электрического поля в области плазмонной антенны и SiN_x нанопоры представлено на рисунке 6.

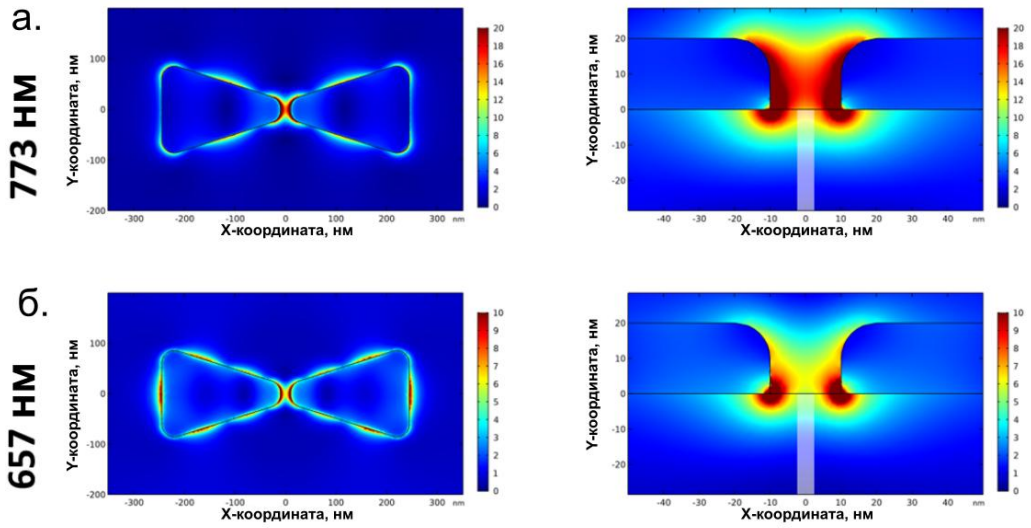

Рисунок 6 – Распределение электрического поля внутри наноантенны (слева) и в области нанопоры (справа), на длинах волн 773 (а.) и 657 (б.) нм.

Раздел 3.4 посвящен исследованию влияния оптического излучения на транспорт в единичной нанопорое. Показано, что облучение одиночной плазмонной SiN_x нанопоры сфокусированным лазерным излучением приводит к росту удельной проводимости нанопоровой структуры на 10% (рисунок 7 б.). Усиление эффекта роста проводимости связано с возбуждением поверхностного плазмонного резонанса в антенне-бабочке. Наличие резонансного пика в сформированной структуре подтверждается измеренным спектром рассеяния антенны в темнопольном режиме, представленным на рисунке 7 а.

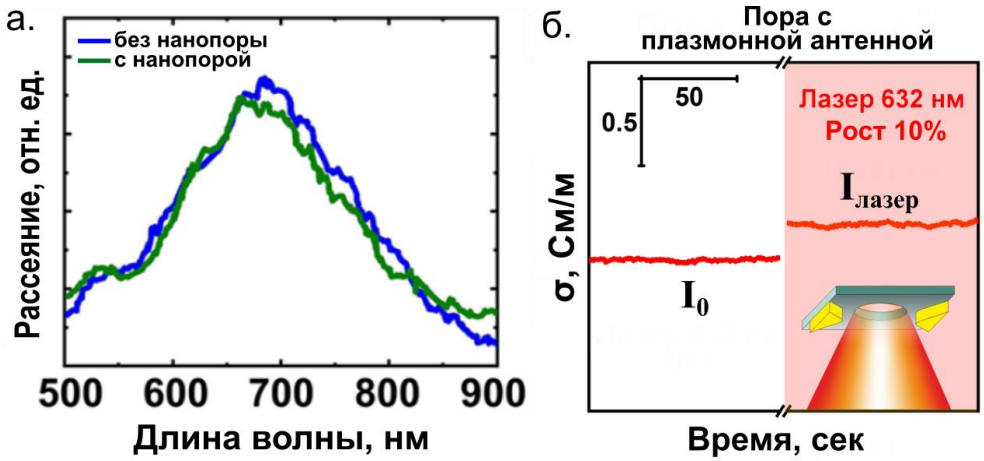

Рисунок 7 – а. Темнопольный спектр рассеяния плазмонной антенны без нанопоры (синяя кривая) и с одиночной нанопорой d ~5 нм в зазоре антенны (зеленая кривая). б. Зависимость удельной проводимости одиночной нанопоры с Au плазмонной антенной от сфокусированного лазерного излучения, левая часть зависимости соответствует состоянию темнового тока, правая - состоянию облучения области поры лазерным излучением.

Раздел 3.5 посвящен работе по управлению ионной проводимостью одиночных SiN_x нанопор с помощью широкополосного λ = 400-1000 нм излучения галогенной лампы мощностью 35 мВт/см^2. Облучение широкополосным светом приводит к росту удельной проводимости поры на 21% (рисунок 8 а.). Такой подход позволяет более эффективно управлять нанопоровым ионном транспортом в сравнении с лазерным излучением за счет возбуждения локализованных поверхностных электронных состояний в запрещенной зоне SiN_x мембраны (рисунок 8 г.). Возбуждение электронных состояний приводит к росту величины поверхностного заряда на стенках нанопоры и росту концентрации противоионов ДЭС во внутреннем объеме поры. Для дополнительного исследования влияния спектра падающего излучения на эффект увеличения удельной проводимости, были проведены измерения с использованием фильтров низких (λ > 600 нм) и высоких

(λ < 600 нм) частот. Фильтры разделяют запрещенную зону SiN_x на две примерно равные части и вдвое ослабляют эффект роста удельной проводимости (рисунок 8 б, в.), что косвенно подтверждает важность спектрального состава падающего излучения на эффективность управления проводимостью нанопоры.

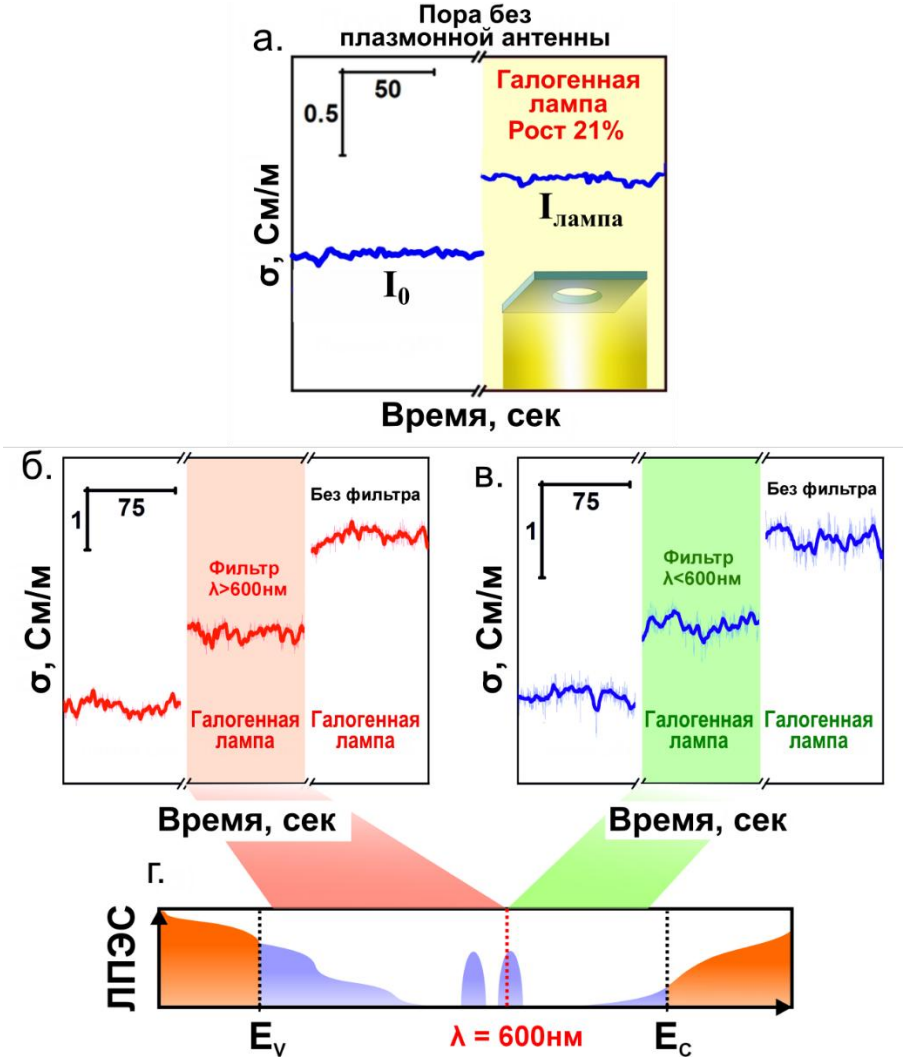

Рисунок 8 – а. Зависимость удельной проводимости одиночной SiN_x нанопоры от широкополосного излучения галогенной лампы, левая часть зависимости соответствует состоянию темнового тока, правая - состоянию облучения области поры широкополосным излучением. б,в. Зависимости удельной проводимости одиночной нанопоры от широкополосного излучения галогенной лампы с использованием фильтров низких и высоких частот. г. Распределение локальной плотности электронных состояний (ЛПЭС) в запрещенной зоне SiN_x.ы

Раздел 3.6 демонстрирует, что облучение одиночной плазмонной SiN_x нанопоры широкополосным оптическим излучения приводит к росту удельной проводимости структуры на 35% (рисунок 9 а.). Вклад в увеличение удельной проводимости структуры вносит возбуждение плазмонных резонансов в антенне-бабочке.

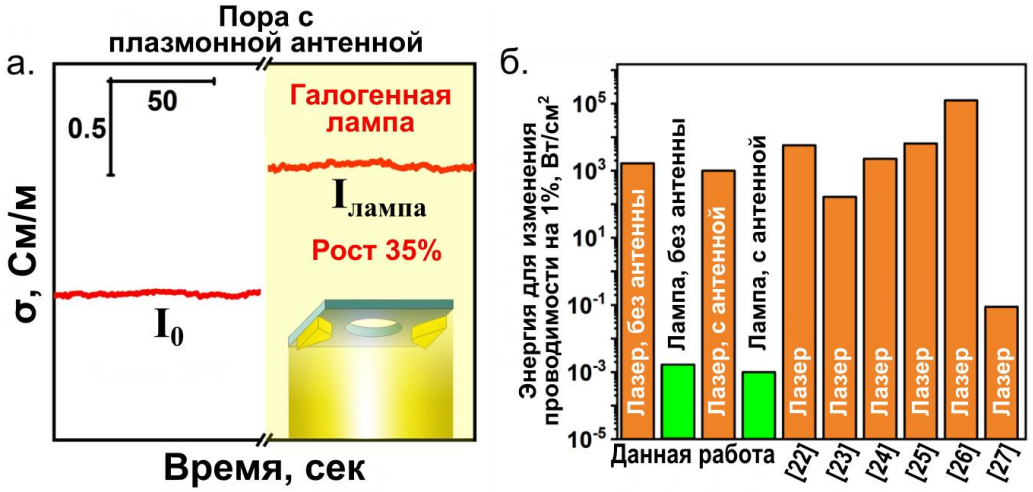

Рисунок 9 – а. Зависимость удельной проводимости одиночной нанопоры с Au плазмонной антенной-бабочкой от широкополосного излучения галогенной лампы, левая часть зависимости соответствует состоянию темнового тока, правая - состоянию облучения области поры широкополосным излучением. б. Эффективность различных способов оптического воздействия на проводимость одиночных твердотельных нанопор.

Представленный метод управления удельной проводимостью SiN_x нанопор с помощью широкополосного излучения низкой интенсивности демонстрирует большую эффективность в сравнении с подходами, использующими сфокусированное лазерное излучение (рисунок 9 б.).

Раздел 3.7 посвящен потенциостатическим исследованиям ионной проводимости пористых Al_2O_3 и C/Al_2O_3 мембран. Экспериментально продемонстрировано, что используемый в диссертационной работе способ проведения потенциостатических измерений позволяет исследовать ионной транспорт пористых структур в широком диапазоне концентраций электролита KCl.

Раздел 3.8 посвящен разработке метода детектирования и фиксации одиночных биологических молекул в области одиночной SiN_x нанопоры под действием приложенного электрического поля, схема эксперимента представлена на рисунке 10 а. Апробация данного метода позволила фиксировать одиночные белковые молекулы 20S протеасом длиной 15 нм и диаметром 11,5 нм в одиночных нанопорах диаметром 8-10 нм. Проведенные потенциостатические измерения нанопорового ионного тока представлены на рисунке 10 в, г.

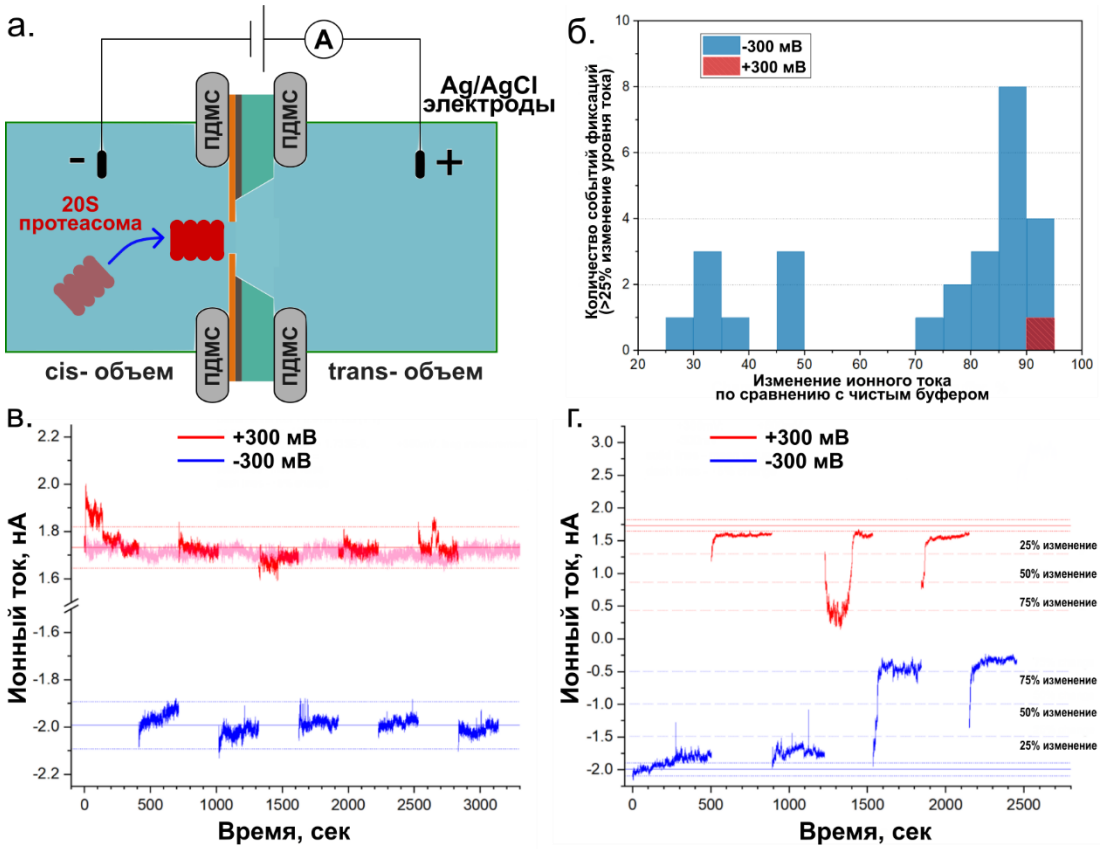

Рисунок 10 – а. Схема фиксации одиночной молекулы 20S протеасомы в области SiN_x нанопоры под действием приложенного электрического поля. б. Распределение событий фиксации молекул 20S протеасомы в области SiN_x нанопоры в зависимости от величины изменения ионного тока и полярности прикладываемого напряжения. в. Исследование стабильности нанопорового ионного тока в чистом буферном растворе при прямой и обратной полярности напряжения. г. Демонстрация нескольких последовательных событиях фиксации молекул 20S протеасомы в области SiN_x нанопоры.

Основная часть зарегистрированных событий фиксации характеризуется изменением величины ионного тока на $\gtrsim$ 75% (рисунок 10 б.). Разброс амплитуды событий фиксаций может объясняться различными величинами перекрытия внутреннего объема поры молекулами 20S-протеасомы.

В **заключении** сформулированы основные результаты и выводы диссертационной работы:

1. Отработана методика изготовления свободноподвешенных мембран из аморфных пленок SiN_x толщиной 25 -200 нм с использованием методов оптической и электронной литографии в сочетании с методами жидкостного анизотропного и плазмохимического травления. Отработана методика формирования Au плазмонных антенн-бабочек на поверхности SiN_x мембран, а

также одиночных нанопор заданного диаметра с помощью травления сфокусированным электронным лучом. Численное моделирование характеристик плазмонных антенн и одномерное расчетное приближение характеристик одиночных нанопор хорошо коррелируют с экспериментальными результатами;

2. Исследовано влияние сфокусированного лазерного излучения λ = 632 нм и мощностью $P_{опт}$ = 10 КВт/см^2 на нанопоровый ионный транспорт. Воздействие лазерного излучения приводит к увеличению удельной проводимости одиночной SiN_x нанопоры на 6% и одиночной SiN_x нанопоры с плазмонной Au антенной на 10% в растворе KCl;

3. Исследован метод управления управления ионным KCl транспортом в одиночных SiN_x нанопорах с плазмонными Au антеннами при помощи широкополосного λ = 400-1000 нм излучения низкой интенсивности $P_{опт}$ = 35 мВт/см^2, позволяющий увеличить удельную проводимость поры на 35%;

4. Определен диапазон применимости метода управления нанопоровым ионным транспортом при помощи широкополосного оптического излучения путем исследования влияния спектрального состава излучения на эффект увеличения удельной проводимости одиночных SiN_x нанопор, а также путем исследования эффектов объемного нагрева электролита и локального нагрева области нанопоры;

5. Исследован способ фиксации одиночных молекул белков в области одиночной SiN_x нанопоры для возможности дальнейшего изучения функциональной активности белков в реальном времени с помощью твердотельного нанопорового биосенсора.

6. Апробирован способ фиксации одиночных молекул белков 20S-частиц протеасомы длиной 15 нм и диаметром 11,5 нм в области одиночной SiN_x нанопоры под действием приложенного электрического поля.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ АВТОРА ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Lebedev D.V., **Vaulin N.V**., Afonicheva P.K., Vorobyov A.A., Mozharov A.M., Sharov V.A., Mikhailovskii V.Yu., Kirilenko D.A., Permyakov D.V., Logunov L.S., Ivanov Yu.D., Ryzhkov I.I., Bukatin A.S., Evstrapov A.A., Makarov S.V., Mukhin I.S. Ultra-Low Intensity Light-Driven Ionic Conductivity through a Plasmonic Nanopore // ACS Applied Nano Materials, 2024. Vol. 7, № 14. P. 16172–16181.

2. **Vaulin, N. V.**, Afonicheva, P. K., Lebedev, D. V., Bukatin, A. S., Mukhin, I. S. Study of ion transport in single solid state nanopores formed by optical and ion lithography // St. Petersburg State Polytechnical University Journal. Physics and Mathematics, 2023. №1. P. 385.

3. **Ваулин Н.В**., Афоничева П.К., Лебедев Д.В., Букатин А.С., Мухин И.С., Евстрапов А.А. Исследование фотоиндуцированных процессов в единичных твердотельных нанопорах с интегрированными плазмонными структурами // Физика твердого тела, 2023. Т. 65, № 12. С. 2201–2204.

4. **Ваулин Н.В**., Афоничева П.К., Лебедев Д.В., Букатин А.С., Мухин И.С., Евстарпов А.А. Детектирование единичных биомолекул с помощью твердотельного нанопорового SiN/Si-сенсора // Физика и техника полупроводников, 2024. Т. 58, № 9. С. 471-473.

5. Афоничева П.К., **Ваулин Н.В**., Лебедев Д.В., Букатин А.С., Мухин И.С., Евстрапов А.А. Влияние оптического излучения различной длины волны на транспортные характеристики тонких SiN-мембран с интегрированными единичными нанопорами // Письма в Журнал технической физики, 2023. Т. 49, № 23. С. 35-37.

6. Kharchenko I.A., **Vaulin N.V**., Simunin M.M., Mareev S.A., Nemtsev I.V., Goltaev A.S., Lebedev D.V., Ryzhkov I.I. Enhancement of ionic conductivity in electrically conductive membranes by polarization effect // Electrochimica Acta, 2024. Vol. 506. P. 144994.

7. Афоничева П.К., **Ваулин Н.В**., Лебедев Д.В., Букатин А.С., Кириленко Д.А., Аблеев А.Н., Иванов Ю.Д., Мухин И.С., Евстрапов А.А. Электрохимическое детектирование одиночных молекул ДНК с помощью твердотельной нанопоры // Научное приборостроение, 2024. Т. 34, № 4. С. 34-42.

8. Afonicheva, P. K., **Vaulin, N. V**., Lebedev, D. V., Bukatin, A. S., Mukhin, I. S., Evstrapov, A. A. Investigation of ion transport in solid-state nanopores upon optical radiation. // St. Petersburg Polytechnic University Journal: Physics and Mathematics, 2023. Vol. 63, № 1.1. P. 389–392.

9. Ivanov YU.D., Vinogradova A.V., Nevedrova E.D., Ableev A.N., Kozlov A.F., Shumov I.D., Ziborov V.S. Afonin O.N., **Vaulin N.V**., Lebedev D.V., Bukatin A.S., Afonicheva P.K., Mukhin I.S., Usanov S.A., Archakov A.I. Solid-State Nanopore-Based Nanosystem for Registration of Enzymatic Activity of a Single Molecule of Cytochrome P450 BM3 // International Journal of Molecular Sciences, 2024. Vol 25, № 19. P. 10864.

10. Ivanov YU.D., Ableev A.N., Shumov I.D., Ivanova I.A., **Vaulin N.V**., Lebedev D.V., Bukatin A.S., Mukhin I.S., Archakov A.I. Registration of Functioning of a Single Horseradish Peroxidase Macromolecule with a Solid-State Nanopore // International Journal of Molecular Sciences, Vol. 24, № 21. P. 15636.

11. Иванов Ю.Д., Аблеев А.Н., Шумянцева В.В., Жданов Д.Д., Покровская М.В., Александрова С.С., Иванова И.А., Виноградова А.В., Неведрова Е.Д., Зиборов В.С., **Ваулин Н.В**., Лебедев Д.В., Букатин А.С., Мухин И.С., Арчаков

А.И. Регистрация активности единичных молекул аспарагиназы с помощью нанопорового детектора // Вестник Государственного университета просвещения. Серия: Физика-Математика, 2024. № 1. С. 20-32.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Gooding J.J., Gaus K. Single-molecule sensors: challenges and opportunities for quantitative analysis // Angewandte Chemie, 2016. Vol. 128, № 38. P. 11526–11539.
2. Welch E.C. et al. Advances in biosensors and diagnostic technologies using nanostructures and nanomaterials // Advanced Functional Materials, 2021. Vol. 31, № 44. P. 2104126.
3. Mardis E.R. DNA sequencing technologies: 2006-2016 // Nature Protocols, 2017. Vol. 12, № 2. P. 213–218.
4. Nayak S. et al. Point-of-care diagnostics: recent developments in a connected age // Analytical Chemistry, 2017. Vol. 89, № 1. P. 102–123.
5. Itoh T. et al. Toward a new era of SERS and TERS at the nanometer scale: From fundamentals to innovative applications // Chemical Reviews, 2023. Vol. 123, № 4. P. 1552–1634.
6. Ataide V.N. et al. Electrochemical paper-based analytical devices: Ten years of development // Analytical Methods, 2020. Vol. 12, № 8. P. 1030–1054.
7. Xue L. et al. Solid-state nanopore sensors // Nature Reviews Materials. Nature Research, 2020. Vol. 5, № 12. P. 931–951.
8. Albrecht T. Single-molecule analysis with solid-state nanopores // Annual Review of Analytical Chemistry, 2019. Vol. 12, № 1. P. 371-387.
9. Luo Y. et al. Application of solid-state nanopore in protein detection // International journal of molecular sciences, 2020. Vol. 21, № 8. P. 2808.
10. Varongchayakul N. et al. Single-molecule protein sensing in a nanopore: a tutorial // Chemical Society Reviews, 2018. Vol. 47, №. 23. P. 8512-8524.
11. Crnković A., Srnko M., Anderluh G. Biological nanopores: Engineering on demand // Life, 2021. Vol. 11, № 1. P. 1–30.
12. Lee K. et al. Recent progress in solid-state nanopores // Advanced materials, 2018. Vol 30, №. 42. P. 1704680.
13. Chen Q., Liu Z. Fabrication and applications of solid-state nanopores // Sensors, 2019. Vol. 19, №. 8. P. 1886.
14. Zhang X. et al. Solid-state nanopore/nanochannel sensors with enhanced selectivity through pore-in modification // Analytical Chemistry, 2024. Vol. 96, №. 6. P. 2277-2285.
15. Wanunu M. et al. Rapid electronic detection of probe-specific microRNAs using thin nanopore sensors // Nature nanotechnology, 2010. Vol. 5, № 11. P. 807–814.
16. Wang R. et al. Single-molecule discrimination of labeled DNAs and polypeptides using photoluminescent-free TiO2 nanopores // ACS nano, 2018. Vol. 12, № 11. P. 11648–11656.

17. Li S. et al. Dynamics of DNA clogging in hafnium oxide nanopores // The Journal of Physical Chemistry B, 2020. Vol. 124, № 51. P. 11573–11583.
18. Merchant C. DNA translocation through graphene nanopores // Biophysical Journal, 2011. Vol. 100, № 3. P. 521a.
19. Venkatesan B. M. et al. DNA sensing using nanocrystalline surface-enhanced Al2O3 nanopore sensors // Advanced functional materials, 2010. Vol. 20, №. 8. P. 1266-1275.
20. Hu G. et al. A molecular dynamics investigation of Taq DNA polymerase and its complex with a DNA substrate using a solid-state nanopore biosensor // Physical Chemistry Chemical Physics, 2022. Vol. 24, №. 48. P. 29977-29987.
21. Pérez-Mitta G. et al. Molecular design of solid-state nanopores: Fundamental concepts and applications // Advanced Materials, 2019. Vol. 31, №. 37. P. 1901483.
22. Nicoli F. et al. DNA translocations through solid-state plasmonic nanopores // Nano letters, 2014. Vol. 14, № 12. P. 6917–6925.
23. Shi X., Verschueren D. V., Dekker C. Active delivery of single DNA molecules into a plasmonic nanopore for label-free optical sensing // Nano letters, 2018. Vol. 18, № 12. P. 8003–8010.
24. Shi X. et al. Integrating Sub-3 nm Plasmonic Gaps into Solid-State Nanopores // Small, 2018. Vol. 14, № 18. P. 1703307.
25. Di Fiori N. et al. Optoelectronic control of surface charge and translocation dynamics in solid-state nanopores // Nature nanotechnology, 2013. Vol. 8, № 12. P. 946–951.
26. Verschueren D. V. et al. Label-free optical detection of DNA translocations through plasmonic nanopores // ACS nano, 2018. Vol. 13, № 1. P. 61–70.
27. Graf M. et al. Light-enhanced blue energy generation using MoS2 nanopores // Joule, 2019. Vol. 3, № 6. P. 1549–1564.