

НАНОБИОФИЗИКА

NANOBIOPHYSICS

АДГЕЗИЯ КЛЕТОК МИКРООРГАНИЗМОВ К НАНОПЛЕНКАМ КАРБИДА КРЕМНИЯ НА КРЕМНИИ

Кукушкин С.А.³, Осипов А.В.³, Абрамов Е.Г.¹, Богомолова Е.В.^{1,2}, Панина Л.К.¹¹Санкт-Петербургский государственный университет
Университетская наб. 7/9, г. Санкт-Петербург, 199034, РФ
e-mail: lkpanina@yandex.ru²Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН
ул. Проф. Попова, 2, г. Санкт-Петербург, 197376, РФ³Институт проблем машиноведения РАН,
Большой проспект В.О., д.61, г. Санкт-Петербург, РФ

Аннотация. Исследована адгезия микроорганизмов *Saccharomyces cerevisiae* к нанопленкам карбида кремния на кремнии (SiC/Si). Показано, что для дрожжевых клеток коэффициент адгезии достигает 0,96. Тонкие нанослои, толщиной порядка 100 нм, карбида кремния SiC на кремниевой подложке представляют собой гетероструктуру, на поверхности которой возникает сильный электрический заряд. Это делает пленку SiC/Si уникальной поверхностью для исследования процессов адгезии различных микроорганизмов.

Ключевые слова: адгезия, микроорганизмы, клетка, нанопленки SiC/Si.

ADHESION OF MICROORGANISM'S CELLS TO NANOFILMS OF SILICON CARBIDE ON SILICON

Kukushkin S.A.³, Osipov A.V.³, Abramov E.G.¹, Bogomolova E.V.^{1,2}, Panina L.K.¹¹Saint-Petersburg State University
Universitetskaya emb. 7/9, St. Petersburg, 199034, Russia
e-mail: lkpanina@yandex.ru²Komarov Botanical institute RAS
Prof. Popov str., 2, St. Petersburg, 197376, Russia³Institute of Problems of Mechanical Engineering, RAS
Bolshoi av. V.O., 61, St. Petersburg, Russia

Abstract. The adhesion of *Saccharomyces cerevisiae* microorganisms to silicon carbide nanofilms on silicon (SiC / Si) has been investigated. It is shown that for the yeast cells the adhesion coefficient reaches 0.96. Thin nanolayers, with a thickness of about 100 nm, silicon carbide SiC on a silicon substrate, represent a heterostructure, on the surface of which a strong electric charge arises. This makes the SiC / Si film a unique surface for studying the adhesion processes of various microorganisms.

Key words: adhesion, microorganisms, cell, nanofilms of SiC/Si.

Термин 'адгезия' обычно употребляется для обозначения процесса прикрепления клеток микроорганизмов к твердому субстрату. Первым важнейшим этапом адгезии считается неспецифическое взаимодействие поверхностей клетки и субстрата, когда наибольшую роль играют электростатические и гидрофобные взаимодействия [1-3]. В последствии эти адгезионные связи могут быть упрочены с помощью специфических механизмов – образования химических связей, взаимодействия рецепторов и изменения конформации клеток. Специфичность клеточной адгезии определяется наличием на поверхности клеток белков клеточной адгезии. Сегодня в области биомедицины и биотехнологии развивается целый ряд актуальных технологий, использующих явление адгезии микроорганизмов. К ним относятся: концентрирование микроорганизмов, получение разнообразных иммобилизаторов, очистка воды от патогенной микрофлоры, изготовление стерильных растворов, получение энтеросорбентов нового поколения для лечения пищевых отравлений (дезинтоксикация), сбор биомассы при промышленном культивировании с сохранением интактности клеток, очистка нефтезагрязненных почв, регенерация воздуха в замкнутых объемах, очистка пищевых продуктов, а также лечение различных ран. Следует отметить, что адгезия клеток многих микроорганизмов и спор грибов, имеющих в водных средах отрицательный заряд, наиболее эффективно происходит на поверхностях, обладающих электроположительным зарядом. Однако набор таких адсорбентов весьма ограничен. Таким образом, задачей многих исследований является создание новых высокоэффективных материалов с повышенной сорбционной способностью по отношению к микроорганизмам.

Развитие нанотехнологий в последние годы сделало возможным получение нового адсорбента – карбида кремния на кремнии. В 2004-2013 рядом соавторов данного сообщения [4,5] был теоретически разработан и экспериментально реализован принципиально новый и дешевый метод роста эпитаксиальных нанослоев

карбида кремния (SiC) на кремниевых подложках (Si). Метод основан на открытии нового механизма топомеханического замещения атомов кремния в самой подложке кремния на атомы углерода за счет химической реакции взаимодействия монокристаллического кремния с газообразным монооксидом углерода (CO). Процесс замещения протекает постепенно без разрушения кристаллической структуры кремния. Ориентацию пленки при этом задает “старая” кристаллическая структура исходной матрицы Si, а не только поверхность подложки, как это обычно реализуется в традиционных методиках выращивания пленок. По сути дела, впервые реализован метод последовательной замены атомов одного сорта другими прямо внутри исходного кристалла без разрушения его кристаллической структуры. Метод напоминает “генетический синтез” белковых структур в биологии. Качество структуры слоев, полученных данным методом, значительно превосходит качество пленок карбида кремния, выращенных на кремниевых подложках стандартными методами. Карбид кремния значительно более прочный и химически инертный материал, чем кремний. Отличительно особенностью пленок SiC, синтезированных методом [4,5] является возможность получать в одном процессе гетерослой, как кубического 3C-SiC политипа, так и ряда гексагональных политипов SiC. При этом возможно выращивать инверсные слои, т.е. нижний слой, лежащий на Si будет иметь структуру 3C-SiC, а верхний структуру гексагонального SiC и, наоборот. Это принципиально отличает пленки, синтезированные данным методом, от пленок SiC, выращенных с использованием стандартной методики. Тонкие нанослои, толщиной порядка 100 нм, карбида кремния SiC состоящие из слоев различных политипов на кремниевой подложке представляют собой гетероструктуру, на поверхности которой возникает сильный электрический заряд [6]. В зависимости от условий синтеза, типа подложки кремния, уровня ее легирования и ее проводимости это заряд может быть, как отрицательным, так и положительным [6]. Как показано, в работе [7] поверхность, выращенного методом замещения атомов SiC на Si содержит из особого рода углерод-вакансионные кластеры резко повышающие ее адсорбционные свойства, по сравнению как с карбидом кремния полученным традиционным путем, так и кремнием. Этот факт был подтвержден рядом экспериментов по адсорбции щелочноземельных металлов на SiC [8]. Это делает пленку SiC на Si уникальной поверхностью для исследования процессов адгезии различных микроорганизмов.

В наших опытах для исследования адгезии микроорганизмов к пленкам карбида кремния использовали коммерческий штамм дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae*. Начальная концентрация клеток в суспензии составляла 10^6 см⁻³. Для оценки адгезии использовалась специальная сборная камера объемом 300 мкл [3]. Тест-поверхностью в камере служила пластина SiC/Si, на которую под действием силы тяжести оседали из суспензии микроорганизмы, затем камера переворачивалась и встряхивалась. Коэффициент адгезии вычисляли на основании подсчета в камере Горяева числа исходных клеток в суспензии (N_0) и оставшихся в суспензии (N_i) после контакта с пластиной SiC/Si по формуле:

$$K_a = (N_0 - N_i) / N_0$$

Результаты эксперимента показали, что величина K_a в серии опытов для *S.cerevisiae* достигала $0,96 \pm 0,02$. Эти данные по высокой степени адгезии дрожжевых клеток на пленках SiC/Si согласуются с данными проведенных ранее исследований на *E.coli* (неопубл. данные), которые также показали, что упруго-напряженные структуры SiC/Si необратимо адсорбируют кишечную палочку. Для исследования адсорбционных свойств материала использовали традиционный микробиологический метод иммобилизации бактериальных клеток при их осаждении из культуральной жидкости. С этой целью выращивали 1- суточную культуру клеток *E. coli* M-17, в которую помещали очищенные в спирте фрагменты подложки Si с нанесенным слоем SiC. Адсорбционные свойства исследовали в динамике, помещая их в бактериальную культуру *E. coli* M-17 на различные промежутки времени. Установлено, что адгезия клеток бактерий мощная, значительно лучше, чем у кремния, клетки прикреплены и не смываются водой (рис. 1).

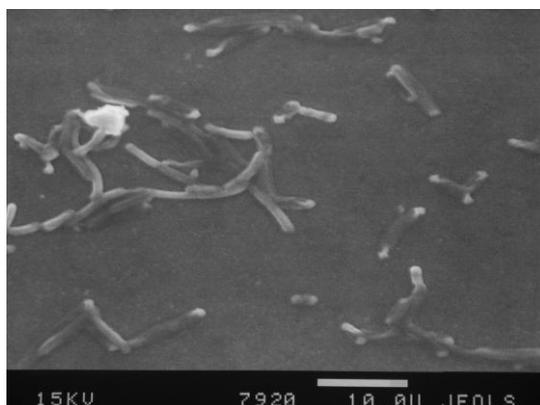


Рисунок 1 – Сканирующая электронная фотография клеток *E.coli*, прикрепленных к поверхности карбида кремния на кремнии

Таким образом, наличие положительного заряда на поверхности структур SiC на Si способствует адсорбции отрицательно заряженных микроорганизмов. Такой материал может использоваться как энтеросорбент, а также для создания ранозаживляющих повязок, действие которых основано на адсорбции и

инактивации патогенных микроорганизмов. Проведенные пилотные исследования показали, что наногетероструктуры карбида кремния на кремнии обладают очень сильным сорбирующим свойством, что связано с наличием сильного электрического поля на их поверхности, величиной и направленностью которого можно управлять, обеспечивая тем самым селективность действия сорбента.

С.А. Кукушкин, А.В. Осипов благодарят Российский научный фонд за финансовую поддержку данной работы (грант № 14-12-011102). Часть работы выполнена в рамках государственного задания БИН РАН (№ 01201255604).

Список литературы / References:

1. Звягинцев Д.Г. *Взаимодействие микроорганизмов с твердыми поверхностями*. М.: Изд. МГУ, 1973, 175 с. [Kaznacheev I.V., Gumargalieva K.Z., et al. Adhesion of various microscopic fungi to hydrophobic and hydrophilic materials. *Microbiologicheskii zhurnal*, 1988, vol. 50, no. 6, pp. 68-70 (In Russ.)]
2. Казначеев И.В., Гумаргалиева К.З., Миронова С.Н., Моисеев Ю.В. Адгезия различных микроскопических грибов к гидрофобным и гидрофильным материалам. *Микробиологический журнал*, 1988, т. 50, № 6, с. 68-70. [Gorbushina A.A., Panina L.K. Adhesion of conidia of micromycetes to polymeric materials. *Mycologia I phytopatologia*, 1992, vol. 26, iss. 5, pp. 372-377 (In Russ.)]
3. Горбушина А.А., Панина Л.К. Адгезия конидий микромицетов к полимерным материалам. *Микология и фитопат.*, 1992, т. 26, вып. 5, с. 372-377. [Kukushkin S.A., Osipov A.V., Feoktistov N.A. Synthesis of epitaxial silicon carbide films by substitution of atoms in the silicon lattice. *FTT*, 2014, vol. 56, iss. 8, pp. 1457-1485 (In Russ.)]
4. Кукушкин С.А., Осипов А.В., Феоктистов Н.А. Синтез эпитаксиальных пленок карбида кремния методом замещения атомов в кристаллической решетке кремния. *ФТТ*. 2014, т. 56, вып. 8, с. 1457-1485. [Kukushkin S.A., Osipov A.V., Feoktistov N.A. Synthesis of epitaxial silicon carbide films by substitution of atoms in the silicon lattice. *FTT*. 2014, vol. 56, iss. 8, pp. 1457-1485 (In Russ.)]
5. Kukushkin S.A., Osipov A.V. Topical Review. Theory and practice of SiC growth on Si and its applications to wide-gap semiconductor films. *J. of Phys. D: Appl. Phys.*, 2014, vol. 47, pp. 313001-313041. [Kukushkin S.A., Osipov A.V. Topical Review. Theory and practice of SiC growth on Si and its applications to wide-gap semiconductor films. *J. of Phys. D: Appl. Phys.*, 2014, vol. 47, pp. 313001-313041 (In Russ.)]
6. Гращенко А.С., Феоктистов Н.А., Осипов А.В., Калинина Е.В., Кукушкин С.А. Фотоэлектрические характеристики структур карбид кремния-кремний, выращенных методом замещения атомов в кристаллической решетке кремния. *Физика и техника полупроводников*. 2017, т. 51, вып. 5, с. 611-627. [Grashchenko A.S., Feoktistov N.A., Osipov A.V., Kalinina E.V., Kukushkin S.A. Photoelectric Characteristics of Silicon Carbide-Silicon Structures Grown by the Atomic Substitution Method in a Silicon Crystal Lattice. *Semiconductors*, 2017, vol. 51, no. 5, pp. 621-627 (In Russ.)]
7. Кукушкин С.А., Осипов А.В. Эффект Горского при синтезе пленок карбида кремния из кремния методом топохимического замещения атомов. *Письма в журнал технической физики*, 2017, т. 43, вып. 13, с. 81-88. [Kukushkin S.A., Osipov A.V. The Gorsky Effect in the Synthesis of Silicon-Carbide Films from Silicon by Topochemical Substitution of Atoms. *Technical Physics Letters*, 2017, vol. 43, no. 7, pp. 81-88 (In Russ.)]
8. Бенеманская Г.В., Дементьев П.А., Кукушкин С.А., Лапушкин М.Н., Осипов А.В., Тимошнев С.Н. Фотоэмиссионные исследования в vicinalной поверхности SiC(100) 4° и интерфейса Cs/SiC(100) 4°. *Письма в ЖТФ*. 2016, т. 42, вып. 23, с. 51-57. [Benemanskaya G.V., Dementev P.A., Kukushkin S.A., Lapushkin M.N., Osipov A.V., Timoshnev S.N. Photoemission Studies of the Vicinal SiC (100) 40 Surface and the Cs/SiC/(100) 4° Interface. *Technical Physical Letters*, 2016, vol. 42, iss. 23, pp. 51-57 (In Russ.)]