

УДК 543.94;544.55;57.08;53.086

ПЛАЗМОХИМИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ УГЛЕРОДСОДЕРЖАЩИХ ПЛЕНОК НА ПОВЕРХНОСТИ АЛЮМИНИЕВЫХ МИКРОЧИПОВ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ

© Ю. С. Ашина, А. О. Суворова, М. Н. Сляднев¹*Статья поступила 4 апреля 2014 г.*

Разработан способ плазмохимической модификации поверхности алюминиевых микрочипов для проведения полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (рв-ПЦР). В качестве плазмообразующих веществ использованы соединения различных классов: алканы, спирты, силосаны. Свойства полученных пленок проверены в условиях ПЦР с помощью разработанной модели. Для исследования проницаемости образцов применяли метод спектроскопии электрохимического импеданса. Морфологические свойства исследованы методами сканирующей электронной микроскопии и рентгеновского энергодисперсионного микроанализа. Показано, что наиболее инертные, биосовместимые в условиях ПЦР покрытия получены при плазмохимическом осаждении с использованием гексаметилдисилоксана.

Ключевые слова: плазмохимическое осаждение; полимеразная цепная реакция; сканирующая электронная микроскопия; спектроскопия электрохимического импеданса; рентгеновский энергодисперсионный микроанализ.

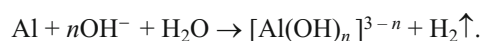
Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) широко используют для определения нуклеиновых кислот (РНК и ДНК) в биологических образцах. Высокая чувствительность и специфичность метода ПЦР обуславливают его широкое применение в контроле качества пищевых продуктов, диагностике заболеваний, при исследованиях генома человека, животных, растений и микроорганизмов [1, 2].

Использование метода ПЦР в режиме реального времени (рв-ПЦР) существенно уменьшает время анализа. Неоспоримыми преимуществами в этом случае являются возможность проведения количественного анализа и сокращение числа стадий анализа сложных образцов [3].

В работах [4, 5] было показано, что сочетание рв-ПЦР с микрочиповыми технологиями является очень перспективным подходом для широкого круга аналитических задач. Использование микрочипов позволяет значительно уменьшить объемы проб и дорогостоящих реактивов. Высокие скорости термостатирования позволяют не только сократить время, но и увеличить специфичность анализа; возможность одновременного анализа нескольких десятков проб в одном микрочипе существенно облегчает работу оператора [6]. Такой подход значительно расширяет возможности самого метода и позволяет проводить ПЦР в полевых условиях [7].

Для подобных микрочипов следует использовать подложки, изготовленные из экономичных материалов, обладающих высокими коэффициентами тепло-

проводности. Наилучшее сочетание этих характеристик было достигнуто авторами для алюминия и кремния [6]. Однако высокая трудоемкость изготовления микрочипов из кремния накладывает ограничения на их применение в рутинном анализе [8]. Алюминиевые подложки могут быть изготовлены достаточно легко, но при их использовании в условиях ПЦР существуют некоторые трудности. Так, алюминий вступает в реакцию с ПЦР-буфером (рН = 8,3, при 95 °С) по следующей схеме:



В процессе данной реакции образуются газообразные продукты, которые затрудняют детектирование флуоресценции в ячейках микрочипа при рв-ПЦР. Кроме того, появление пузырьков увеличивает риски взаимного смешивания нескольких образцов, что может привести к получению недостоверных результатов анализа. Поэтому для корректной работы подобных микрочипов необходимо модифицировать поверхность алюминиевых подложек так, чтобы предотвратить взаимодействие алюминия с компонентами ПЦР.

Большинство известных способов пассивации алюминия несовместимы с дальнейшим применением полученных объектов для рв-ПЦР. При химическом травлении [9] поверхность подложки загрязняется и становится рыхлой, вследствие чего микрореакторы прогреваются неравномерно. Химическая пассивация может повлечь за собой появление в реакционной смеси посторонних ионов переходных металлов [10],

¹ НИИ химии СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия; ГК «Люмэкс», Санкт-Петербург, Россия; e-mail: ashina-julia@rambler.ru

ингибирующих ПЦР. Создание пассивирующих пленок на поверхности алюминия путем реакции с модификаторами из жидкой фазы требует применения дорогостоящих прекурсоров, растворенных в органических растворителях, что значительно снижает технологичность серийного производства [11]. Для придания поверхности алюминия заданных свойств, таких как гидрофильность или гидрофобность, зачастую требуется проводить реакции модификации в несколько стадий.

Эффективным способом синтеза тонких пленок на поверхности металлов является плазмохимическое осаждение из газовой фазы PECVD (Plasma-Enhanced Chemical Vapour Deposition) [12]. Варьируя условия нанесения, можно получать разнообразные покрытия на субстратах различной природы. В работах [13 – 15] особое внимание уделяется модификации поверхности алюминия для достижения его коррозионной стойкости. Связь структуры плазмообразующих реагентов с инертностью и тем более биосовместимостью полученных пленок в настоящее время активно исследуется [16 – 19].

В данной работе авторы предлагают схемы плазмохимического синтеза углеродсодержащих пленок на поверхности алюминиевых микрочипов. В качестве исходных веществ для получения биосовместимых покрытий методом PECVD, как правило, используются углеводороды [20 – 22]. Для создания покрытий, обеспечивающих условия, близкие к проведению ПЦР в инертных полипропиленовых пробирках, были выбраны гептан, толуол, а также некоторые спирты и кремнийорганические соединения, которые могут образовать биосовместимые покрытия [23], в том числе обладающие заданными гидрофильными или гидрофобными свойствами [24].

Топология алюминиевого микрочипа. Алюминиевые подложки для микрочипов были изготовлены методом штамповки из листового материала Al 1050 толщиной 0,7 мм. На рис. 1 показаны топология и геометрические параметры микрочипа. Перед плазмохимическим осаждением (ПХО) пластины обрабатывались в смеси спирта и ацетона с целью обезжиривания, а после нанесения покрытий внешняя поверхность микрочипа была гидрофобизирована раствором силиконового композита «Пента-107» (ООО «Пента Север») для предотвращения неконтролируемого смешивания растворов между соседними микрореакторами за счет растекания жидкости.

Методика плазмохимического осаждения пленок на поверхности алюминиевых микрочипов. Плазмохимический синтез проводили в установке Diener Pico (Германия), обеспечивающей разряд в режиме переменного тока $f = 40$ кГц с максимальной мощностью $W = 200$ Вт. Очищенные пластины помещались на электрод в газоразрядной камере и обрабатывались 10 мин в плазме аргона (расход — $5 \text{ см}^3/\text{мин}$, $W =$

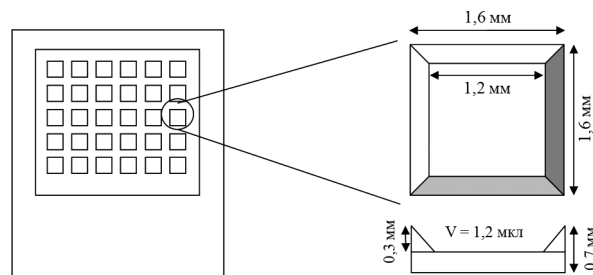


Рис. 1. Алюминиевый ПЦР-микрочип и габаритные размеры его микрореактора

$= 200$ Вт), а затем 30 мин в плазме кислорода (расход — $10 \text{ см}^3/\text{мин}$, $W = 200$ Вт). Подача мономеров из жидкой фазы осуществлялась путем впрыскивания в камеру их паров с интервалом 1 – 1,5 мин при помощи автоматизированного клапана, управляемого контроллером установки Diener Pico. Условия нанесения покрытия задавались давлением мономера в камере, временем нанесения и мощностью генератора. В табл. 1 приведены величины расхода аргона, кислорода и парциальное давление мономера. В качестве контрольных образцов использовали необработанную пластину (контрольный образец А — № 7) и пластину, окисленную плазмой кислорода (контрольный образец Б — № 8).

В работе [26] описаны возможные механизмы образования алмазоподобных пленок при участии алканов и кремнийорганических соединений. Указанные механизмы связаны с фрагментацией молекул плазмообразующих веществ под действием заряженных частиц с последующей полимеризацией фрагментов на поверхности субстрата. Подобные вещества уже использовались в работах [13 – 15] и показали хорошие защитные свойства полученных пленок, а также высокую адгезию к поверхности алюминия. Начальные параметры ПХО были выбраны на основании литературных данных. Режимы нанесения пленок (расход газов, давление мономера, время синтеза, мощность разряда), приведенные в табл. 1, являются результатом экспериментальной оптимизации [13].

Исследования морфологических и химических характеристик полученных образцов. Оценка защитных свойств покрытий. Как отмечалось, взаимодействие компонентов ПЦР-смеси с поверхностью микрочипа приводит к образованию газообразных продуктов, затрудняющих детектирование флуоресценции и снижающих аналитические характеристики рв-ПЦР (рис. 2). Для оценки инертности получаемого плазмохимического покрытия проводили термоциклирование модельного раствора в микрореакторах алюминиевого чипа и фиксировали количество пузырей, образующихся в ячейках, с помощью флуоресцентного детектора с ПЗС матрицей ПЦР-амплификатора «АриаДНА» (Люмэкс, Россия). Модельный раствор

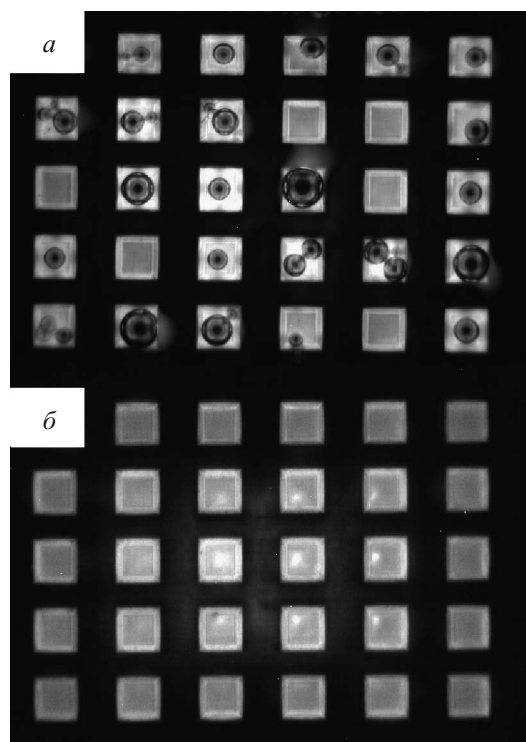


Рис. 2. Изображения пластины микрочипа при термоциклировании для визуальной оценки инертности поверхности ПЦР-микрочипа при нагреве модельного раствора до 94 °С в течение 2 мин: *а* — необработанная пластина (контрольный образец А); *б* — образец № 6, модифицированный ГМДС

состоял из ПЦР-буфера (Evrogen) и флуорофора — 10^{-7} М флуоресцеина. Результаты для необработанной и модифицированной поверхностей алюминия представлены на рис. 2.

Количественная оценка инертности покрытия была проведена согласно следующей приближенной математической модели. С помощью камеры фиксировалось количество пузырьков, выделяющихся при термоциклировании образца (94 °С в течение 120 с предварительным прогревом при 85 °С — 20 с). Суммарное количество пузырьков с поправочными коэффициентами, указывающими на степень влияния

пузырька на величину флуоресценции, определяется величиной F :

$$F = \frac{1}{0,05S_{85} + 0,076S_{94} + 0,25L_{85} + 0,0125L_{94} + 0,5B},$$

где S_{85} , S_{94} — количество пузырьков, занимающих меньше 1/4 ячейки, при 85 и 94 °С соответственно; L_{85} , L_{94} — количество пузырьков, занимающих больше 1/4 ячейки, при 85 и 94 °С соответственно; B — число ячеек, характеризующихся непрерывным выделением пузырьков.

Для минимизации погрешности проведено усреднение параметра F по результатам измерений нескольких образцов микрочипов.

Спектроскопия электрохимического импеданса (EIS). Одним из методов оценки защитных свойств органических пленок и исследования коррозионных процессов является спектроскопия электрохимического импеданса (EIS). Анализ покрытий методом EIS проводят *in situ* неdestructивным путем, что позволяет достаточно точно оценить уровень их стойкости. Методом EIS может быть изучена проницаемость разных органических покрытий в различных средах, например, путем погружения исследуемой поверхности в полярные растворители, такие как вода [27, 29]. Авторы использовали водный раствор ПЦР-буфера для точного моделирования условий ПЦР.

В работах [29, 30] показано, что значения модуля импеданса, полученные при низких частотах, служат показателем эффективности покрытия: чем выше модуль импеданса при низкой частоте, тем лучше исследуемое покрытие защищает поверхность от взаимодействия с раствором. Для образцов, которые не теряют адгезию и не поддаются видимой коррозии, модуль импеданса часто принимает значения от 10^7 Ом при 0,1 Гц.

EIS-спектры исследуемых алюминиевых образцов были получены с помощью Metrohm Autolab PGStat 30 в диапазоне частот 10^{-1} – 10^5 Гц при потенциале –1,1 В. Измерения проводили в ПЦР-буфере (TrisHCl, pH = 8,3).

Таблица 1. Условия плазмохимической обработки поверхности алюминиевых пластин

Номер образца	Вещество	t , мин	P , мбар	Расход, см ³ /мин		W , Вт
				Ar	O ₂	
1	Гептан C ₇ H ₁₆	15/30	0,29	5	4	120/20
2	Толуол C ₇ H ₈	15	0,19	5	4	20
3	Triton X-100, C ₁₄ H ₂₂ O(C ₂ H ₄ O) _{<i>n</i>} , <i>n</i> = 9 – 10	60	0,17	5	4	40
4	Октанол-1 C ₈ H ₁₇ ОН	60	0,39	10	4	20
5	Изопропанол C ₃ H ₇ ОН	30	—	5	4	40
6	ГМДС [(CH ₃) ₃ O] ₂ Si	10	0,17	5	4	20/80
7	Контрольный образец А — необработанная алюминиевая пластина					
8	Контрольный образец Б	1,5/2,3	0,38/0,44	5	10	200

Примечание. 1. В числителе указана первая стадия обработки, в знаменателе — вторая.

2. В контрольном образце Б в стадии 2 не использовался Ar, а в стадии 1 — O₂.

Методы сканирующей электронной микроскопии (SEM) и рентгеновской энергодисперсионной спектроскопии (EDX). Полученные углеродсодержащие покрытия были изучены методом сканирующей электронной микроскопии (SEM) с EDX-приставкой. SEM-изображения исследуемых образцов с EDX-спектрами были получены на сканирующем электронном микроскопе Zeiss Merlin ($U = 10$ кВ, $I_{\text{пучка}} = 500$ пА) (см. табл. 2).

Отметим, что получить достаточно ровный поперечный срез алюминиевой пластины не представляется возможным из-за деформаций металла, возникающих при распиливании пластины алмазным диском. Поэтому для оценки структуры и толщины пленок рассматривали скол микрочипа, изготовленного из монокристаллического кремния. Для получения пленок на поверхности микрочипа-свидетеля в рабочую камеру, помимо алюминиевых образцов, загружали дополнительные пластины кремния. Получены SEM-изображения нескольких участков среза, толщина пленок была усреднена по результатам нескольких измерений. Элементный анализ был проведен в четырех различных точках подложек алюминиевых микрочипов, после чего показатели были усреднены.

Проведение рв-ПЦР. Биосовместимость полученных покрытий проверяли с помощью рв-ПЦР в микрочиповом анализаторе «АриаДНА» (Люмэкс, Россия). В качестве модельной тест-системы была выбрана система для определения фрагмента 35S вируса мозаики цветной капусты, используемого в генетически-модифицированных организмах (ГМО) с длиной ампликона 120 п.н. [нуклеотидные последовательности праймеров и зондов (Люмэкс, Россия), синтез (АТГ Сервис Ген, Россия)]. Анализ проводили при терморежиме, позволяющем оценивать защитные свойства поверхности в условиях нагрева, характерного для ПЦР: 3 с при 60 °С, затем 120 с при 94 °С, далее 1 с при 94 °С и 30 с при 60 °С — 45 циклов.

Оценка защитных свойств полученных покрытий. Важным критерием, который указывает на эффективность защиты поверхности микрочипа, является отсутствие пузырьков при нагревании ПЦР-буфера до 94 °С. Как уже отмечалось, при образовании газообразных продуктов в микрореакторе возникают искажения флуоресцентного сигнала.

Полученные образцы были проверены с помощью модельного раствора ПЦР-буфера (рН = 8,3). Предложенная модель оценки защитных свойств поверх-

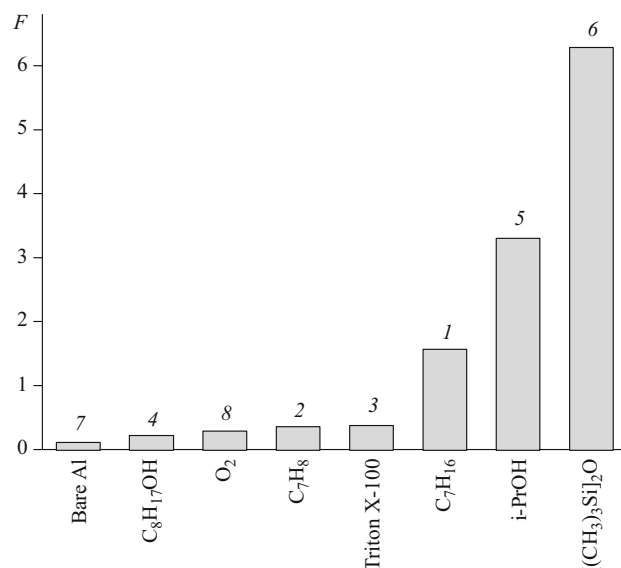


Рис. 3. Величина F для пленок, полученных методом ПХО с участием: 1 — гептана; 2 — толуола; 3 — тритона X-100; 4 — октанола; 5 — изопропанола; 6 — гексаметилдисилоксана; 7 — контрольный образец А; 8 — контрольный образец Б

ности с помощью величины F дает хорошо согласующиеся результаты.

На рис. 3 приведены величины F для микрочипов с различными типами обработки поверхности. Образцы А и Б характеризуются низкими значениями F , что и указывает на необходимость направленной модификации поверхности алюминия.

Плазмохимическая обработка микрочипов с участием октанола, толуола и НПАВ не показала эффективного уменьшения количества пузырьков. Несколько большая инертность была получена для образца 1. Из всего ряда спиртов только изопропанол имел приемлемую величину F . Однако при измерении F после нескольких дней хранения микрочипа полученная пленка показала существенное ухудшение защитных свойств. Мы считаем, что это связано со значительной потерей адгезии пленки при хранении микрочипа. Поэтому, несмотря на хорошие результаты свежеполученных пленок из изопропанола, хранение на воздухе приводит к деградации покрытия, что делает невозможным их дальнейшее использование.

Таким образом, максимальное значение F наблюдалось у образца № 6, обработанного в плазме гексаметилдисилоксана: эти пластины характеризовались минимальным количеством газообразных про-

Таблица 2. Данные EDX-анализа образцов

Номер образца	Относительная интенсивность пиков элементов в EDX-спектре для исследованных пленок			
	C, %	O, %	Al, %	Si, %
7 (контрольный образец А)	17,1 ± 1,1	3,9 ± 0,2	79,0 ± 1,1	0
8 (контрольный образец Б)	7,9 ± 0,9	4,8 ± 0,7	87,3 ± 1,6	0
1 (гептан)	25,8 ± 0,7	5,6 ± 0,5	68,6 ± 1,1	0
6 (ГМДС)	20,9 ± 1,1	21,5 ± 0,3	52,0 ± 0,7	5,6 ± 0,2

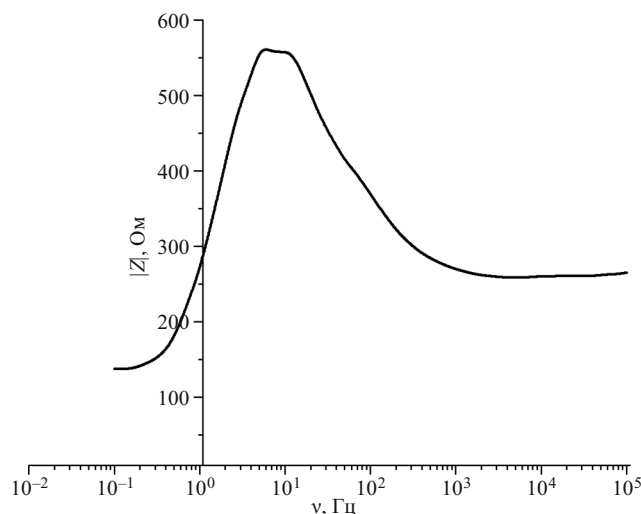


Рис. 4. Спектр EIS для образца № 1 — гептан

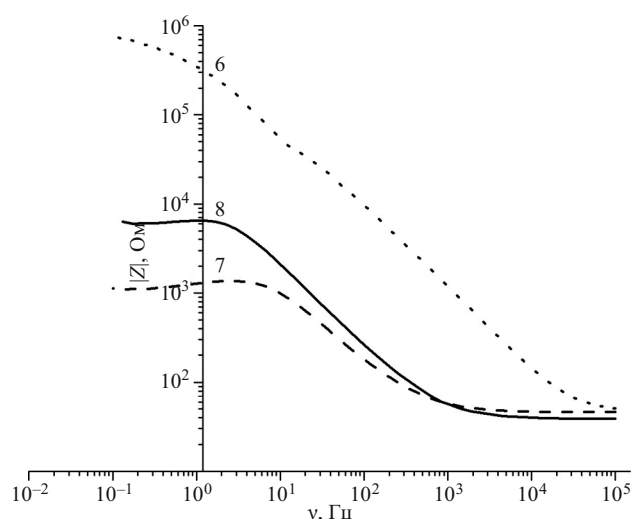


Рис. 5. Спектры EIS для образцов: № 6 — ГМДС; № 7, 8 — контрольный образец А, Б соответственно

дуктов в процессе термоциклирования (см. рис. 2, б). Пленки на основе ГМДС и гептана не показывали ухудшений в процессе хранения. Для последующих экспериментов были выбраны образцы № 6 (ГМДС) и № 1 (гептан).

Оценка проницаемости покрытий при помощи спектроскопии электрохимического импеданса (EIS). Чтобы охарактеризовать проницаемость пленки при $\text{pH} = 8,3$, нами был проанализирован модуль импеданса $|Z|_{\nu=1 \text{ Гц}}$. Спектр импеданса для образца № 1 (рис. 4) характеризуется проскоком значений при малых частотах, что связано с частичной потерей адгезии такого покрытия. С другой стороны, данная пленка хранится на воздухе достаточно долго без существенных изменений F , что указывает на более плотную структуру и небольшое количество поверхностных групп, которые могут окисляться на воздухе. Такое двойственное поведение свидетельствует о том, что образец № 1 пригоден для дальнейших исследований,

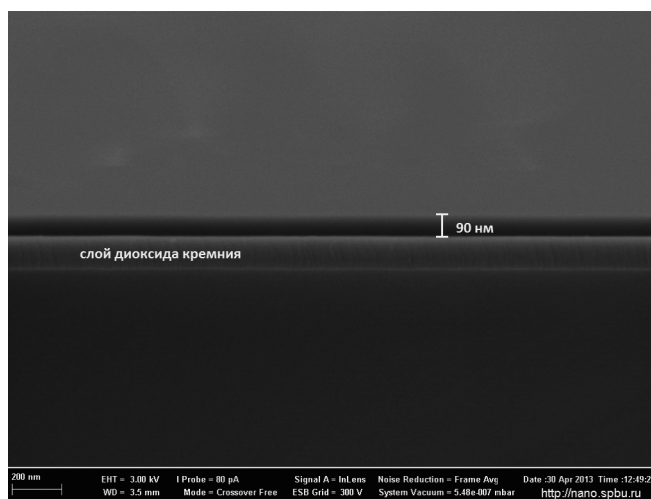


Рис. 6. Электронная микрофотография скола кремниевго микрочипа с нанесенной на его поверхность углеродсодержащей пленкой из ГМДС

но требует доработки методики для достижения большей адгезии пленки к поверхности алюминия.

На рис. 5 показаны спектры импеданса для образца № 6 и контрольных образцов А и Б. Для образца № 6 величина $|Z|_{\nu=1 \text{ Гц}}$ составляет 356 кОм, что в сотни раз превышает аналогичную величину для контрольных образцов: 1,3 кОм — для образца А и 6,5 кОм — для образца Б. Такие результаты позволяют предполагать наличие у полученного покрытия хороших защитных свойств.

Исследование поверхности методом сканирующей электронной микроскопии (SEM) и оценка ее состава методом рентгеновской энергодисперсионной спектроскопии (EDX). Для оценки толщины и однородности полученных пленок были получены SEM-изображения скола образца-свидетеля, представляющего собой кремниевый микрочип с синтезированной на его поверхности пленкой, идентичной образцу № 6 (рис. 6). Нижняя часть изображения на рис. 6 соответствует монокристаллическому кремнию. Далее видна пленка из оксида кремния, образованная путем термохимического окисления и синтезированной производителем кремниевых пластин (ОАО «Светлана-полупроводники», Россия). Полученное покрытие имеет толщину $88 \pm 10 \text{ нм}$ для поверхности микрочипа внутри микрореакторов, непрерывна и обладает высокой адгезией к подложке. Однородность полученной пленки и отсутствие трещин, а следовательно, минимальная напряженность связей также характерны для процессов низкотемпературного плазмохимического осаждения [30, 31].

В табл. 2 приведены данные элементного анализа спектров EDX для пленок, нанесенных на алюминиевые пластины с использованием гептана (образец № 1), ГМДС (образец № 6), а также для контрольных образцов А и Б. Высокое содержание углерода в контрольном образце А обуславливается остатками масла

с механического штампа, который используется при штамповке микрореакторов, и прочими органическими загрязнителями поверхности алюминиевой пластины. Отметим, что именно поэтому и было предложено очищать алюминиевые пластины путем отмывки в растворителях перед обработкой в плазме. Для образца Б характерно резкое снижение содержания углерода за счет плазменной очистки. Однако прирост содержания кислорода для этого образца очень незначительный, что свидетельствует о малом изменении толщины слоя оксида алюминия в плазме кислорода. Слабые защитные свойства полученного слоя оксида алюминия подтверждаются еще и тем, что подобные алюминиевые пластины не обладают достаточной инертностью в слабощелочной среде ПЦР-буфера при нагревании. Для увеличения толщины и повышения сплошности слоя оксида алюминия необходимо существенно увеличить время кислородной обработки алюминиевых пластин, однако при внедрении данной методики в производство время обработки желательно ограничить. Поиск компромисса между скоростью нанесения пленки и свойствами ее поверхности приводит к необходимости нанесения композитных покрытий. В результате экспериментальной оптимизации для ГМДС было предложено использование двух стадий нанесения покрытия в различных режимах (см. табл. 1). Первая стадия синтеза в режиме пониженной мощности служит для создания органического покрытия с высокой адгезией к поверхности алюминия за счет образования связей $Al-O-Si$, а вторая — для нанесения более плотного полимерного слоя в условиях повышенной мощности разряда. Такой подход хорошо согласуется механизмом роста пленок в плазме, приведенном в работе [26].

Анализ образцов № 1 и № 6 подтверждает наличие углерода в составе пленок, полученных при плазмохимическом осаждении, а для образца № 6 наблюдается и наличие кремния, что коррелирует с химическим составом используемых мономеров и подтверждает образование полимерных покрытий из них. Стоит отметить высокую однородность элементного состава полученных пленок по всей исследуемой поверхности микрочипа.

Проведение ПЦР в алюминиевых микрочипах с плазмохимическим покрытием ГМДС. Известно, что при проведении ПЦР в микрореакторах увеличивается вероятность ингибирования реакции из-за необратимой сорбции компонентов ПЦР смеси и деактивации фермента Taq-полимеразы [32]. В работе [33] показано, что использование необработанного алюминия для проведения ПЦР приводит к ингибированию реакции. Для успешного проведения ПЦР было предложено нанесение полимерного покрытия толщиной 5 мкм с гидрофобными свойствами, а также использование бычьего сывороточного альбумина (БСА) в качестве динамического пассиватора. Отметим, что применение полимерных покрытий с достаточно большой

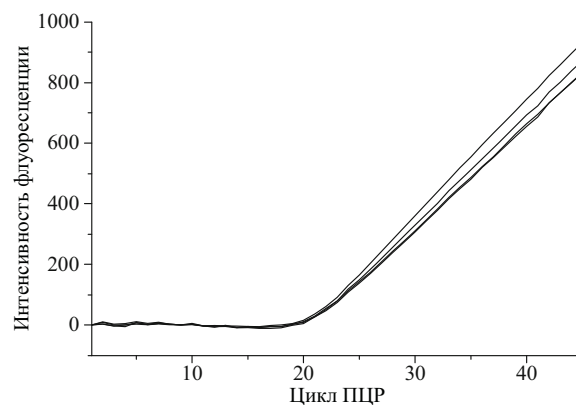


Рис. 7. Кривые ПЦР, полученные в алюминиевом микрочипе с углеродсодержащей пленкой из ГМДС

толщиной препятствует достижению высоких скоростей нагрева и охлаждения, а использование динамического пассиватора БСА изменяет условия протекания ПЦР, поэтому важным становится создание тонких покрытий, которые препятствуют подобным процессам. Кроме того, отметим, что для разработанных авторами микрочипов с открытыми микрореакторами необходимо обеспечить высокую гидрофильность поверхности для получения эффективного термического контакта ПЦР-раствора с поверхностью микрореактора.

На примере тест-системы для определения фрагмента 35S в микрочипе с покрытием, полученном из ГМДС (образец № 6), был проведен ПЦР-анализ в режиме реального времени, результаты которого показаны на рис. 7. Из ПЦР-кривых видно, что наблюдается отсутствие ингибирования амплификации, что свидетельствует о применимости полученного покрытия для проведения ПЦР. Действительно, из результатов рв-ПЦР (см. рис. 7) и состава ГМДС-покрытия (см. табл. 2) видно, что свойства образующегося полимерного покрытия и полимерных кремнийорганических покрытий [34] должны быть близки.

Отметим также, что использование повышенной мощности разряда при второй стадии синтеза ГМДС-покрытия позволило добиться гидрофильных свойств поверхности (контактный угол, измеренный на границе раздела фаз воздух – дистиллированная вода – пленка на алюминии, составил 50 ± 3), что обеспечило достаточно эффективное растекание ПЦР-раствора при введении его в микрореакторы чипа с полученным покрытием. Гидрофильные свойства подобного покрытия обеспечили хороший термический контакт раствора с поверхностью микрочипа, что определило высокие скорости нагрева и охлаждения, характерные для микрочиповых аналитических систем молекулярно-генетического анализа.

Таким образом, полученные результаты показывают, что из множества известных мономеров, которые используются при плазмохимическом синтезе покрытий, самым перспективным является ГМДС. образу-

ется плотная однородная углеродсодержащая пленка, которая надежно защищает поверхность микрочипа от взаимодействия с ПЦР-буфером и не ингибирует амплификацию.

Установлено, что пленки, полученные из спиртов, деградируют при хранении на воздухе, а пленки из углеводородов имеют небольшую адгезию к поверхности алюминия, что отрицательно влияет на их работоспособность в среде ПЦР. Лучшее покрытие, полученное методом ПХО, представляет собой полимер из ГМДС. Это покрытие обладает высокой адгезией к алюминию, возможно, вследствие образования связей Al–O–Si. Наряду с полученными гидрофильными свойствами ГМДС-покрытия это позволяет использовать его для создания гибридных многослойных пленок, причем для синтеза как первичного адгезионного покрытия, так и завершающего покрытия. Дальнейшие исследования будут направлены на разработку покрытий, позволяющих не только проводить рв-ПЦР с использованием жидких ПЦР-реактивов, но и обеспечивать возможность лиофилизации компонентов ПЦР-смеси в микрореакторах [6], что повысит аналитические характеристики подобной микрочиповой аналитической системы.

Авторы благодарят коллектив МРЦ по направлению «Нанотехнологии» СПбГУ за выполнение сканирующей электронной микроскопии и EDX-анализа, а также научные группы О. В. Левина и С. С. Ермакова (СПбГУ) за помощь в выполнении спектроскопии электрохимического импеданса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cho Y. K., Kim J., Lee Y. Clinical evaluation of micro-scale chip-based PCR system for rapid detection of hepatitis B virus / Biosens. Bioelectr. 2006. N 21. P. 2161 – 2169.
2. Wang S. H., Wen J. K., Zhou Y. F. Identification and characterization of Bacillus anthracis by multiplex PCR on DNA chip / Biosens. Bioelectr. 2004. N 20. P. 807 – 813.
3. Choe H. S., Lee D. S., Lee S. J. Performance of Anyplex™ II multiplex real-time PCR for the diagnosis of seven sexually transmitted infections: comparison with currently available methods / Int. J. Infect. Dis. 2013. N 2. P. 1134 – 1140.
4. Weiping Y., Liqun D., Jing W. Simulation and experimental study of PCR chip based on silicon / Sensors and Actuators B. 2005. N 108. P. 695 – 699.
5. Liu D., Zhou X., Zhong R. Analysis of multiplex PCR fragments with PMMA microchip / Talanta. 2006. Vol. 68. P. 616 – 622.
6. Наволоцкий Д. В., Крисько А. В., Арнаутов В. А., Гейбо Д. С., Ганеев А. А. Мультиплексная аналитическая система для определения ДНК методом ПЦР в реальном времени / Научное приборостроение. 2010. Т. 20. № 1. С. 10 – 20.
7. Verdin E., Saillard C., Labbe A. A nested PCR assay for the detection of Mycoplasma hyopneumoniae in tracheobroncholar washings from pigs / Veterinary Microbiol. 2000. Vol. 76. P. 31 – 40.
8. Сляднев М. Н. Микрочиповые системы для молекулярно-генетического анализа / Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева). 2011. Т. LV. № 2. С. 118 – 132.
9. Çakır O. Chemical etching of aluminium / J. Mater. Proc. Technol. 2008. N 199. P. 337 – 340.
10. Breslin C. B., Treacy G., Carroll W. M. Studies on the passivation of aluminium in chromate and molybdate solutions / Corrosion Sci. 1994. Vol. 36. N 7. P. 1143 – 1154.
11. Лисичкин Г. В., Фадеев А. Ю., Сердан А. А. Химия привитых поверхностных соединений. — М.: Физматлит, 2003. — 592 с.
12. Pfohl C., Gebauer-Teichmann A., Rie K.-T. Application of wear-resistant PACVD coatings in aluminium diecasting: economical and ecological aspects / Surface Coatings Technol. 1999. N 112. P. 347 – 350.
13. Ravi N., Bukhovets V. L., Varshavskaya I. G. Deposition of diamond-like carbon films on aluminium substrates by RF-PECVD technique: Influence of process parameters / Diamond Rel. Mater. 2007. N 16. P. 90 – 97.
14. Gil Elly, Park J. B., Oh J. S., Yeom G. Y. Characteristics of SiO_x thin films deposited by atmospheric pressure chemical vapor deposition as a function of HMDS/O₂ flow rate / Thin Solid Films. 2010. N 518. P. 6403 – 6407.
15. Zaninia S., Riccardia C., Orlandib M. Characterisation of SiO_xC_yH_z thin films deposited by low-temperature PECVD / Vacuum. 2008. N 2. P. 290 – 293.
16. Mi Ran Moon, Eunkyoung Nam, Jihyung Woo, Sungwoo Lee, Kyung Park, Donggeun Jung, Hyoungsub Kim, Hoo-Jeong Lee. Effects of surface treatments using PECVD-grown hexamethyldisiloxane on the performance of organic thin-film transistor / Thin Solid Films. 2009. N 517. P. 4161 – 4164.
17. Gruniger A., Bieder A., Sonnenfeld A., von Rohr Ph. Rudolf, Muller U., Hauert R. Influence of film structure and composition on diffusion barrier performance of SiO_x thin films deposited by PECVD / Surface Coatings Technol. 2006. N 200. P. 4564 – 4571.
18. Ram Prasad G., Stephen Daniels T., Cameron D. C., McNamara B. P., Tully Elizabeth, O'Kennedy R. PECVD of biocompatible coatings on 316L stainless steel / Surface Coatings Technol. 2005. N 200. P. 1031 – 1035.
19. Jiashen Wei, Poh Lam Ong, Tay Francis E. H., Iliescu Ciprian. A new fabrication method of low stress PECVD SiNx layers for biomedical applications / Thin Solid Films. 2008. N 516. P. 5181 – 5188.
20. Rodil S. E., Olivar R., Arzate H., Muhl S. Properties of carbon films and their biocompatibility using in-vitro tests / Diamond Rel. Mater. 2003. N 12. P. 931 – 937.
21. Ram Prasad G., Stephen Daniels T., Cameron D. C., McNamara B. P., Tully Elizabeth, O'Kennedy R. PECVD of biocompatible coatings on 316L stainless steel / Surface Coatings Technol. 2005. N 200. P. 1031 – 1035.
22. Cicala G., Bruno P., Losacco A. M. PECVD of hydrogenated diamond-like carbon films from CH₄–Ar mixtures: growth chemistry and material characteristics / Diamond Rel. Mater. 2004. N 13. P. 1361 – 1365.
23. Ширококов М. А. Исследование процессов формирования и антикоррозионных свойств полимерных пленок, полученных в низкотемпературной плазме предельных углеводородов: автореф. дисс. ... канд. хим. наук. — Ижевск, 2006. — 24 с.
24. Iliescu C., Chen B., Poenar D. P. PECVD amorphous silicon carbide membranes for cell culturing / Sensors and Actuators B. 2008. N 129. P. 404 – 411.
25. Tan Ing H., da Silva Maria Lucia P., Demarquette Nicole R. Paper surface modification by plasma deposition of double layers of organic silicon compounds / J. Mater. Chem. 2001. N 11. P. 1019 – 1025.
26. Friedrich J. Mechanisms of Plasma Polymerization — Reviewed from a Chemical Point of View / Plasma Process. Polym. 2011. N 8. P. 783 – 802.
27. Hinton Andrew J. Determination of coating adhesion using electrochemical impedance spectroscopy. Solartron Analytical. URL: <http://www.korozja.eu/html/eis/coatings.pdf>

28. **Metroke T. L., Gandhi J. S., Applett A.** Corrosion resistance properties of Ormosil coatings on 2024-T3 aluminum alloy / *Progr. Org. Coatings*. 2004. N 50. P. 231 – 246.
29. **Olivier M.-G., Poelman M.** Use of Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS) for the Evaluation of Electrocoatings Performances. *Recent Researches in Corrosion Evaluation and Protection*. URL: <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/26668.pdf>
30. **Islam M., Azhar M. R., Fredj N.** Electrochemical impedance spectroscopy and indentation studies of pure and composite electroless Ni – P coatings / *Surface Coatings Technol.* 2013. N 236. P. 262 – 268.
31. **Barreca D., Gasparotto A., Maccato C.** Low-Temperature PECVD of Transparent $\text{SiO}_x\text{C}_y\text{H}_z$ Thin Films / *Chem. Vap. Deposition*. 2007. N 13. P. 205 – 210.
32. **Schrader C., Schielke A., Ellerbroek L.** PCR inhibitors — occurrence, properties and removal / *J. Appl. Microbiol.* 2012. N 113. P. 1014 – 1026.
33. Патент № 7264950 (США). Reaction system for performing in the amplification of nucleic acids. Заявители: M. Lee, H. Bird, D. Leslie; заявл. 29.09.00.
34. **Сляднев М. Н., Лаврова М. В., Еркин М. А., Наволоцкий Д. В., Крисько А. В., Ганеев А. А.** Модифицирование поверхности микрореакторов микрофлюидного чипа для проведения полимеразной цепной реакции в режиме реального времени / *Научное приборостроение*. 2007. Т. 17. № 3. С. 25 – 30.