

ПРЕДЛОЖЕНИЯ
ФГБУН « ИНСТИТУТА В КПНИ «ФОТОНИКА»

1. Заявка от Лаборатории(отдела, сектора)

НИР.

Мероприятие 1. Направление 1.3

Название НИР: «Разработка позиционно-чувствительных преобразователей с расширенным спектром переменных, конвертируемых в оптический сигнал для оптофлюидики, нанофотоники и систем безлинзовой голографической / томографической микроскопии»

Целью данной работы является разработка ключевых компонент мультиплексируемой оптофлюидной техники и безлинзовой микроскопии как в оптическом диапазоне, так и за его пределами, включая анализ неоптических переменных (для задач радиометрии и магнитометрического картирования). Данные устройства могут быть рассмотрены как преобразователи / модуляторы, а также конвертеры неоптических физических сигналов в оптический сигнал с пространственным разрешением, внедряемые в схемы датчиков / детекторов излучения / многоканальных двумерных матриц с мультипараметрической позиционно-чувствительной регистрацией переменных и возможностью установления их колокализации в динамике.

1 Сроки выполнения НИР: 2019– 2021 годы

2 Исполнители НИР: Градов О.В., ..., ...

3 Цель и актуальность НИОКР

Ключевым направлением в современной биофотонике, микроаналитической фотометрической / флуориметрической технике, нанофотонике и т.п. областях, в которых объём анализа достаточно мал, а потребность в мультиплексировании и установлении корреляции между несколькими анализируемыми переменными (в динамике или в различных точках образца) достаточно велика, является анализ и мониторинг состояния образца с использованием микрофлюидных чипов. Тем не менее, использование аналитических чипов не решает принципиальных проблем мультиплексирования анализа, так как увеличение числа переменных приводит к увеличению числа датчиков и, как следствие, увеличению объёма регистратора с сопутствующим усложнением калибровки и возможности установления точного паттерна корреляции между различными каналами регистрации. Нивелирование этой проблемы было бы возможным при использовании одного класса датчиков (например, оптических КМОП-матриц или приборов с зарядовой связью), число которых минимально и ограничивается только размером зоны ROI мониторинга, а мультиплексирование регистрируемых переменных достигается за счет ввода в систему различных пленочных или иных преобразователей сигналов в читаемый данными приемниками диапазон. При использовании матриц преобразователей с дискретностью элементов мозаик конвертеров, соответствующей дискретизации / пространственному разрешению матричных детекторов, возможно реализовать практически полноценный анализ локализации и колокализации неоптических и оптических переменных с наложением на карту оптической плотности или карту изофот флуоресценции / люминесценции образца (3D luminance surface). Анализ локализации и колокализации оптических и неоптических переменных на одном приемнике с использованием сменной матрицы позиционно-чувствительных или

«мапирующих» преобразователей существенно упрощает калибровку и уточняет результаты корреляционного картирования характеристик образца на чипе либо в ином носителе, подвергаемом анализу методами контактной безлинзовой либо голографической микроскопии с использованием стандартных ПЗС-детекторов / КМОП-детекторов.

Можно дать краткий экскурс в методологию анализа оптических свойств на чипе и проблему конвертирования в мультиплексном картировании на чипе, при сравнительном анализе которых можно убедиться в актуальности предлагаемого направления и совместимости решения данных проблем в едином типе системе.

В настоящее время известны лаборатории на чипе для фотометрического и спектрофотометрического анализа в оптической области на базе КМОП-матриц. Как правило, возможность спектрального анализа на чипах достигается за счет применения в качестве преобразователей оптических систем фильтрации на базе селективных резонаторов Фабри-Перо с использованием КМОП-совместимых по технологии получения тонкопленочных слоёв. Нанесение дополнительно к ним либо поверх них любого другого слоя ухудшает оптические и метрологические характеристики спектрального прибора, поэтому не практикуется. Как правило, задача позиционно-чувствительного анализа на чипе после нанесения покрытий для спектрального анализа не ставится и не является решаемой.

Известны также микроэлектродные матрицы для электрических измерений на одиночных клетках, точечной электростимуляции и электропорации мембран, производящиеся по КМОП-технологии и позволяющие достигнуть позиционной чувствительности измерений порядка 0.18 мкм. Данные планарные электродные матрицы могут быть подвергнуты последующей обработке с нанесением слоёв, обеспечивающих физико-химическую функционализацию поверхностей [1] (для реализации тех или иных специфических измерений). Функционализация чипа в данном случае необратима и производится один раз. Данные КМОП-структуры не предусматривают измерений в оптической области и не способны измерять в точке локальной фиксации потенциала или электропорации клетки оптические или иные характеристики (см. напр., патент на конструкцию подобных структур [2]). Помимо электрофизического использования КМОП, возможно селективное (ионоселективное) детектирование концентраций определенных агентов / ионов в ходе электрохимического КМОП-опосредованного мониторинга на чипе [3]. В связи с этим, измерения оптических и электрохимических переменных с КМОП носят альтернативный характер. Методов, позволяющих осуществлять анализ и картирование оптических, электрохимических, магнитных и иных переменных с сохранением позиционной чувствительности измерений и анализа результатов в колокализации данных параметров – кроме работ авторского коллектива данной заявки – в принципе, не существует.

Известны также оптические лаборатории на чипе с регистрацией светового сигнала ПЗС-матрицами, однако в большинстве случаев ПЗС-матрицу выносят

¹ López-Huerta F., Herrera-May A.L., Estrada-López J.J., Zuñiga-Islas C., Cervantes-Sanchez B., Soto E., Soto-Cruz B.S. Alternative post-processing on a CMOS chip to fabricate a planar microelectrode array // *Sensors*. – 2011. – 11(11). – P. 10940-11057.

² US08452369

³ Huang Y., Mason A. Lab-on-CMOS integration of microfluidics and electrochemical sensors // *Lab Chip*. – 2013. – 13(19). – P. 3929-3934.

за пределы флюидного чипа в малошумящие охлаждаемые или неохлаждаемые [4,5] камеры. За счет этого может достигаться чувствительность, достаточная для хемилюминесцентного анализа (на уровне счета одиночных фотонов [6]) либо – электрохемилюминесцентного анализа [7] (где коэффициенты выхода фотонов в реакции выше). Введение данных камер в конструкцию осуществляется путем их установки на микроскоп (например – инвертированный эпифлуоресцентный [8]) или специализированную оптическую схему (в которой сам чип выполняет функцию матрицы / транспаранта, а не активного детектирующего устройства) [9], частным случаем которой являются мультиспектральные/спектрозональные устройства с диодной подсветкой, спектроколориметрически соответствующей диапазонам возбуждения флуоресценции красителей (в случае флуоресцентной методики детектирования) либо спектральным характеристикам используемых фильтров [10]. Когда речь идёт об интеграции ПЗС-детекторов в «ридеры чипов» (считывающие устройства) – в силу необходимости оптики для сбора фотонов, в оптический тракт между источником сигнала (чипом) и ПЗС вводятся линзы и фильтры (объектив камеры для фокусировки светового пучка как пререквизит) [11], что заведомо ведет к изменению класса морфизмов между изображением и оригиналом по сравнению с контактным получением изображения. В указанном аспекте уменьшение (микроминиатюризация) неохлаждаемой камеры является, при сохранении неконтактного оптического тракта, отрицательным фактором – ухудшающим метрологические характеристики прибора [12]. Безальтернативно

⁴ Christensen D.A., Herron J.N. Optical System Design for Biosensors Based on CCD Detection // *Methods in Molecular Biology*. – 2009. – 503. – P. 239-258

⁵ Walczak R. Non-Cooled Low-Cost CCD Camera Module as Fluorescence Detector for Lab-on-a-Chip Life-Science Applications // *Procedia Engineering* – 2011. – 25. – P. 160-163

⁶ Cheek B.J., Steel A.B., Torres M.P., Yu Y., Yang H. Chemiluminescence detection for hybridization assays on the flow-thru chip, a three-dimensional microchannel biochip // *Anal. Chem.* – 2001. – 73(24). – P. 5777-5783.

⁷ Rasooly A., Bruck H.A., Kostov Y. An ELISA Lab-on-a-Chip (ELISA-LOC) // *Methods in Molecular Biology* – 2013. – 949. – P. 451-471.

⁸ Eteshola E., Balberg M. Microfluidic ELISA: on-chip fluorescence imaging // *Biomed. Microdevices*. – 2004. – 6(1). – P. 7-9.

⁹ Ozawa T., Kinoshita K., Kadowaki S., Tajiri K., Kondo S., Honda R., Ikemoto M., Piao L., Morisato A., Fukurotani K., Kishi H., Muraguchi A. MAC-CCD system: a novel lymphocyte microwell-array chip system equipped with CCD scanner to generate human monoclonal antibodies against influenza virus // *Lab Chip*. – 2009. – 9(1). – P. 158-163.

¹⁰ Balsam J., Bruck H.A., Rasooly A. Two-Layer Lab-on-a-Chip (LOC) with Passive Capillary Valves for mHealth Medical Diagnostics // *Methods in Molecular Biology* – 2014. – 1256. – P. 247-258.

¹¹ Rasooly A., Kostov Y., Bruck H.A. Charged-Coupled Device (CCD) Detectors for Lab-on-a Chip (LOC) Optical Analysis // *Methods in Molecular Biology* – 2013. – 949. – P. 365-385.

¹² Walczak R. Fluorescence detection by miniaturized instrumentation based on non-cooled CCD minicamera and dedicated for lab-on-a-chip applications // *BioChip*. – 2011. – 5. – 271.

разрешение проблемы нивелировки искажений и диссипации регистрируемого потока до входа в регистратор путем устранения линзового оптического тракта из регистрирующей системы чип-регистратора, однако такое решение является редким, несмотря на то, что концепция безлинзового картирования оптических параметров на чипе – широко известна [13]. Контактный метод сопряжения ПЗС и аналитического чипа имеет прецеденты применения во флуориметрии на чипе с использованием коллиматора Соллера, основанного на коллимации пучка при прохождении через стопку матриц с лазерно-перфорированными диафрагмами, наложенными на ПЗС [14] (технология «stack of pinholes» – «стопка диафрагм» [15]). Вместе с тем, известны методы безлинзовой микроскопии, в особенности – голографической безлинзовой микроскопии, обеспечивающие оптофлюидные и проточно-цитометрические методы измерений. Но они являются, в соответствии с данным определением, оптическими методами, не картирующими другие типы переменных, кроме оптического сигнала.

Нами создан задел по разработкам картирующих мультипараметрических и мультиплексных конвертеров, интродуцируемых напрямую в оптофлюидный чип или безлинзовый контактный микроскоп. Данные конвертеры могут состоять из элементов различных схем конверсии: сцинтилляционные преобразователи типа тонкослойных мозаик с различным квенчинг-фактором специфицированным для конкретных типов регистрируемых излучений; магнитометрические матрицы на базе ультрадисперсных магнитопорошковых флюкс-детекторов или тонкослойно нанесенных феррофлюидов с известными формами неустойчивостей; системы на твердотельных допированных матрицах для фиксации сигнала вне оптического диапазона; термолаковые ячеистые покрытия, локально изменяющие оптические характеристики при нагреве и т.д. (см., например, наш аналитический обзор [16] или примеры приложения данного принципа [17,18]). Однако техническая часть реализована была не полностью и, скорее, демонстрировала возможность данной

¹³ Moon S., Keles H.O., Ozcan A., Khademhosseini A., Haeggstrom E., Kuritzkes D., Demirci U. Integrating microfluidics and lensless imaging for point-of-care testing // *Biosens. Bioelectron.* – 2009. – 24(11). – P. 3208-3214.

¹⁴ Balsam J., Ossandon M., Kostov Y., Bruck H.A., Rasooly A. Lensless CCD-based fluorometer using a micromachined optical Söller collimator // *Lab Chip.* – 2011. – 11(5). – P. 941-949.

¹⁵ Balsam J., Ossandon M., Bruck H.A., Rasooly A. Modeling and design of micro-machined optical Söller collimators for lensless CCD-based fluorometry // *Analyst.* – 2012. – 137(21). – P. 5011-5017.

¹⁶ Gradov O. V., Jablovkov A. G. Novel morphometrics-on-a-chip: CCD- or CMOS-lab-on-a-chip based on discrete converters of different physical and chemical parameters of histological samples into the optical signals with positional sensitivity for morphometry of non-optical patterns // *J. Biomed. Tech.* — 2016. — 2. — P. 1–29.

¹⁷ Jablovkov A. G., Gradov O. V. Multiparametric qualimetric microsurgical scanning chip-lancet model: theoretical metrological and biomedical considerations // *Micro Medicine (form. known as Arch. Biol. Sci.)*. — 2015. — 3(2). — P. 31–35.

¹⁸ Notchenko A. V., Gradov O. V. Elementary morphometric labs-on-a-chip based on hemocytometric chambers with radiofrequency culture identification and relay of spectrozonal histochemical monitoring // *Visualization, Image Processing and Computation in Biomedicine.* — 2013. — Vol. 2.