



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **75984** (13) **U**
(51) МПК (2012.01)
G01N 21/00
G01N 21/64 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2012 04938	(72) Винахідник(и): Чегель Володимир Іванович (UA), Демченко Олександр Петрович (UA), Назаренко Володимир Іванович (UA), Литвин Віталій Костянтинович (UA), Лопатинський Андрій Миколайович (UA), Кукла Олександр Леонідович (UA), Павлюченко Олексій Сергійович (UA)
(22) Дата подання заявки: 19.04.2012	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.12.2012	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.12.2012, Бюл.№ 24	(73) Власник(и): ІНСТИТУТ ФІЗИКИ НАПІВПРОВІДНИКІВ ІМ. В.Є. ЛАШКАРЬОВА НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ, пр. Науки, 41, м. Київ-680, 03680 (UA)

(54) ОПТОЕЛЕКТРОННИЙ БІОСЕНСОР-ФЛЮОРИМЕТР

(57) Реферат:

Оптоелектронний біосенсор-флюориметр містить червоний та синій світлодіоди, фотоприймач та тримач для досліджуваного зразка. Він додатково містить червоний, зелений та фіолетовий лазери та тримач для них, на якому вони закріплені з можливістю регулювання кута падіння лазерного випромінювання на досліджуваний зразок. Як фотоприймач використано фотоспектрометр, при цьому лазери та світлодіоди розташовані по різні сторони від тримача зразка таким чином, що їх випромінювання лежить в одній площині, а фотоспектрометр розташований навпроти тримача зразка під кутом 90° до цієї площини.

UA 75984 U

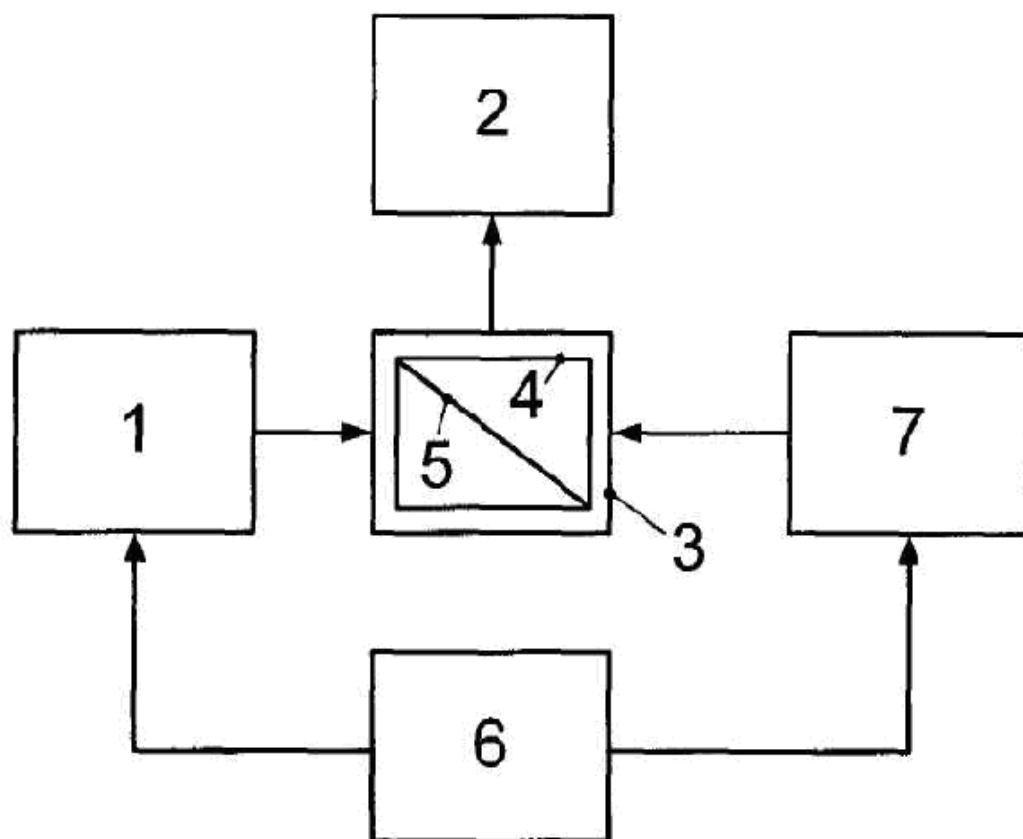


Fig. 1

Корисна модель належить до спектрофлюориметрії і може бути використана для високочутливого детектування різних речовин, проведення біохімічних аналізів та імунологічних тестів в клінічній практиці, для контролю якості сільськогосподарської сировини та питної води, дослідження різних типів об'єктів, нанесених на твердотільний носій, наприклад, виконаних у вигляді чипів, шляхом реєстрації спектрів флюоресценції.

Відомий оптоелектронний сенсор [1], що застосовувався при дослідженні відбиття та флюоресценції поверхні зразків, зокрема індукції флюоресценції хлорофілу рослинних об'єктів у польових умовах. Аналог містить синій світлодіод як освітлювач для збудження і фотоприймач для реєстрації флюоресценції та тримач зразків.

Причиною, що заважає одержанню очікуваного технічного результату є те, що пристрій-аналог не дозволяє працювати зі значною кількістю досліджуваних речовин.

Як прототип прийнято сенсор [2] для визначення флюоресценції нативного хлорофілу листка рослини з метою діагностики стану рослини, що містить тримач зразків, який складається з двох рухомо з'єднаних пластин, фотоприймача, розташованого в отворі верхньої пластини навпроти досліджуваного зразка, синій та червоний світлодіоди, розміщені попарно-симетрично навколо отвору під верхньою пластиною так, що оптичні осі світлодіодів та фотоприймача перетинаються на нижній частині тримача зразків.

Спільними рисами прототипу та запропонованого пристрою є використання тримача зразків, синього та червоного світлодіодів як освітлювачів для збудження та фотоприймача для реєстрації флюоресценції.

Причиною, що заважає одержанню очікуваного технічного результату є те, що прототип не дозволяє збуджувати сигнал флюоресценції в повному спектрі електромагнітних хвиль видимого діапазону і, відповідно, не дозволяє працювати з широким рядом досліджуваних речовин.

В основу корисної моделі поставлено задачу створення такого оптоелектронного біосенсора-флюориметра, який би був більш універсальним та дав би змогу, шляхом розширення спектра електромагнітних хвиль, для збудження флюоресценції, збільшити ряд досліджуваних речовин та підвищити чутливість біосенсора, що дозволило б реєструвати меншу концентрацією досліджуваних речовин.

Для вирішення поставленої задачі оптоелектронний біосенсор-флюориметр містить червоний та синій світлодіоди, фотоприймач та тримач для досліджуваного зразка, червоний, зелений та фіолетовий лазери та тримач для них, на якому вони закріплені з можливістю регулювання кута падіння лазерного випромінювання на досліджуваний зразок, а як фотоприймач використано фотоспектрометр, при цьому лазери та світлодіоди розташовані по різні сторони від тримача зразка таким чином, що їх випромінювання лежить в одній площині, а фотоспектрометр розташований навпроти тримача зразка під кутом 90° до цієї площини.

Оптоелектронний біосенсор-флюориметр відрізняється також тим, що додатково містить білий та зелений світлодіоди.

Оптоелектронний біосенсор-флюориметр відрізняється також тим, що тримач зразків виконаний у вигляді порожнистого паралелепіпеда, без верхньої грані, на двох бічних протилежних стінках якого містяться отвори для проходження випромінювання лазерів та світлодіодів на досліджуваний зразок, інша бічна стінка містить отвір для вхідної щілини фотоспектрометра, а нижня частина тримача зразків містить заглиблення для встановлення робочої кювети з прозорого матеріалу.

Оптоелектронний біосенсор-флюориметр відрізняється також тим, що робоча кювета з прозорого матеріалу виконана таким чином, що довжина її діагоналі забезпечує можливість встановлення змінного сенсорного чипа.

Введення в оптоелектронний біосенсор-флюориметр червоного, зеленого та фіолетового лазерів, фотоспектрометра дозволяє розширити ряд досліджуваних речовин при забезпеченні високої чутливості вимірювань. Використання як додаткових джерел опромінення лазерів, а також закріплення їх на тримачі з можливістю регулювання кута падіння лазерного променя на досліджуваний зразок, дозволяє отримувати рівень сигналу флюоресценції більшої інтенсивності. Розташування лазерів та світлодіодів по різні сторони від тримача зразків таким чином, що їх випромінювання лежить в одній площині та розміщення фотоспектрометра навпроти тримача зразків під кутом 90° до цієї площини, зменшує рівень інтенсивності власного випромінювання лазерів та світлодіодів, яке потрапляє до вхідної щілини фотоспектрометра, і є паразитним до флюоресцентного випромінювання, що реєструється. При цьому для підвищення портативності біосенсора-флюориметра, як фотоспектрометр може бути використано компактний фотоспектрометр на дифракційній ґратці.

Введення білого та зеленого світлодіодів дозволяє ще більше розширити спектр електромагнітних хвиль, що використовуються для збудження флюоресценції і, відповідно, розширити ряд досліджуваних речовин.

Виконання тримача зразків у вигляді порожнистого паралелепіпеда без верхньої грані, на двох бічних протилежних стінках якого містяться отвори для проходження випромінювання лазерів та світлодіодів на досліджуваний зразок, інша бічна стінка містить отвір для вхідної щілини фотоспектрометра, а нижня частина тримача зразків містить заглиблення для встановлення робочої кювети з прозорого матеріалу, дозволяє працювати як з рідинами в проточному та стаціонарному режимі, так і з твердотільними зразками, а також зі змінними сенсорними чипами.

Для можливості використання змінних сенсорних чипів, робоча кювета з прозорого матеріалу виконана таким чином, що довжина її діагоналі відповідає розміру меншої сторони сенсорного чипа. Розміщення сенсорного чипа по діагоналі робочої кювети дозволяє виключити потрапляння відбитого від масиву наноструктур лазерного променя до вхідної щілини фотоспектрометра.

Запропонований оптоелектронний біосенсор-флюориметр базується на використанні явища флюоресценції досліджуваних речовин.

Суть запропонованої корисної моделі пояснюється графічними матеріалами, де на фіг. 1 схематично представлено конструкцію оптоелектронного біосенсора-флюориметра, де 1 - блок світлодіодів (червоний, зелений, синій та білий); 2 - фотоспектрометр; 3 - тримач зразків; 4 - робоча кювета з прозорого матеріалу; 5 - сенсорний чип (встановлений в робочій кюветі 4); 6 - електронний блок керування джерелами опромінення (лазерами, світлодіодами); 7 - блок напівпровідникових лазерів (фіолетовий, зелений, червоний);

фіг. 2 показано конструкцію тримача зразків, де 8 - чотири отвори в боковій стінці для проходження випромінювання світлодіодів всередину тримача зразків; 9 - отвір для вхідної щілини фотоспектрометра; 10 - заглиблення в основі для встановлення робочої (спектроскопічної) кювети; 11 - отвір в боковій стінці для проходження випромінювання лазерів всередину тримача зразків;

фіг. 3 зображено робочу кювету з прозорого матеріалу 4 та встановлений в неї змінний сенсорний чип 5, який складається з прозорої плоскопаралельної пластини 12 та підкладки з розташованим на поверхні масивом наноструктур 13;

фіг. 4 показано а), б) - спектри флюоресценції водного розчину родаміну R6G, отримані при використанні як джерела збудження флюоресценції зеленого лазера з $\lambda = 532$ нм та в) - ділянки спектра джерела (лазера);

фіг. 5 приведено спектр флюоресценції хлорофілу листка рослини, отриманий при використанні як джерела збудження флюоресценції синього світлодіода з $\lambda = 470$ нм.

Сенсорний чип 5 (фіг. 3) може бути виконаний у вигляді прозорої плоскопаралельної пластини 12 з нанесеним на неї чутливим структурованим шаром золота або срібла 13, що являє собою неупорядкований або впорядкований рівномірно-орієнтований однорідний двовимірний масив наноструктур. При цьому як прозора плоскопаралельна пластина 12 може бути використане стандартне мікроскопне скло ($25,4 \times 76,2$ мм²), на яке, в нижній частині чипа, за допомогою прозорого у видимій ділянці спектра клею, фіксується підкладка з розташованим на поверхні масивом наноструктур 13 [3]. При використанні такого чипа, сенсорний механізм біосенсора-флюориметра базується на збудженні локалізованих поверхневих плазмових коливань в чутливому структурованому шарі золота або срібла. Використання змінного сенсорного чипа дозволяє досліджувати структуру молекул, біомолекулярні взаємодії між молекулами та змінювати рівень сигналу флюоресценції досліджуваного зразка.

Пропонований оптоелектронний біосенсор-флюориметр складається із оптичної частини, до складу якої входять блок світлодіодів 1 (зелений, синій, червоний, білий), блок напівпровідникових лазерів 7 (фіолетовий, зелений та червоний), фотоспектрометр 2, тримач зразків 3, робоча кювета з прозорого матеріалу 4, сенсорний чип 5 та електронний блок 6 для вибору джерела збудження флюоресценції.

Оптоелектронний біосенсор-флюориметр, що заявляється (фіг.1), працює в режимі реєстрації спектрів флюоресценції наступним чином:

- твердотільний зразок або робоча кювета 4 з досліджуваною рідиною (чи робоча кювета 4 з досліджуваною рідиною та встановленим в неї змінним сенсорним чипом 5) розміщується в тримачі зразків 3; за допомогою елементів керування програми для управління біосенсором, налаштовуються необхідні параметри роботи фотоспектрометра 2 та проводиться калібровка фотоспектрометра записом та обробкою темного сигналу;

- за допомогою електронного блока управління 6 по чергово вмикається червоний, зелений, синій та білий світлодіод 1, фіолетовий, зелений та червоний лазер 7. При співпаданні або близькості довжини хвилі випромінювання вибраного джерела та довжини хвилі поглинання досліджуваної речовини, виникає флюоресценція досліджуваної речовини, яка реєструється фотоспектрометром 2 та представляється у вигляді графіка залежності інтенсивності від довжини хвилі на моніторі комп'ютера. За наявності спектра флюоресценції у визначеному діапазоні довжин хвиль можна зробити висновок про наявність досліджуваної речовини, а за рівнем сигналу флюоресценції - оцінювати її концентрацію. Вибір конкретного світлодіода або конкретного лазера, як джерела збудження флюоресценції, залежить від спектра поглинання та флюоресценції досліджуваного зразка.

Приклад. Використовувався пропонований оптоелектронний біосенсор-флюориметр. Як досліджувану речовину було використано водний розчин родаміну R6G з малими концентраціями 10^{-8} та $10^{-7,5}$ моль/л. Флюоресценція досліджуваних речовин відбулася при опроміненні зеленим лазером з $\lambda=532$ нм. Результати експерименту зображені на фіг. 4, де показано залежність інтенсивності сигналу флюоресценції від довжини хвилі для двох вищевказаних концентрацій. Спостерігався пік флюоресценції R6G на довжині хвилі $\lambda \approx 555$ нм, який зростає зі збільшенням концентрації. З врахуванням того, що концентрація R6G 10^{-8} моль/л є незначною (близькою до межі визначення флюоресцентним методом), можна зробити висновок про високу чутливість запропонованого біосенсора-флюориметра.

Для отримання спектра флюоресценції твердотільних речовин за допомогою запропонованого оптоелектронного біосенсора-флюориметра, було використано листок рослини. Джерелом для збудження флюоресценції виявився синій світлодіод з $\lambda = 470$ нм. Результати експерименту представлені на фіг. 5, де показано залежність інтенсивності сигналу флюоресценції хлорофілу рослини від довжини хвилі. Спостерігалось два характерні для хлорофілу піки на довжинах хвиль $\lambda_1 = 687$ нм та $\lambda_2 = 734$ нм.

Проведені експерименти підтверджують можливості запропонованого оптоелектронного біосенсора-флюориметра для більш високочутливого детектування різних речовин як в рідинному середовищі, так і дослідження твердотільних об'єктів шляхом реєстрації спектрів флюоресценції.

Запропонований біосенсор-флюориметр може бути реалізований у виробничих умовах, так як для його реалізації використовується технічна база широкого призначення. Зокрема, у реалізованому пристрої використано світлодіоди фірми G-pog з довжинами хвиль $\lambda = 470$ нм, $\lambda=500$ нм та $\lambda=625$ нм; лазери з довжинами хвиль $\lambda=405$ нм, $\lambda=532$ нм, $\lambda=650$ нм, фотоспектрометр NanoPlasmon-2048-2-VIS.

Джерела інформації:

1. Патент 13481 Україна, Оптоелектронний сенсор, G01N21/64, 17.04.2006.

2. Патент 54901 Україна, Сенсор, G01N21/64, A01G7/00, 25.11.2010.

3. Патент 65947 Україна, Біосенсор на основі локалізованого поверхневого плазмового резонансу, G01N21/00, G01N21/25, G01N33/53, G01N33/543, G01N33/553, G03F7/00, 26.12.2011.

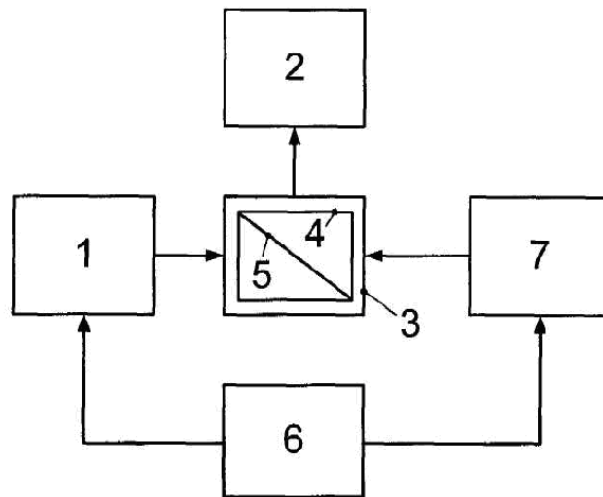
ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Оптоелектронний біосенсор-флюориметр, який містить червоний та синій світлодіоди, фотоприймач та тримач для досліджуваного зразка, який **відрізняється** тим, що він додатково містить червоний, зелений та фіолетовий лазери та тримач для них, на якому вони закріплені з можливістю регулювання кута падіння лазерного випромінювання на досліджуваний зразок, а як фотоприймач використано фотоспектрометр, при цьому лазери та світлодіоди розташовані по різні сторони від тримача зразка таким чином, що їх випромінювання лежить в одній площині, а фотоспектрометр розташований навпроти тримача зразка під кутом 90° до цієї площини.

2. Оптоелектронний біосенсор-флюориметр за п. 1, який **відрізняється** тим, що він додатково містить білий та зелений світлодіоди.

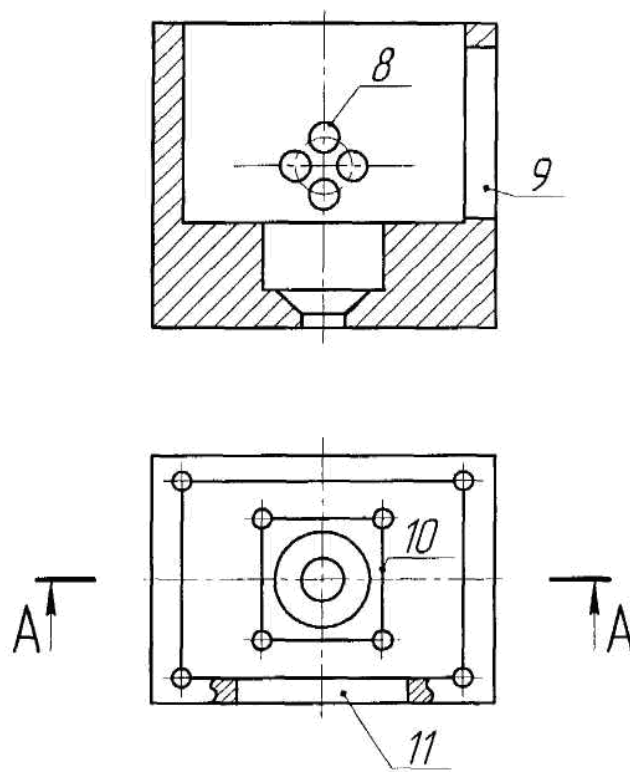
3. Оптоелектронний біосенсор-флюориметр за п. 1, який **відрізняється** тим, що тримач зразків виконаний у вигляді порожнистого паралелепіпеда без верхньої грані на двох бічних протилежних стінках якого містяться отвори для проходження випромінювання лазерів та світлодіодів на досліджуваний зразок, інша бічна стінка містить отвір для вхідної щілини фотоспектрометра, а нижня частина тримача зразків містить заглиблення для встановлення робочої кювети з прозорого матеріалу.

4. Оптоелектронний біосенсор-флюориметр за п. 3, який **відрізняється** тим, що робоча кювета з прозорого матеріалу виконана таким чином, що довжина її діагоналі забезпечує можливість встановлення змінного сенсорного чипа.

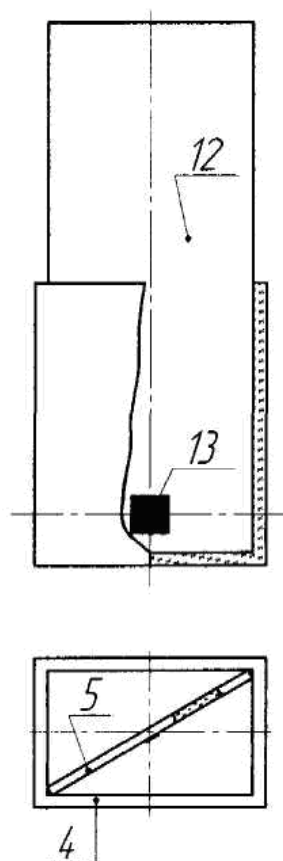


Фиг. 1

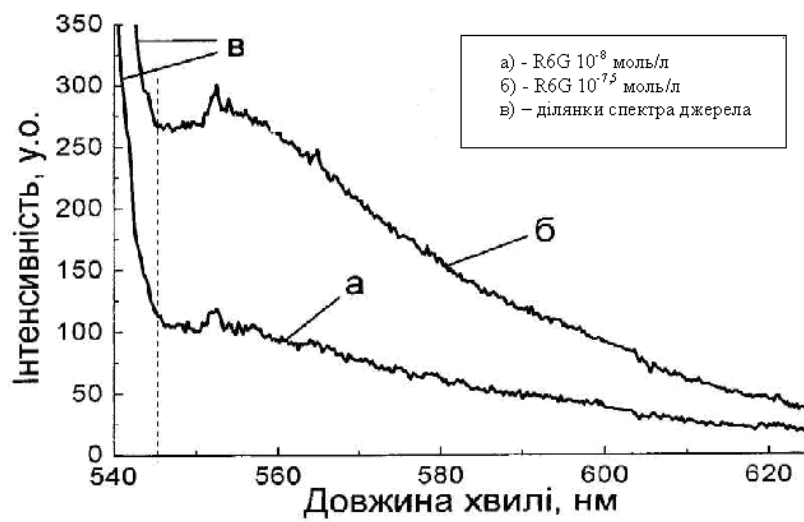
A-A



Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4

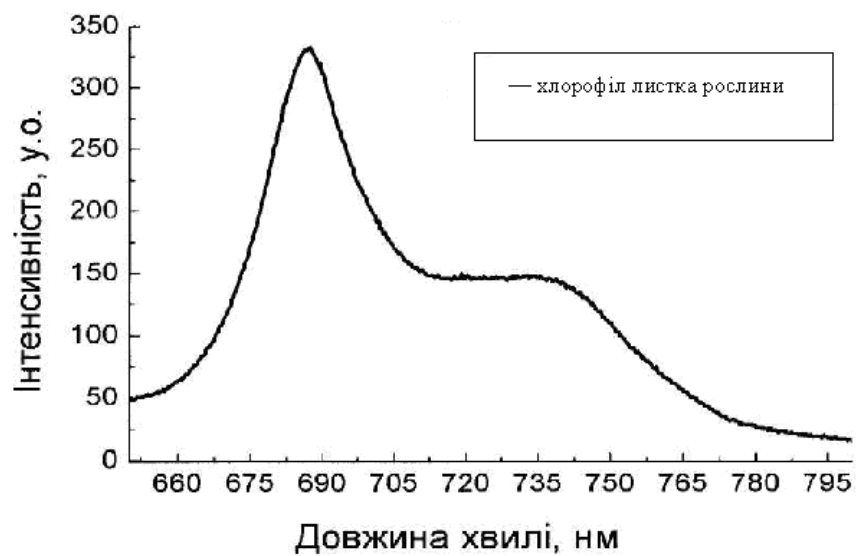


Fig. 5

Комп'ютерна верстка В. Мацело

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601