

Optikai bioérzékelőkkel a személyre szabott diagnosztika felé

Bonyár Attila, PhD

bonyar@ett.bme.hu

Budapest, 2017.11.07.



EMBERKÖZPONTÚ TUDOMÁNY
A MAGYAR TUDOMÁNY ÜNNEPÉNEK 2017-ES MOTTÓJA

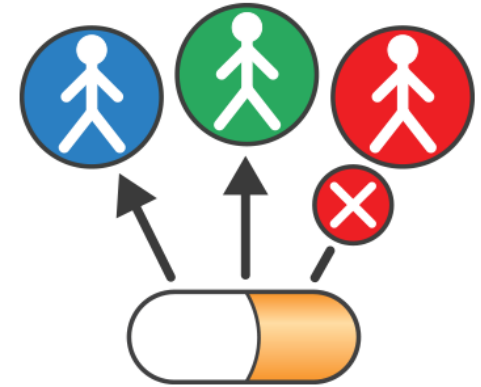
Áttekintés

1. Személyre szabott diagnosztika és terápia
2. Point of Care tesztelés
3. Felületi plazmon rezonancia (SPR)
4. Lokalizált felületi plazmon rezonancia (LSPR)
5. LSPR érzékelő elem fejlesztése
 - Az LSPR érzékenység szimulációs vizsgálata
 - Előállítási technológiák optimalizálás
 - Alkalmazási példa
6. Összefoglalás

Személyre szabott diagnosztika

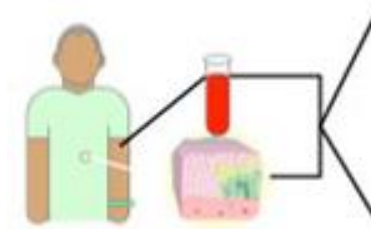
Hagyományos diagnosztika és terápia:

- Tünetek megfigyelése és összevetése betegségekkel
- Általános, gyógyszeres kezelés
- Nem egyénre szabott
- Nagy a hibalehetőség



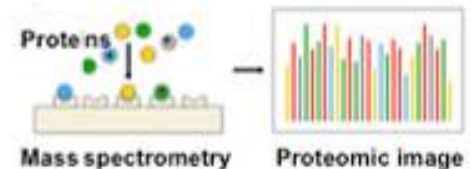
Személyre szabott diagnosztika és terápia:

- Genomika és proteomika szerepe nő
- Biomarkerek szerepe nő
- Molekuláris diagnosztika
- Korai diagnózis
- Gyógyulás monitorozása
- Egyénre szabott gyógyszerek

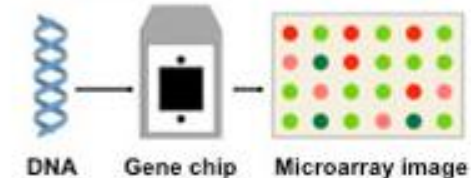


A paciens vér vagy
szövet mintája

Proteomika

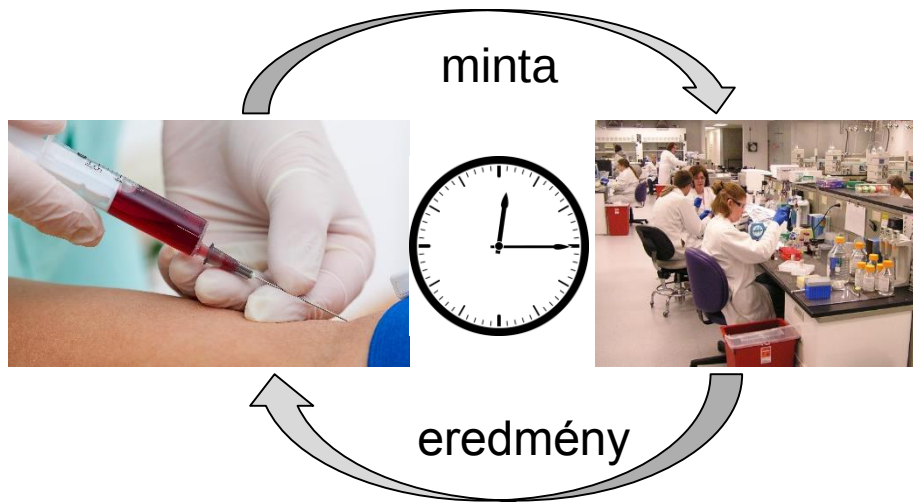


Genomika

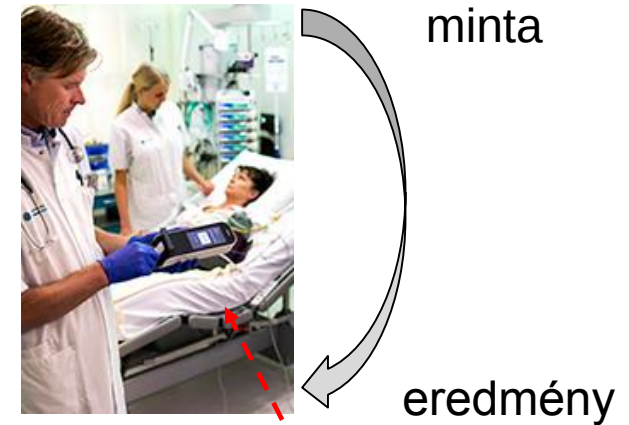


Point of Care (Need) tesztelés

Hagyományos laboratóriumi diagnosztika



PoC (bedside) diagnosztika



Philips Minicare I-20



A Point of Care diagnosztika előnyei:

- Gyors eredmények -> döntés az aktuális állapot alapján.
- Egyszerű használat
- Folyamatos rendelkezésre állás
- Visszacsatolás minden fázisban (a diagnosztikától a gyógyulásig)
- Alacsonyabb diagnosztikai költségek (?)

A PoC bioérzékelőkkel szemben támasztott követelményei

PoC bioérzékelők a piacon:

- **Jó szenzorparaméterek:**
 - Érzékenység
 - Detektálási küszöb
 - Szelektivitás (!)
- **Multi-bioérzékelők:**
 - Nagyszámú párhuzamos mérés lehetősége (!)
- **Gyors eredmény (válaszidő)**
- **Alacsony ár (!)**
- **Egyszerű kezelhetőség**
 - Automatikus mérés



77 Elektronika Kft.

PHILIPS
Healthcare



Abbott
Point of Care

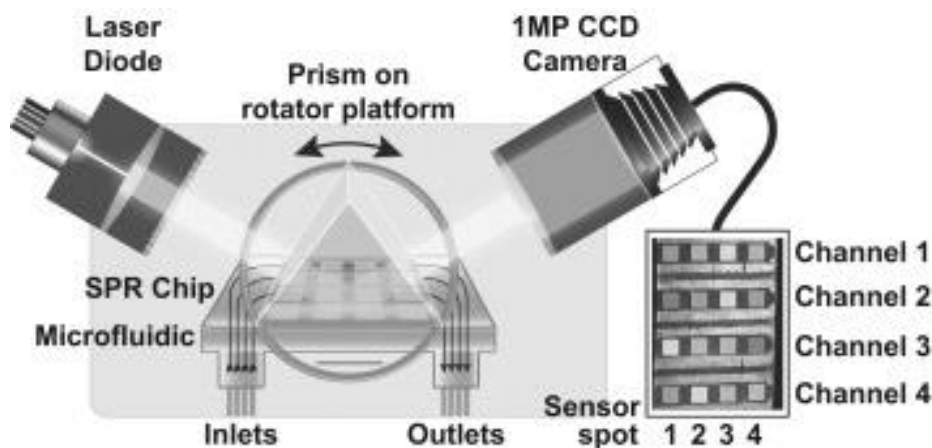


Rapid Biosensor Systems
Rapid Screening for Infectious Diseases

A felületi plazmon rezonancia (SPR)

Kiemelkedő érzékenysége mellett az SPR legnagyobb előnye a képalkotásra (imaging) való lehetőség, amivel akár 100 mérési területen is képesek vagyunk párhuzamos méréseket végezni.

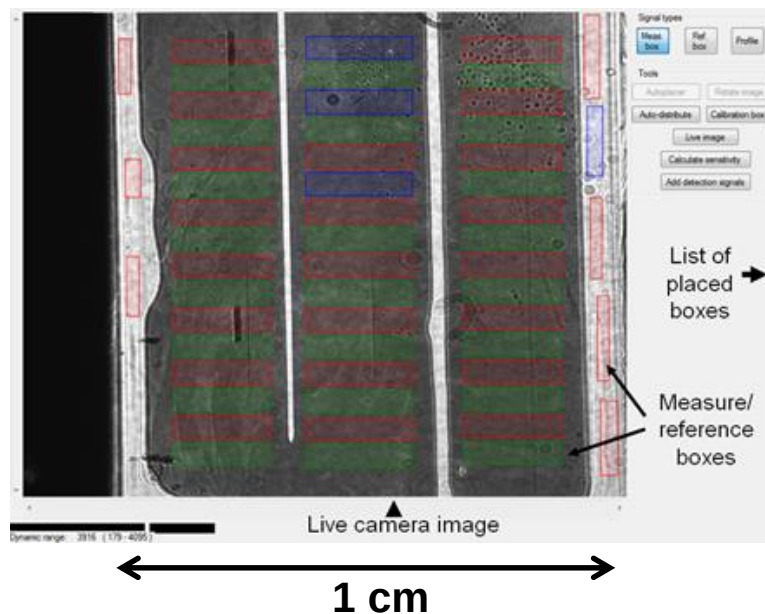
Az SPRi (imaging) elv illusztrációja



További előnyök:

- jelölésmentes detektálás,
- valós idejű kinetikai információ,
- nagy érzékenység: 10^{-6} - 10^{-7} RIU*

A szoftver kamera képe

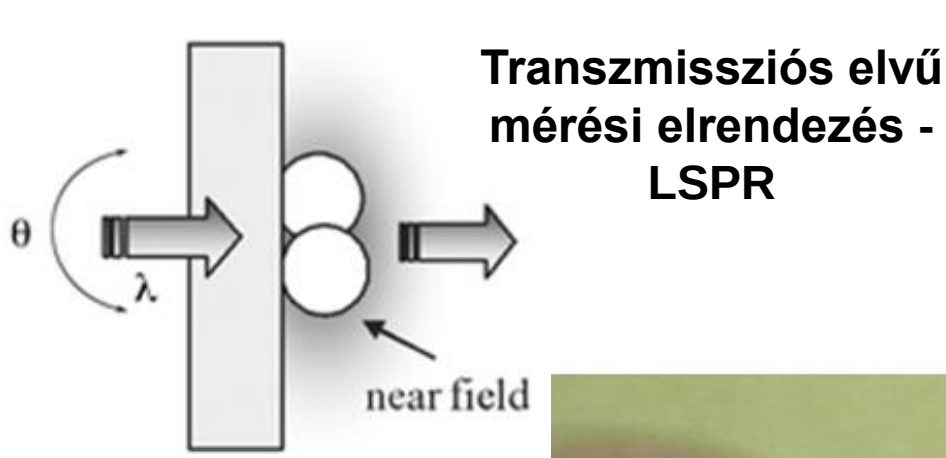


Saját fejlesztésű SPRi és 4x4-es DNS multi-bioérzékelő:

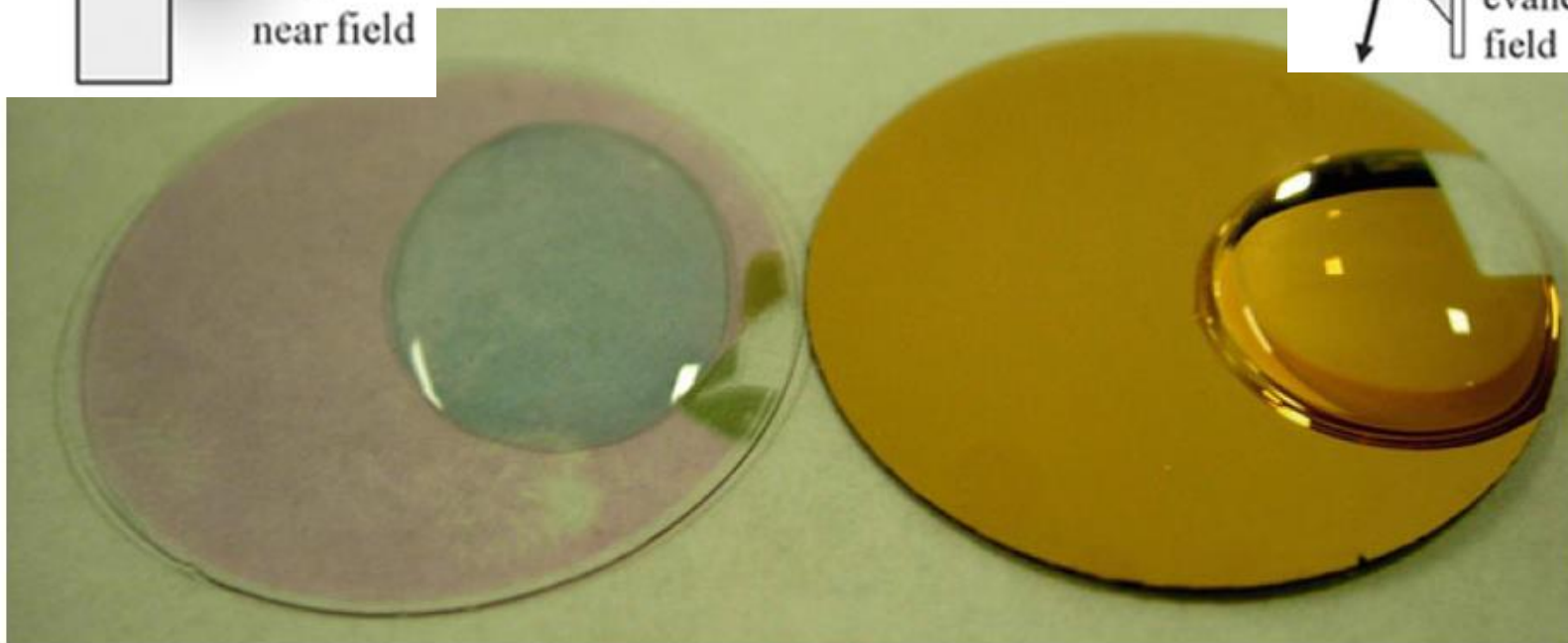
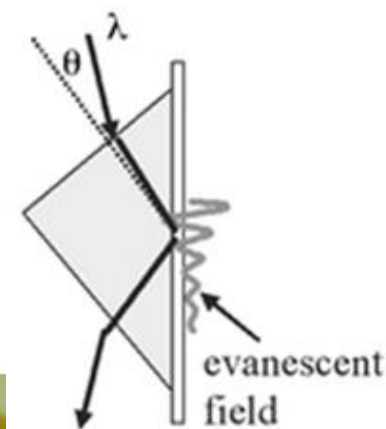
F.M. Spiga, A. Bonyár, et.al **BIOSENSORS & BIOELECTRONICS** 54: pp. 102-108. (2014)

Lokalizált felületi plazmon rezonancia

Előny: egyszerűbb gerjeszthetőség – egyszerűbb mérési elrendezés

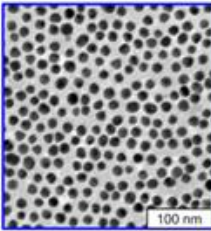
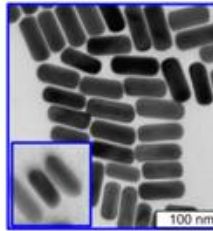
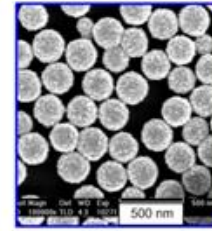
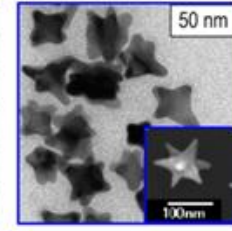
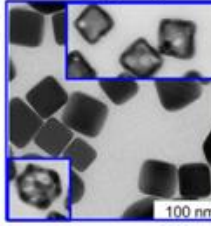
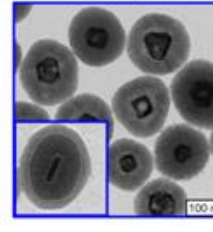
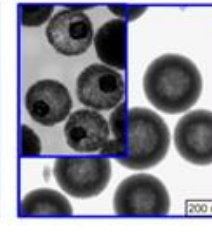
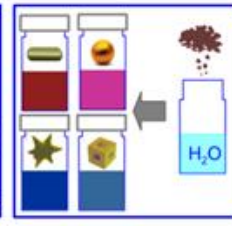


Reflexiós elvű
Kretschmann
konfiguráció - SPR



Lokalizált felületi plazmon rezonancia

Comparisons of sensitivity of several probes, based on literature data.

Nanostructure	Sensitivity	Au spheres	Au and Au/Ag rods	SiO ₂ /Au shells	Au stars
Gold colloidal nanoparticles	071 nm/RIU				
Gold nano rods	650 nm/RIU				
Hollow gold nano shell	408 nm/RIU				
Arrays of gold nanodisk	167 nm/RIU				
	327 nm/RIU				
Gold nanodisk trimers	170 nm/RIU				
	374 nm/RIU				
Gold nanorings	880 nm/RIU				
Gold nanoring trimers	345 nm/RIU				
Nanocubes	165 nm/RIU				
Nanocrescents	879 nm/RIU				
Nanostars	218 nm/RIU				
Nanocross	710 nm/RIU				
Nanobar	1000 nm/RIU				
Double nanopillars with nanogap	642 nm/RIU				
	1056 nm/RIU				
Nanopillar arrays	675 nm/RIU				
Data from the authors					
Gold nanospheres	154–914 nm/RIU				
Gold nanorods	601 nm/RIU				
Gold/silver nanoalloys	131–625 nm/RIU				
Gold nanocages	783–1933 nm/RIU				
		Au-Ag cages	Nanocomposites	Nanocontainers	Nanopowders
					

Mérlegelendő szempontok az alkalmazni kívánt nanorészecske és előállítási technológia kiválasztásánál:

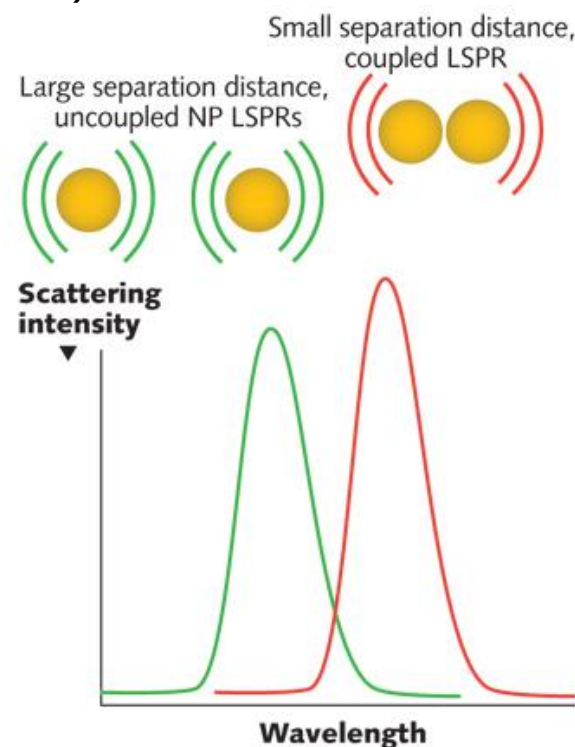
- érzékenység és det. küszöb,
- a kész termék (chip) költsége,
- reprodukálhatóság és stabilitás.

Lokalizált felületi plazmon rezonancia

Az elvárások az LSPR szenzorelem előállítási technológiájával szemben:

- Kontrollált részecske alak,
- Kontrollált részecske méret,
- Kontrollált elrendezés (távolság a részecskék között),
- Jól tapadjanak a részecskék a hordozóhoz,
- Nagy felületen legyen homogén elrendezés ($\sim\text{cm}^2$),
- Minél olcsóbb legyen.

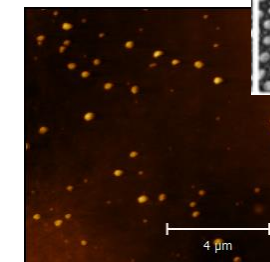
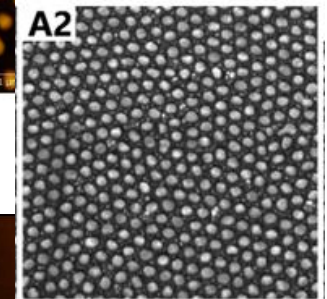
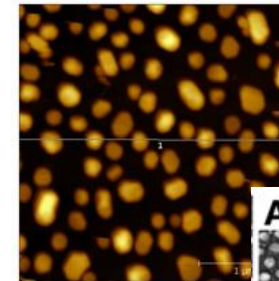
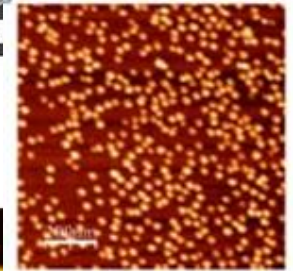
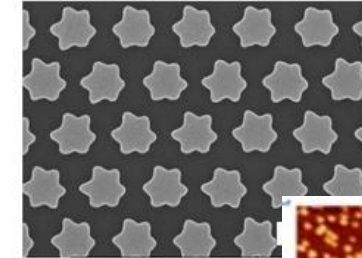
Az érzékenységet befolyásoló paraméterek közül kiemelten fontos a **részecskék távolsága** a **csatolt plazmonrezgések** kialakulása szempontjából.



Lokalizált felületi plazmon rezonancia

Előállítási technológiák összehasonlítása

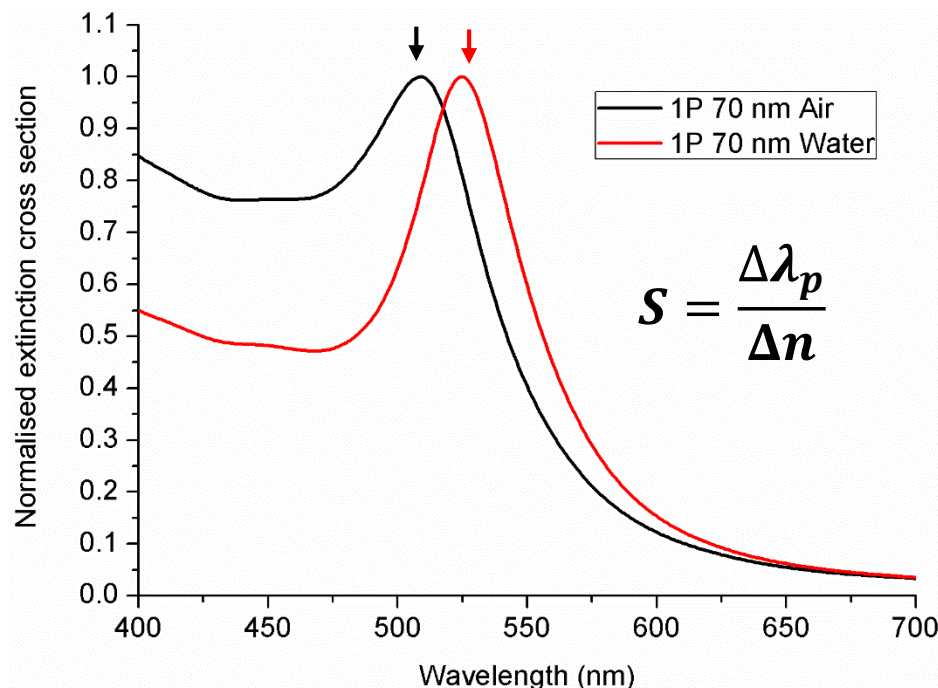
	Alak, méret kontroll	Elhelyezés kontroll	Tapadás	Felület mérete
E-beam litográfia	✓	✓	✓	✗
Kolloid szintézis + hordozóra kötés	✓	✗ Limitált, aggregál	✓	✓
Hőkelezés üveg vagy Si hordozón	✗	✓ Közepes	✗	✓
Hőkelezés nano- templaten	✓	✓	✓	✓
Direkt szintézis PDMS-en	✓	✗ Limitált	✓	✓



LSPR érzékenységének szimulációs vizsgálata

A tömbi törésmutató érzékenység (S , [nm/RIU]) az elnyelési csúcs eltolódása a törésmutató változás függvényében.

Illusztráció: 70 nm-es Au nanogömb elnyelési csúcsai **levegőben** ($n = 1$) és **vízben** ($n = 1.33$). (Szimuláció)



Példa:

Csúcs_levegő = 509 nm

Csúcs_víz = 524.8 nm

Eltolódás ($\Delta\lambda_p$) = 15.8 nm

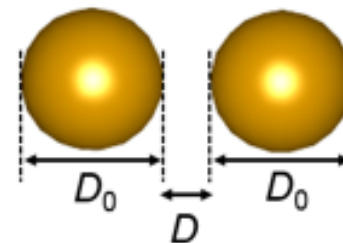
Érzékenység (S) = 47.4 nm/RIU

Az érzékenység (S) függ:

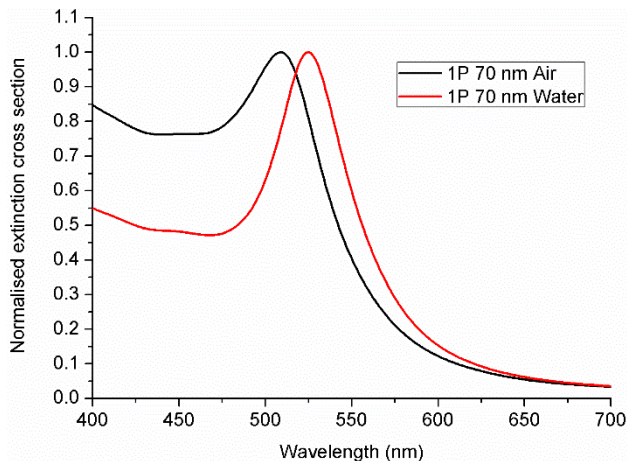
- Részecske méret,
 - Részecske alak,
 - Részecskék távolsága
- ~(csatolt plazmon rezonancia).

LSPR érzékenységének szimulációs vizsgálata

Többrészecskés elrendezésekre az **erősítési tényezőt (EF)** úgy definiáljuk, mint a többrészecskés elrendezés válaszának (elnyelési csúcs eltolódásának) és az egyrészecskés modell válaszának hányadosát.

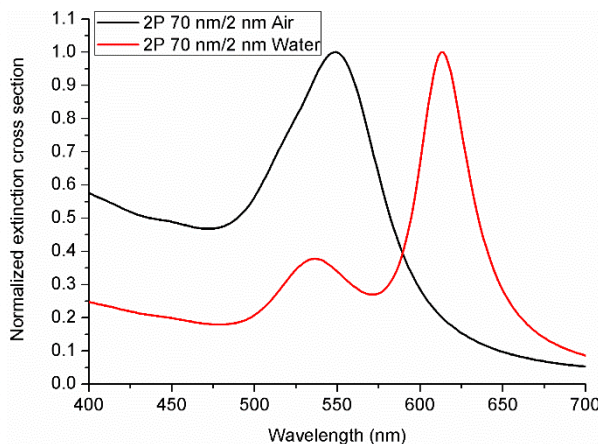


Egyrészecske, $D_0 = 70$ nm



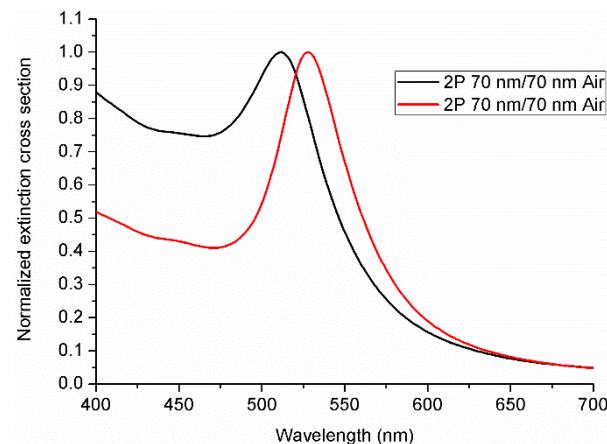
Eltolódás = 15.8 nm
Érzékenység = 47.4 nm/RIU

Dimer, $D_0 = 70$ nm
Távolság: $D = 2$ nm



Eltolódás = 64 nm
Érzékenység = 192 nm/RIU
Erősítés = 4.05

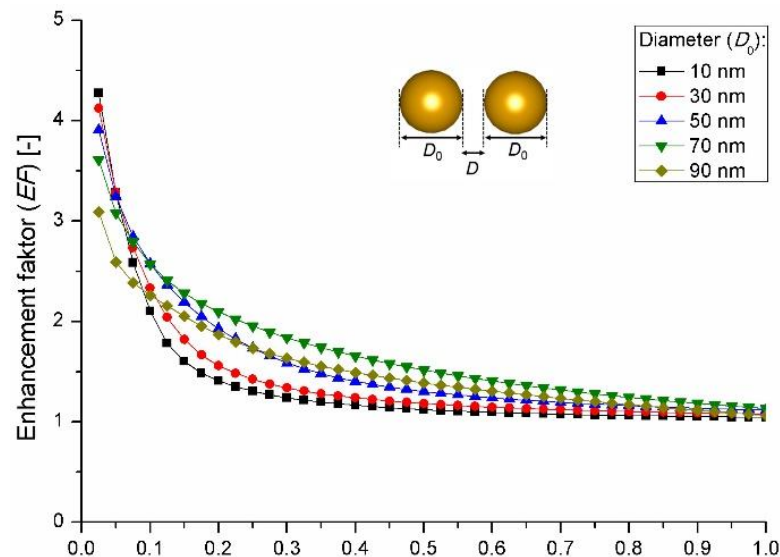
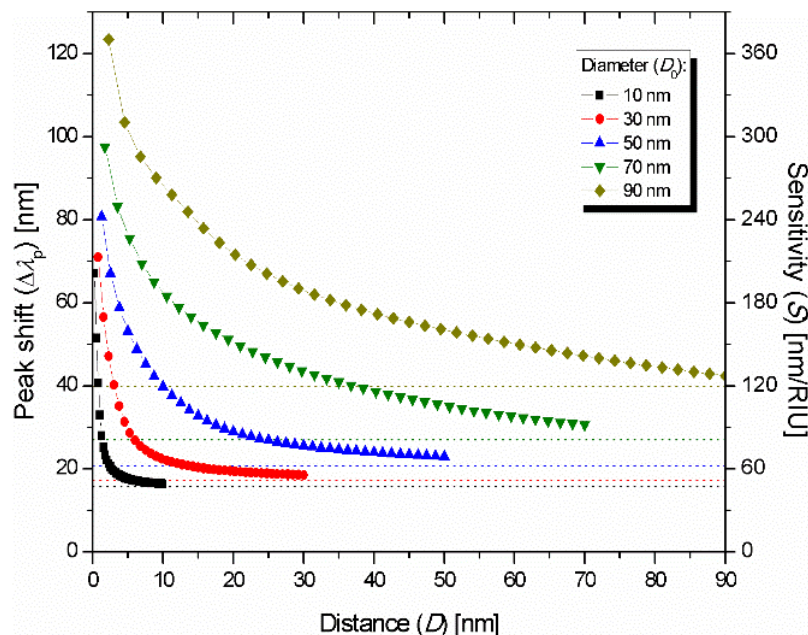
Dimer, $D_0 = 70$ nm
Távolság: $D = 70$ nm



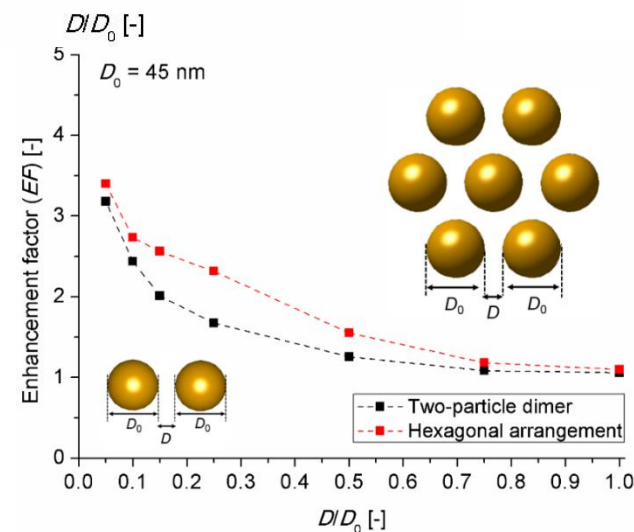
Eltolódás = 16.4 nm
Érzékenység = 49.2 nm/RIU
Erősítés = 1.04

LSPR érzékenységeinek szimulációs vizsgálata

Arany nanogömb dimerek érzékenységeinek és EF-nek a függése az elrendezéstől:



Az érzékenység javításához $D/D_0 \ll 0.5$ -nek kell teljesülnie, ha hasznát akarunk a csatolt plazmonrezgésekből.

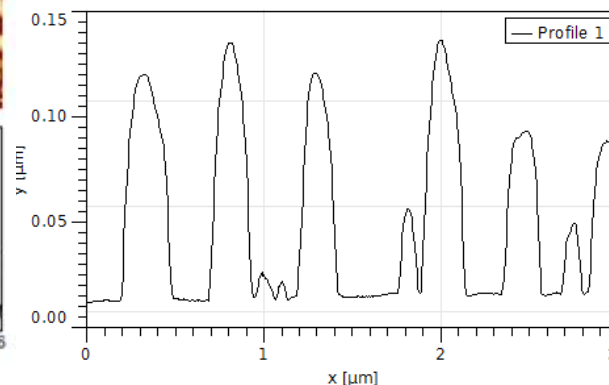
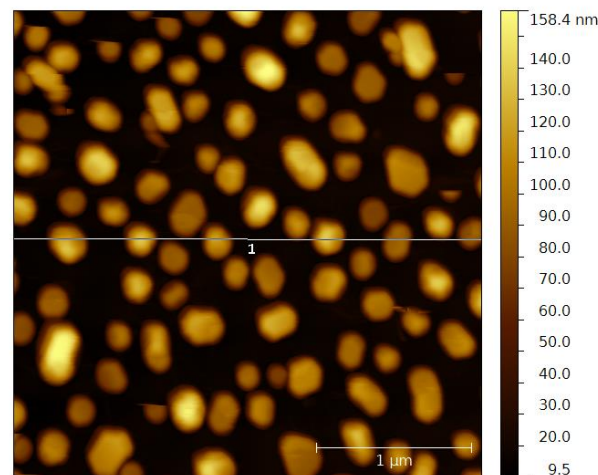
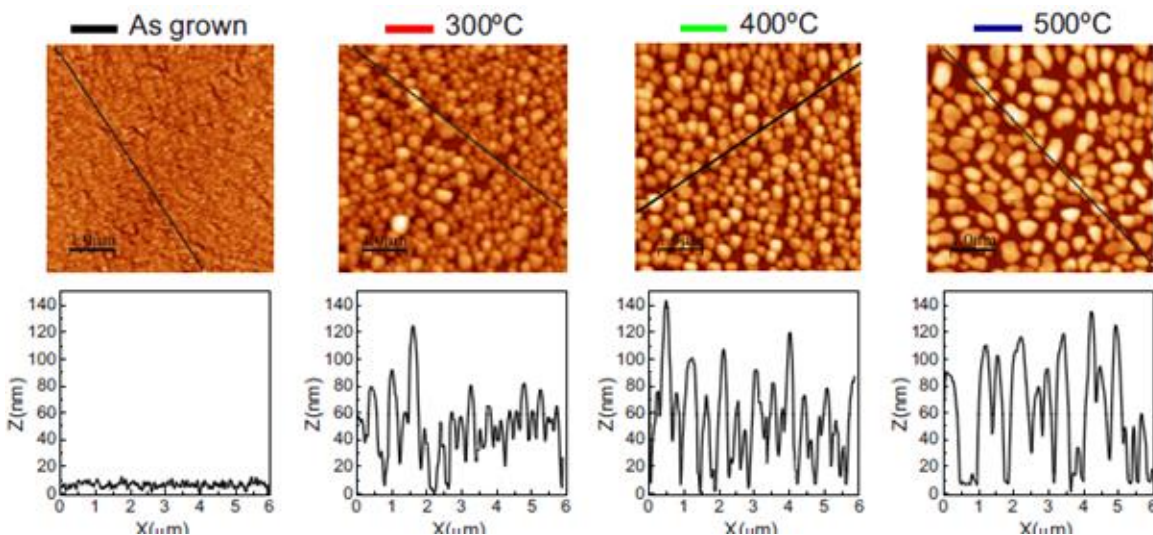


LSPR érzékelő elem fejlesztése

Arany nanorészecskék előállítása hőkezeléssel

Kiindulás: üveghordozóra porlasztott/párolgatatott vékony (5-25 nm) aranyréteg.
A hőkezelés (annealing) során sok paraméter befolyásolja a kialakuló réteg vastagságát:

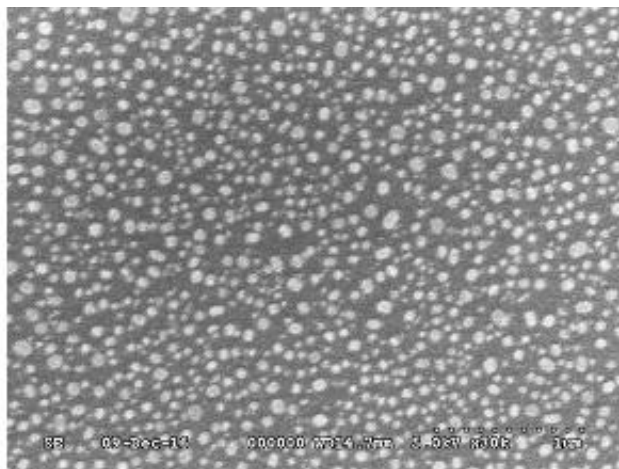
- kiindulás rétegvastagság,
- diffúzió sebessége a felületen,
- hőmérséklet,
- hőkezelés ideje,
- hűtési meredekség stb.



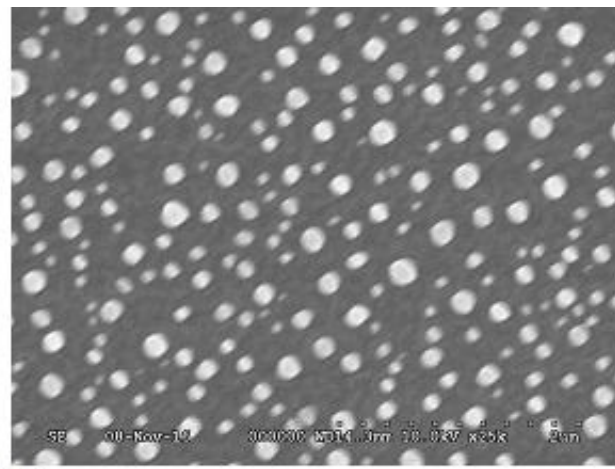
LSPR érzékelő elem fejlesztése

Arany nanorészecskék előállítása hőkezeléssel, üveghordozón

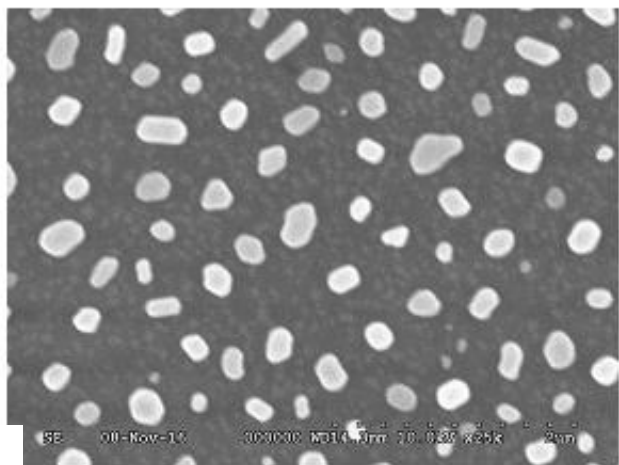
- A technológia paraméterek hangolásával különböző nanosziget eloszlások előállítása.
- Részecske méret és eloszlás mérése SEM képek alapján.
- LSPR érzékenység meghatározása spektroszkópiával.



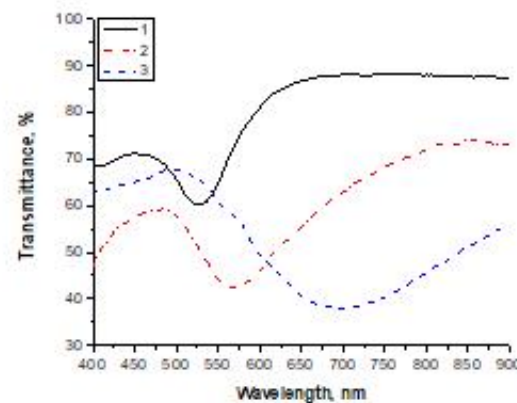
(a)



(b)



(c)

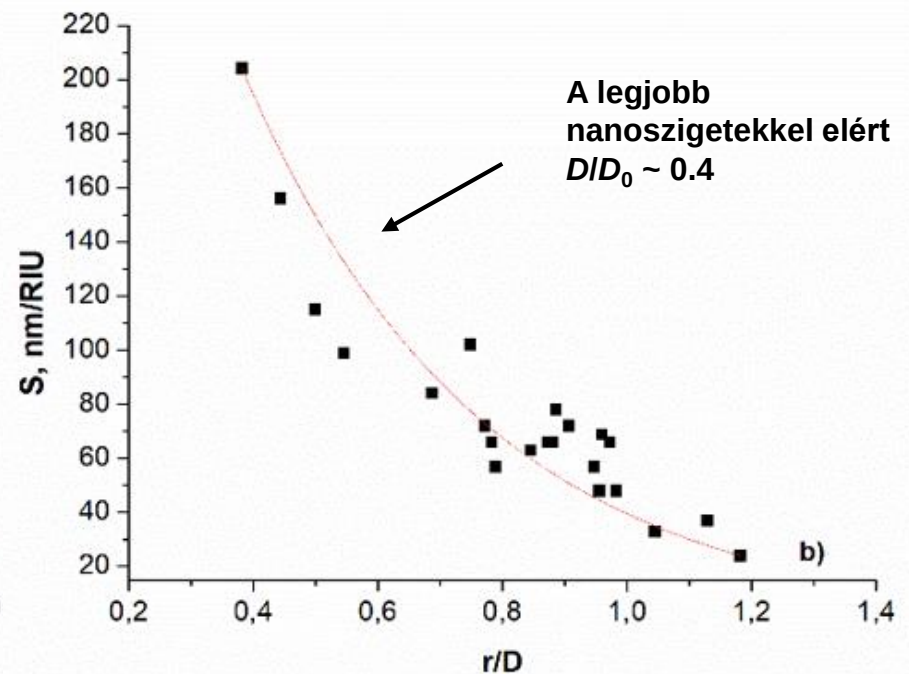
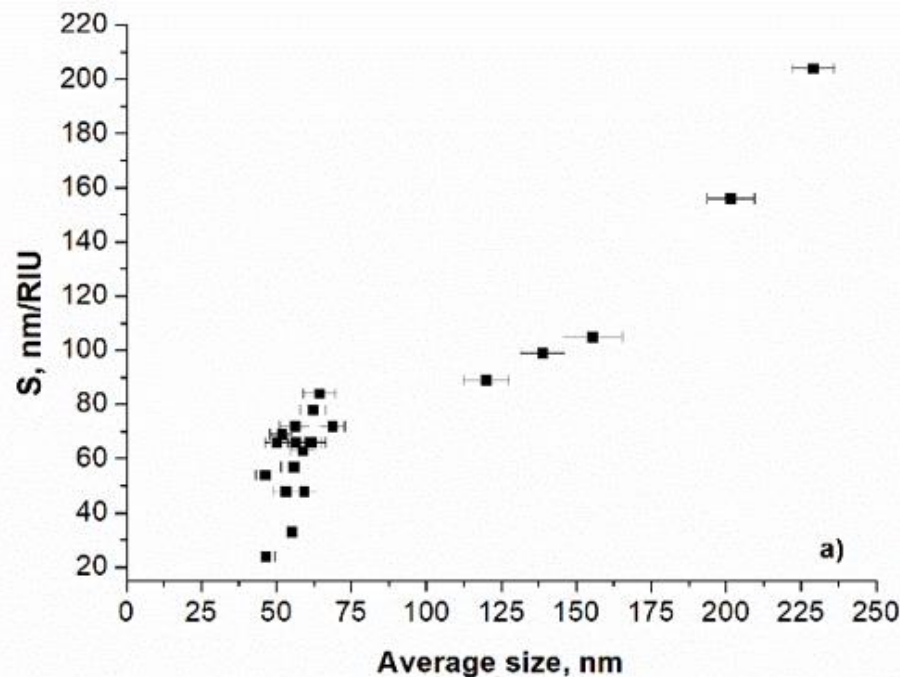


(d)

LSPR érzékelő elem fejlesztése

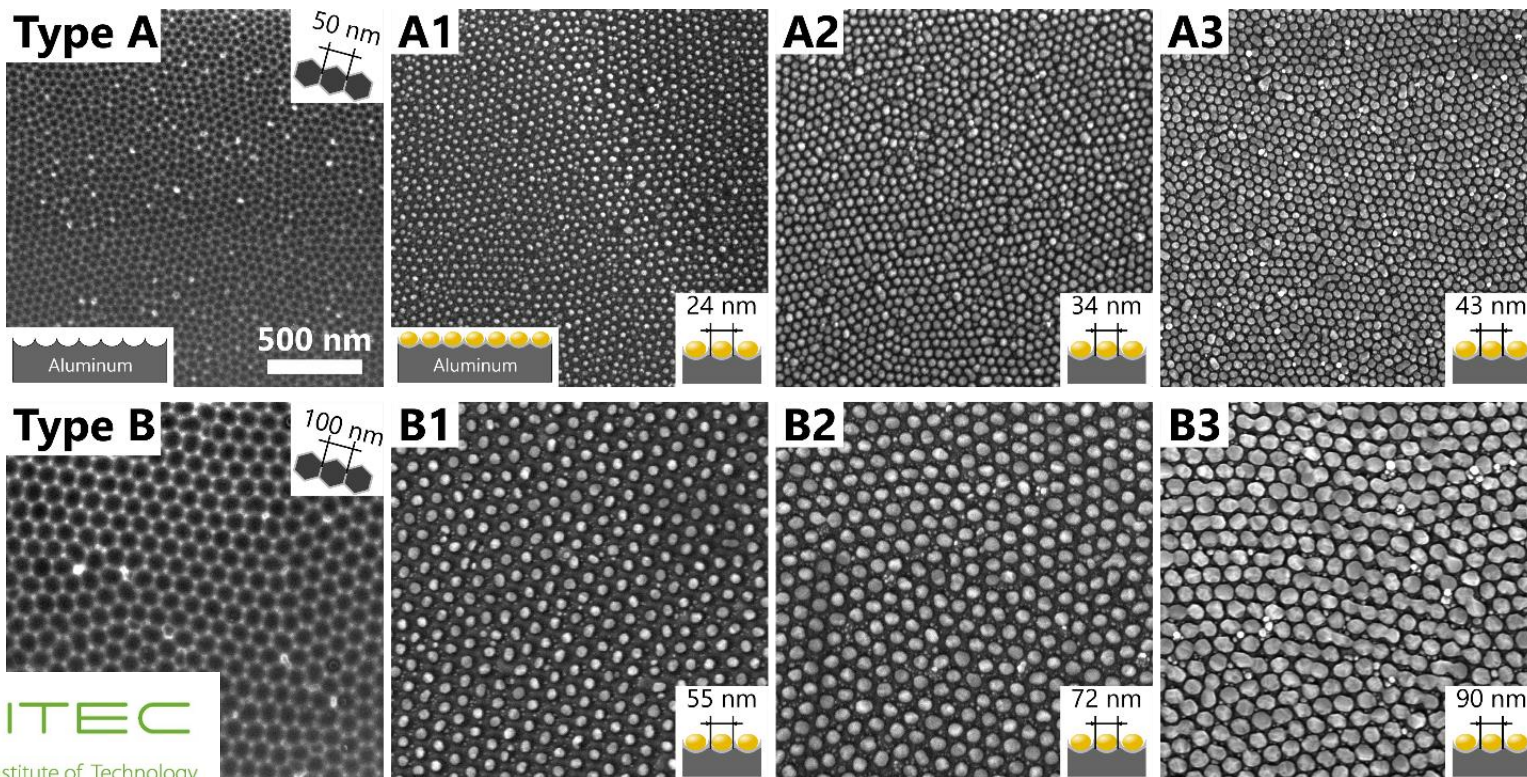
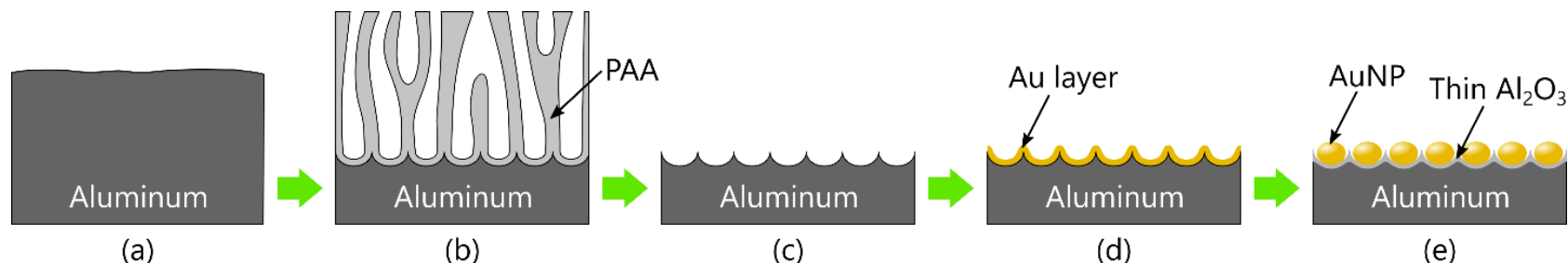
Az eredmények (egy része):

- Az előállított nanosziget elrendezések geometriai paramétereinek függése a technológiai paraméterektől feltérképezve.
- Az érzékenység függése D/D_0 -tól feltérképezve.
- (A szimulációs eredmények részlegesen validálva).



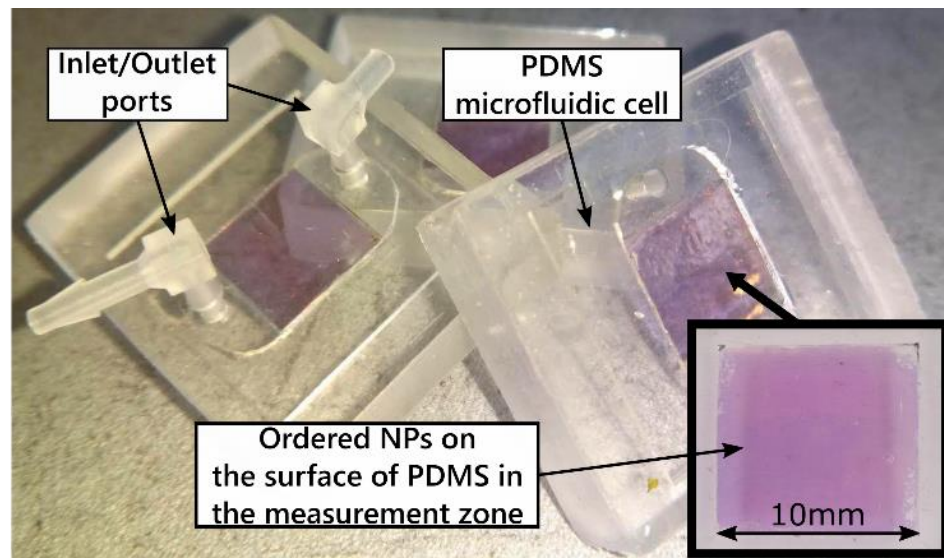
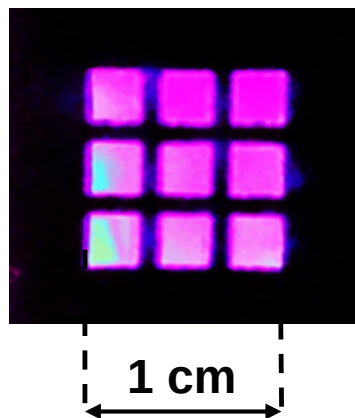
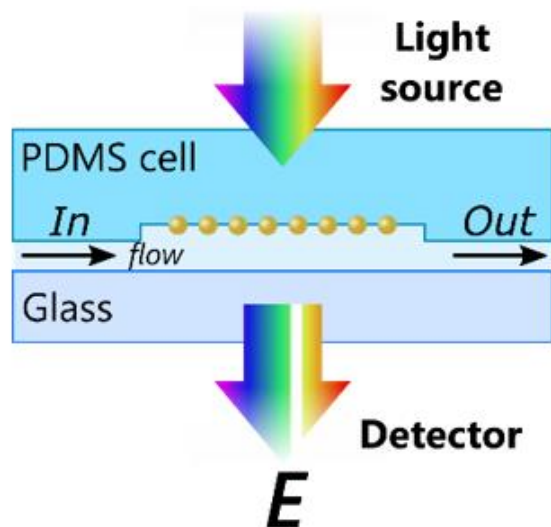
LSPR érzékelő elem fejlesztése

Nanogödrös Al template -> nagyfokú kontroll minden paraméter fölött



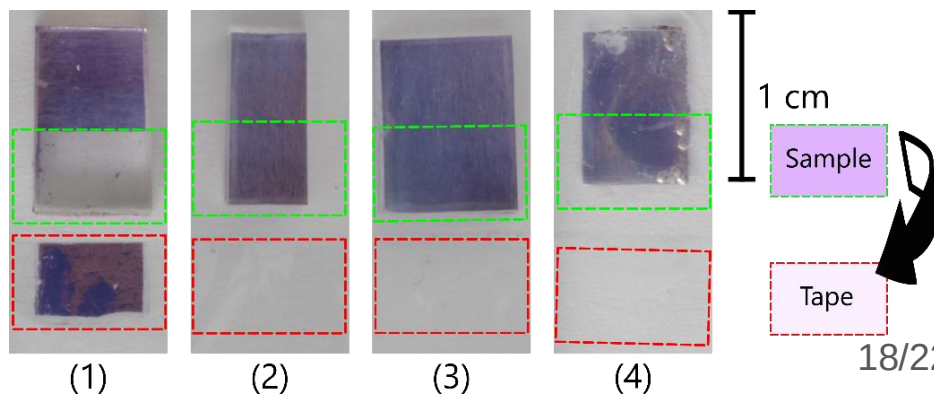
LSPR érzékelő elem fejlesztése

Direkt integrálhatóság PDMS alapú mikrofluidikai rendszerbe

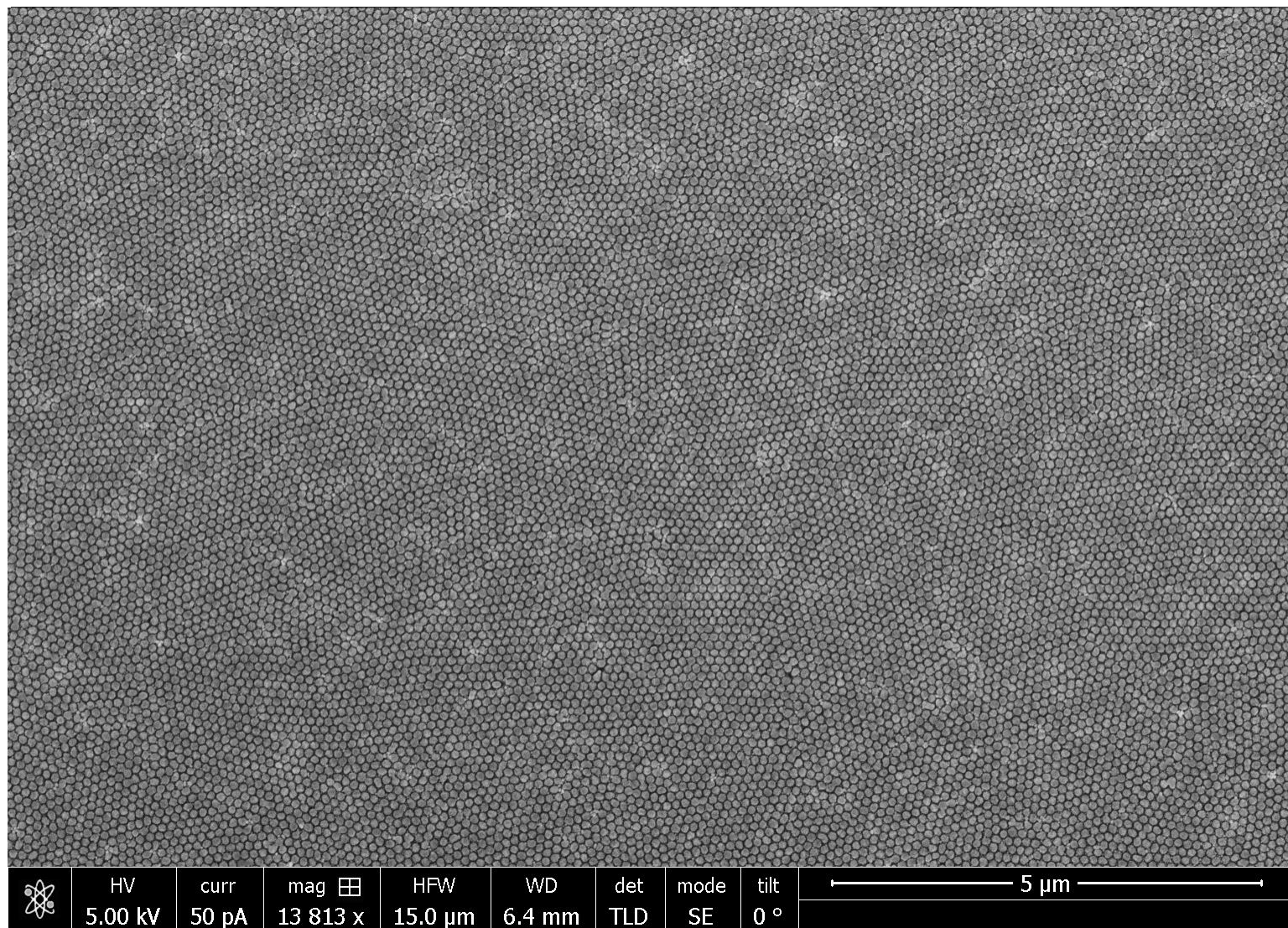


(b)

Transzfer molekuláris ragasztóval

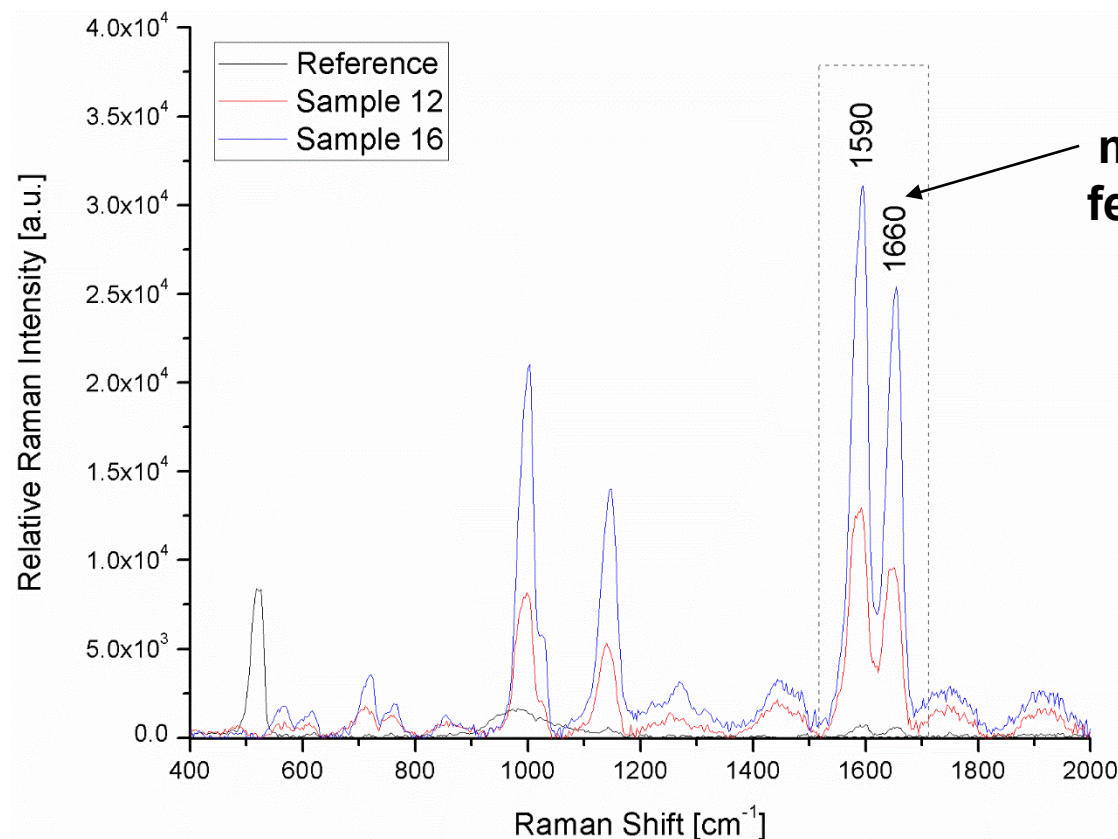


LSPR érzékelő elem fejlesztése



PDMS-Au NP kompozit alkalmazási példa

Felület erősített Raman-spektroszkópia (SERS)



**Az erősítés
meghatározásához
felhasznált csúcsok**

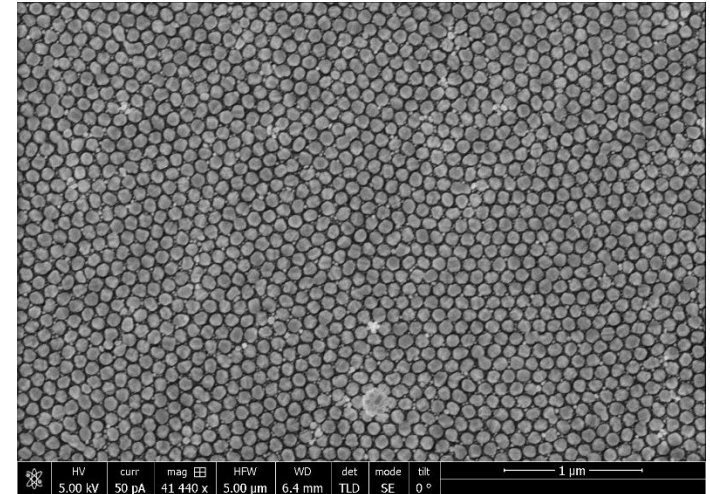
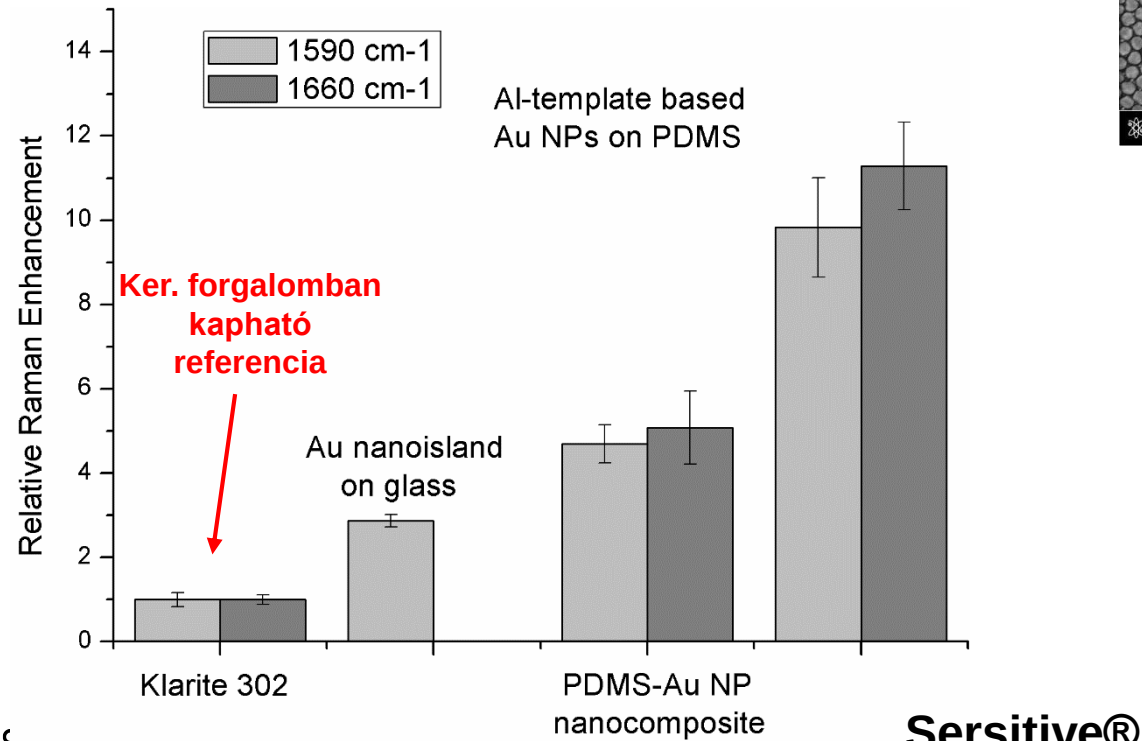
- Renishaw 1000 micro-Raman
- 488 nm line of a DPSS laser
- 1 μm focus spot
- **benzophenon-isopropyl alcohol test**



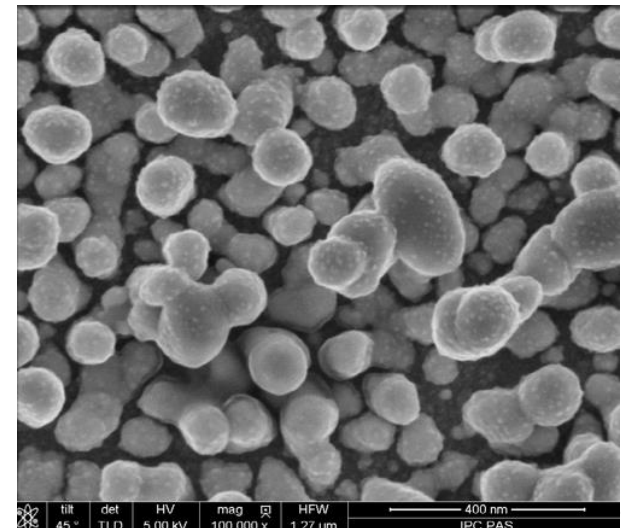
PDMS-Au NP kompozit alkalmazási példa

SERS eredmények

Jelenleg, a saját minták összevetése kereskedelmi foralomban kapható SERS szubsztrátokkal.



Vs.



Összefoglalás

"Take home messages":

- A személyre szabott diagnosztika és terápia meg fogja reformálni a 21. század orvoslását.
- A Point of Care diagnosztikai berendezések használatával jelentősen lerövidíthető a vizsgálatok ideje, gyors visszacsatolást kaphatunk a terápia minden szakaszában.
- A Point of Care eszközök új kihívások elé állítják a bioérzékelőket. Az egyik legfontosabb követelmény a nagyszámú (párszor 10) párhuzamos mérés lehetősége.
- LSPR alapú optikai bioérzékelőkkel kielégíthetjük ezeket az elvárásokat.

Köszönetnyilvánítás

- A BME-ETT tanszékvezetőjének, Dr. Harsányi Gábornak és a tanszék minden munkatársának.
- A Nanotechnológia Laboratórium hallgatóinak (Kámán Judit, Kokavec László, Lehoczki Péter, Izsold Zsanett, Chararambous Dafni, Wimmer Balázs).
- A Debreceni Egyetem Kísérleti Fizika Tanszékének munkatársainak (Dr. Kökényesi Sándor, Dr. Csarnovics István, Szántó Géza, Balázs László).
- Az MTA-WIGNER munkatársainak (Dr. Veres Miklós, Himics László).
- A CEITEC (Brno) munkatársainak (Tomas Lednicky).
- A Bolyai János poszt-doktori ösztöndíjnak a támogatást.
- Az ÚNKP poszt-doktori ösztöndíjának a támogatást.