

Оптични сензори, вкл. биосензори, базирани на Повърхнинен Плазмонен Резонанс: проблеми, решения, приложения

Публична академична лекция

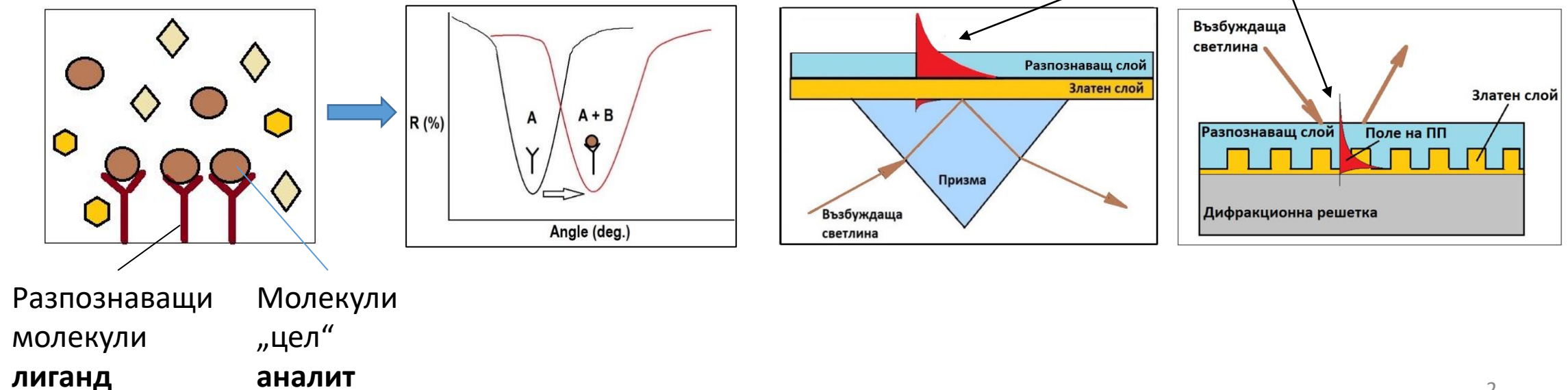
Съгласно чл. 27 ал. 9 от

ПРАВИЛНИК

ЗА УСЛОВИЯТА И РЕДА ЗА ПРИДОБИВАНЕ НА НАУЧНИ СТЕПЕНИ И ЗА
ЗАЕМАНЕ НА АКАДЕМИЧНИ ДЛЪЖНОСТИ В ИОМТ - БАН

Тематична област

- *Проведените изследвания са в областта на оптичните сензори в т.ч. биосензори, базирани на Повърхнинен Плазмонен Резонанс (Surface Plasmon Resonance – SPR)*
- Биосензори:



Предимства/недостатъци на SPR биосензорите

Предимства

- висока чувствителност
- възможност за количествен анализ
- проследяване на динамични взаимодействия
- мониторинг в реално време
- детекция без етикетиране

Въпреки това

не се прилагат за диагностика на място – до сега не съществува комерсиална реализация на SPR биосенсор като полеви прибор.

Причина

не е постигната **чувствителност**, сравнима с тези на биосензорите с маркери;
неспецифичните молекулярни реакции, регистрирани при SPR

Научни приноси: тематична насоченост

Неспецифични молекулярни реакции

SPR сензорите измерват както физичните, така и химичните ефекти, които влияят на показателя на пречупване на слоя в рамките на проникването на полето на плазмонната вълна в него. Поради това SPR сензорите по своята същност НЕ СА СПЕЦИФИЧНИ за измервания процес.

SPR детекцията МОЖЕ ДА ГЕНЕРИРА НЕСПЕЦИФИЧЕН сигнал, ВЪПРЕКИ 100% СПЕЦИФИЧНОСТ на молекулите на разпознаващия слой.

Неспецифичността се поражда от:

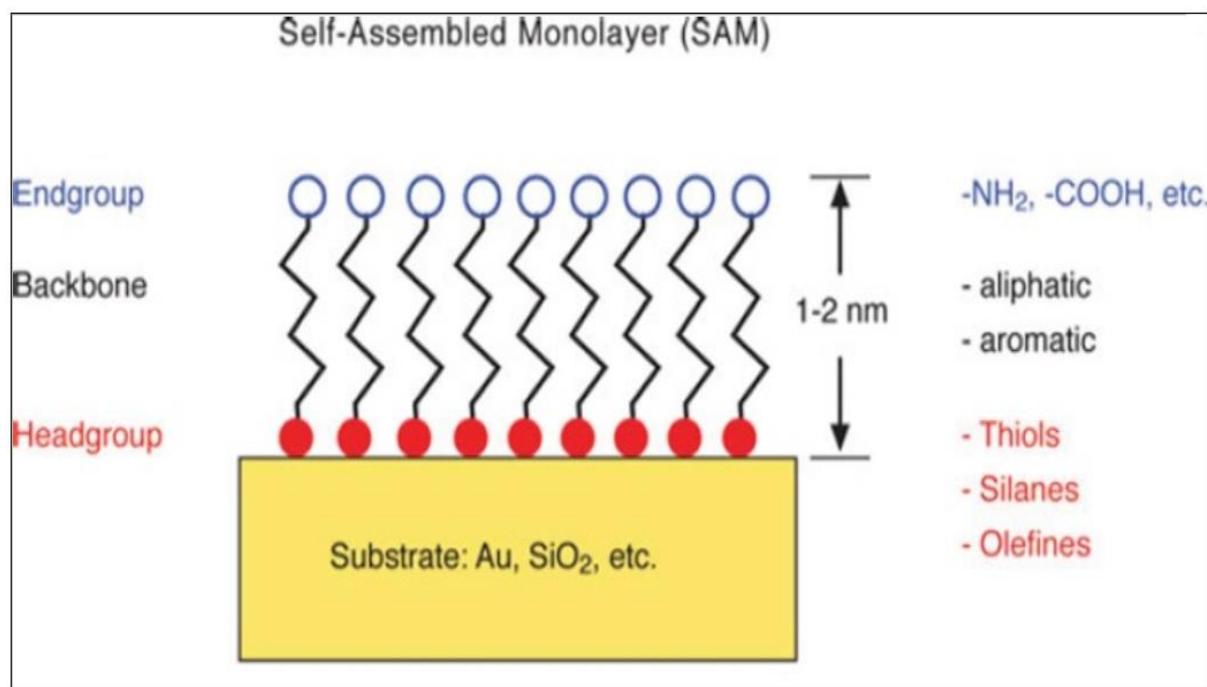
1. Необходимостта от вграждаща матрица с цел закрепване на биолиганд-молекулите върху металната повърхност.
2. Особеностите на детекция на метода „повърхнинен плазмонен резонанс“.

Научни приноси: тематична насоченост

Неспецифичността се поражда от:

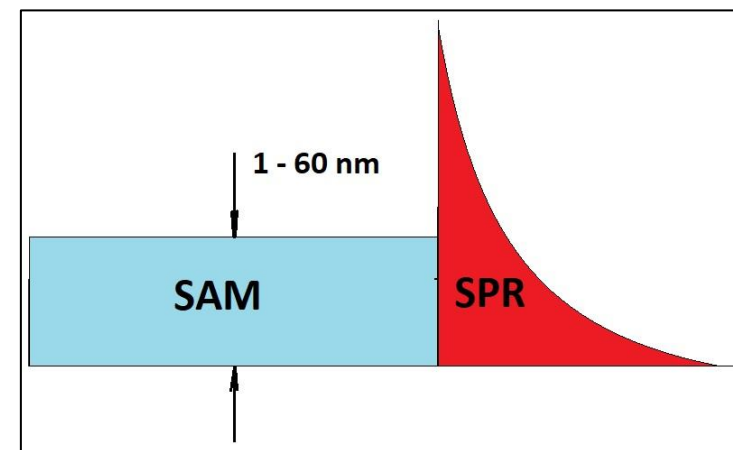
ИМОБИЛИЗАЦИЯ: подходи и решения до момента

SAM – Самоподреждащ се монослой



Разпознаващият слой има твърде малка дебелина, в сравнение с дълбочината на проникване на ПВ!

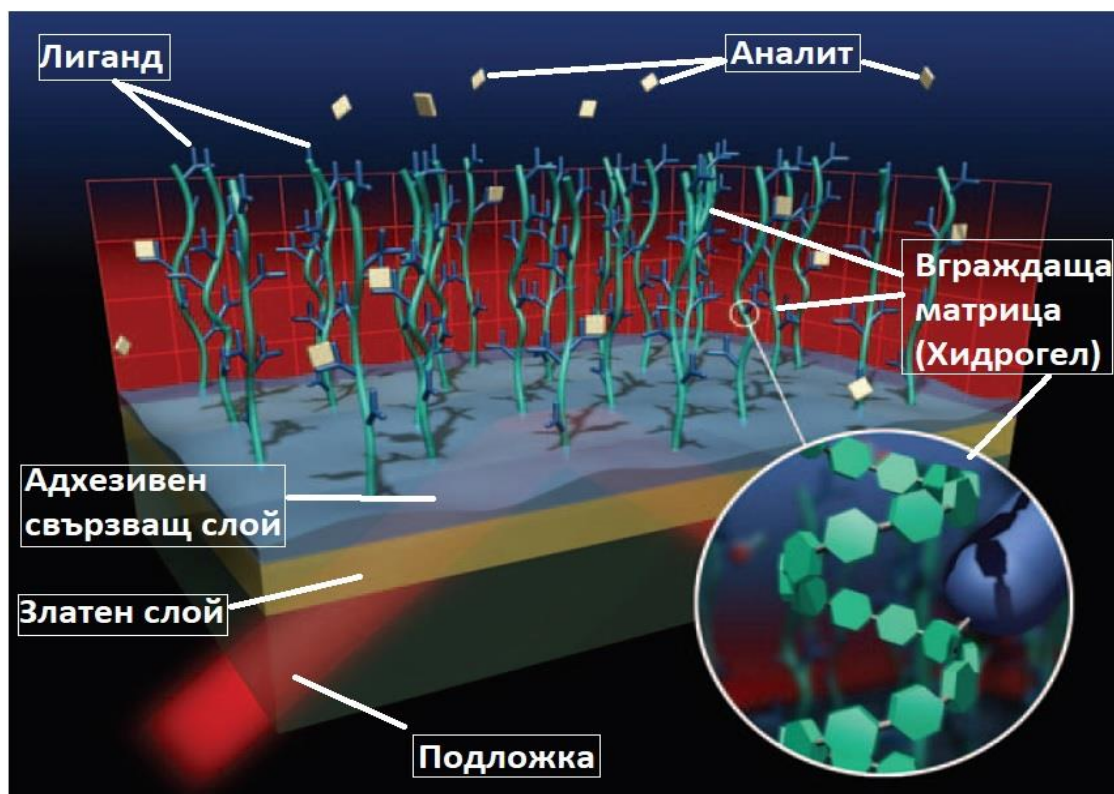
Ниска специфичност и точност!



Научни приноси: тематична насоченост

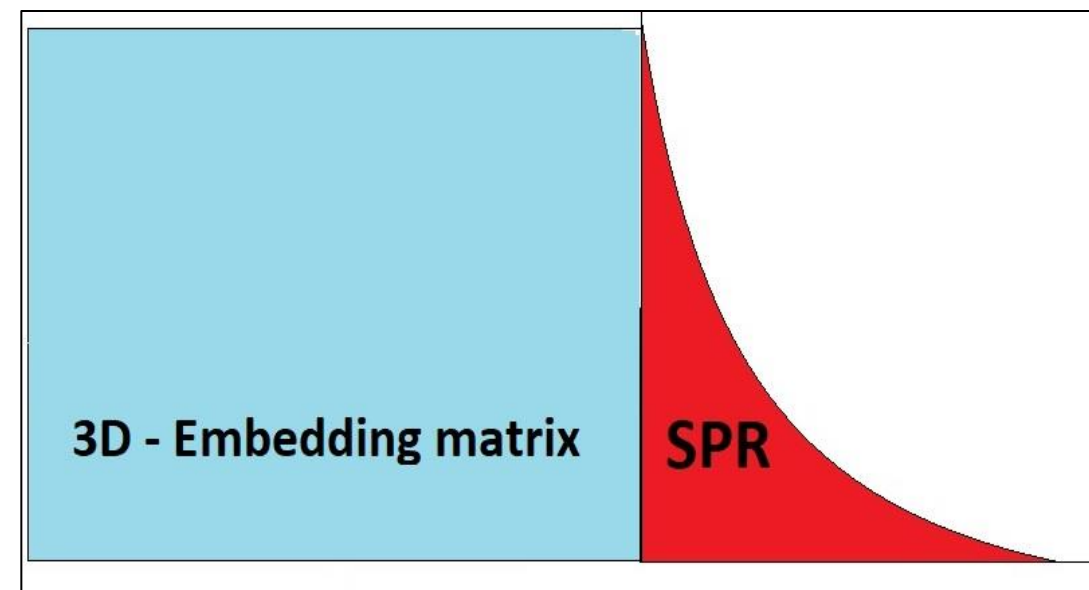
ИМОБИЛИЗАЦИЯ: подходи и решения до момента

Вграждаща матрица



Проблеми:

1. Отдалеченост на лиганда от металната повърхност ;
2. Негативен ефект върху биоактивността на лиганда .

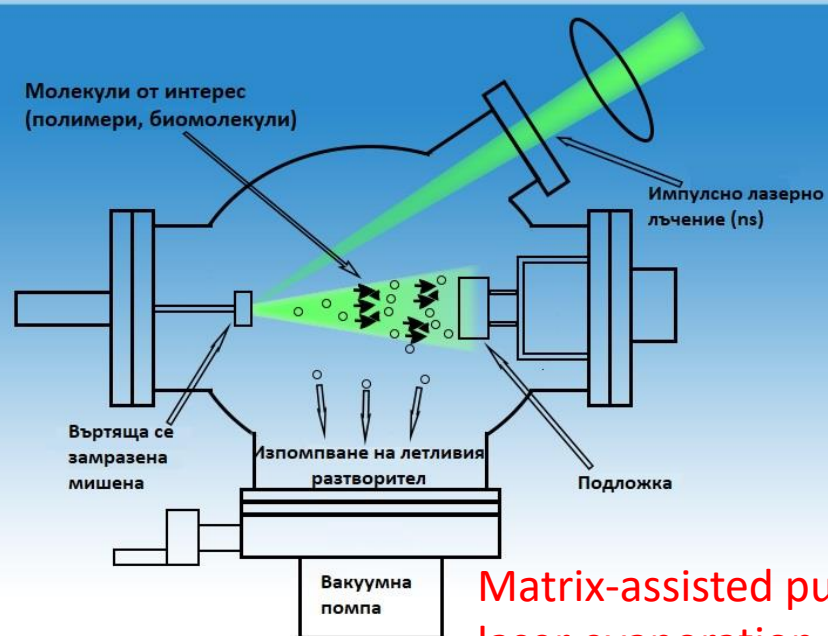


Научни приноси: тематична насоченост

Стратегиите за решаване на проблема с неспецифичните молекулярни реакции са две:

получаване на силен
полезен сигнал, генериран
от специфичната реакция;

Оптимизация на
разпознаващия слой
чрез **директна**
имобилизация.

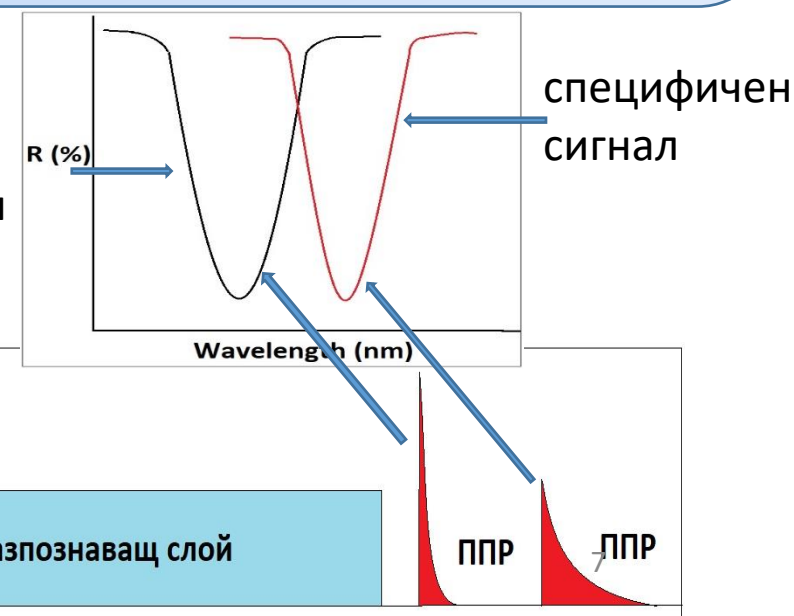


Matrix-assisted pulsed
laser evaporation (MAPLE)

отделяне на този
сигнал от фоновия,
генериран от
неспецифичната
реакция.

Разделяне на сигналите от
специфичните-
неспецифични
взаимодействия чрез
едновременно възбуждане
на два ППР.

специфичен
+
неспецифичен
сигнал



Научни приноси: директна имобилизация на протеини

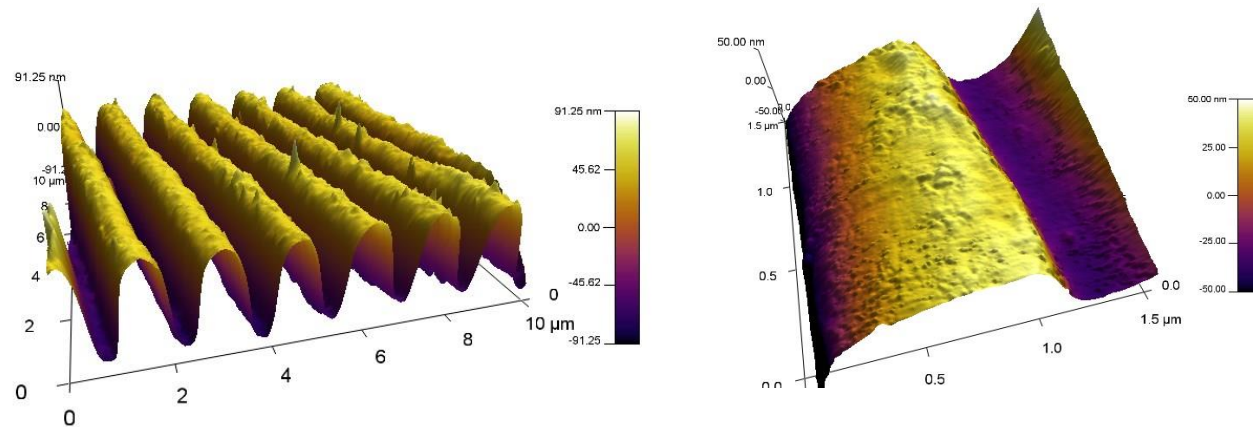
ОСНОВНА ЗАДАЧА: имобилизираните молекули да притежават биоактивност

ЗАЩО ПРОТЕИНИ:

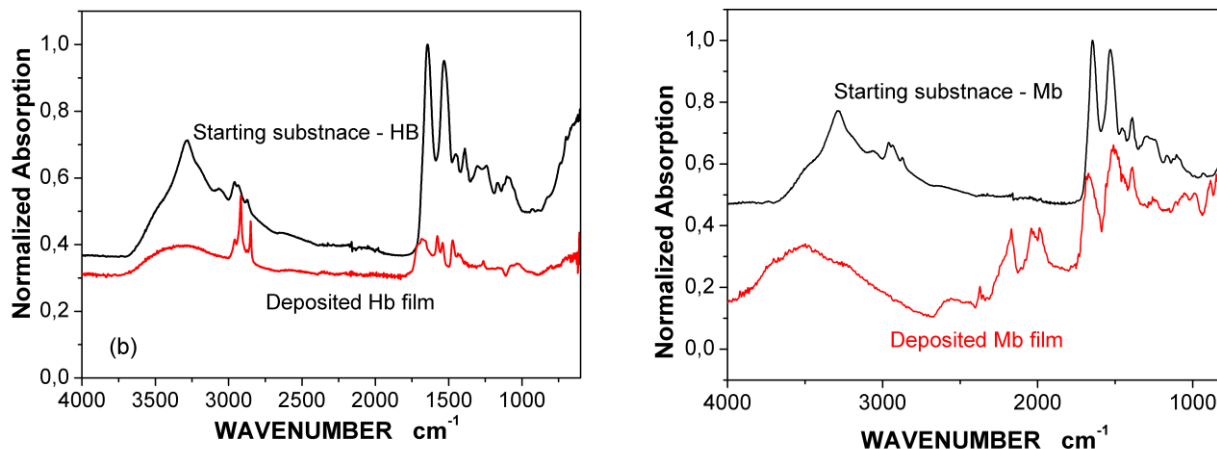
- Сложни молекули, биоактивността им се определя и от конформационното им състояние, не само от химичната структура;
- Ефект на дехидратация;
- При имобилизация върху метална повърхност (при съществуващи до момента методи за имобилизация) протеините губят до 90% от биоактивността си;
- Защо хемоглобин (Hb) и миоглобин (Mb)?

Научни приноси: директна имобилизация на протеини

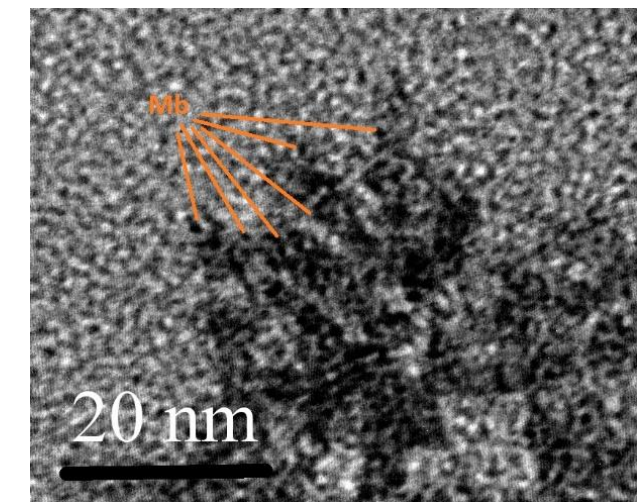
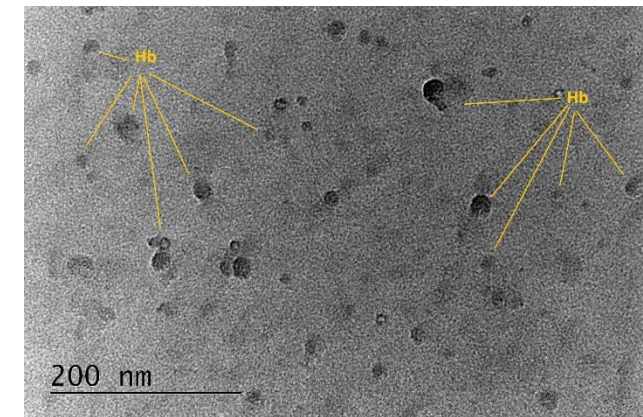
Имобилизация върху позлатена дифракционна решетка -AFM



Характеризиране на отложените Hb/Mb слоеве – FTIR



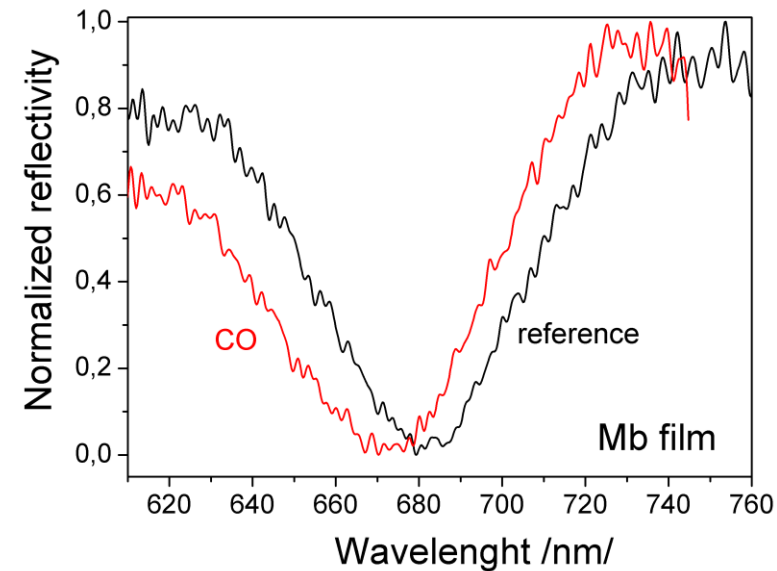
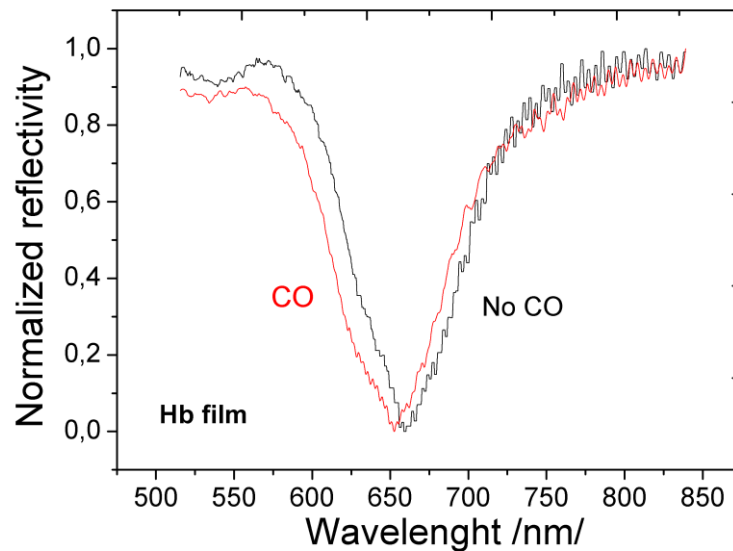
Характеризиране на отложените Hb/Mb слоеве – TEM



Научни приноси: директна имобилизация на протеини

Доказване на биоактивност на различни функционални групи:

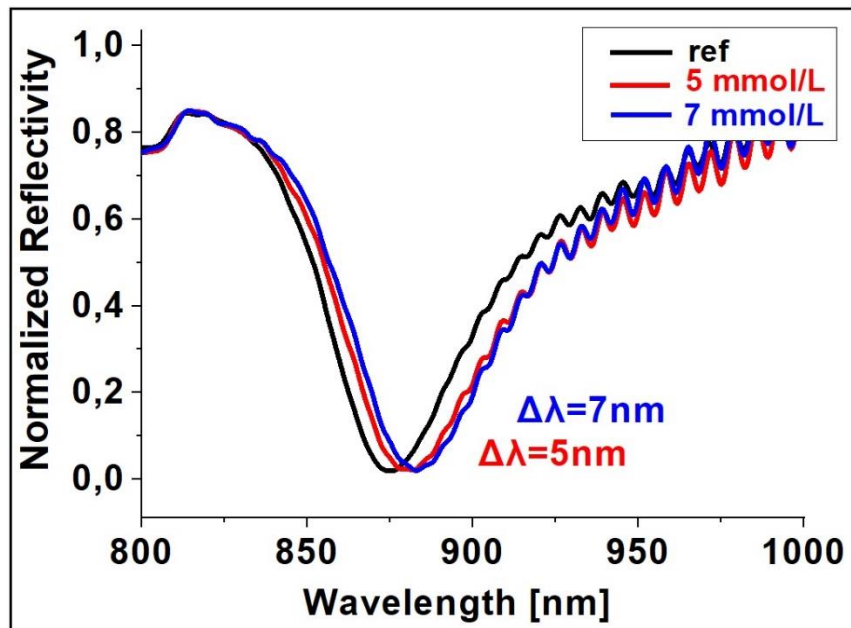
- Amino група – взаимодействие с CO_2
- Thiol група – взаимодействие с NO
- Heme група – взаимодействие с CO



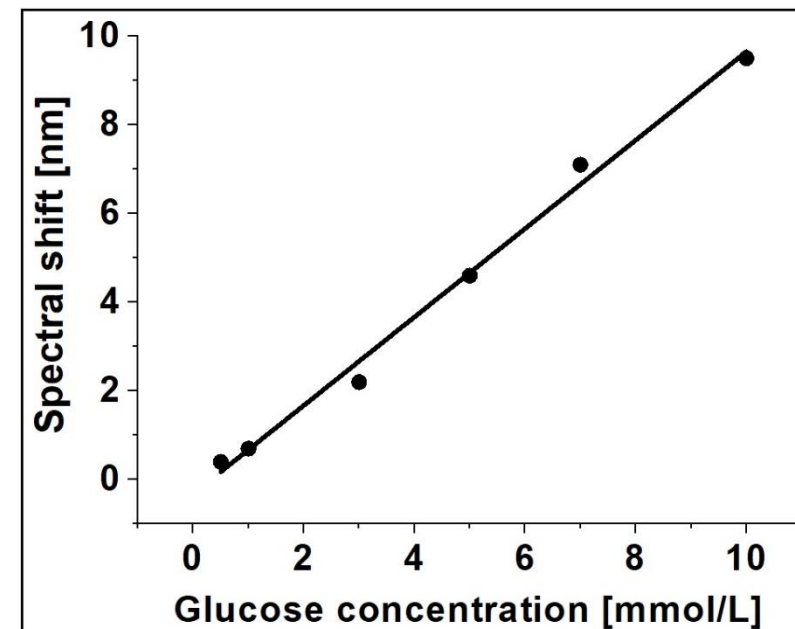
Научни приноси: директна имобилизация на протеини

Отделни фрагменти от молекулите или цели молекули се имобилизират?

Взаимодействието с глюкоза: осъществява се ковалентно чрез N- връзките на β - веригата на Hb



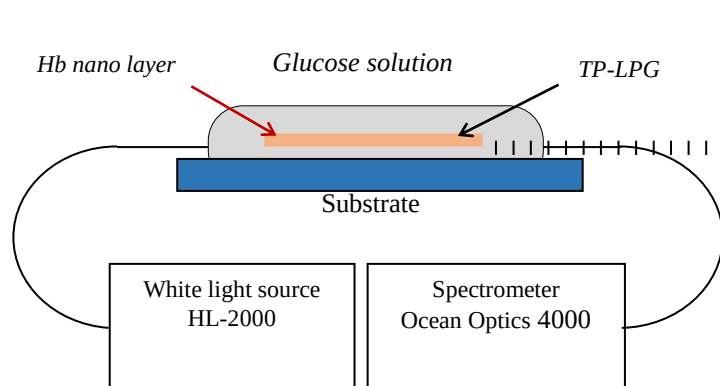
Отместване на резонанса, възбуден в дифракционна решетка с имобилизиран слой от Hb при взаимодействие с глюкоза;



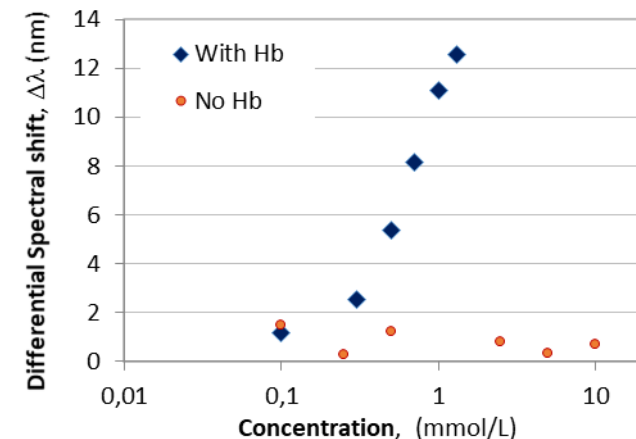
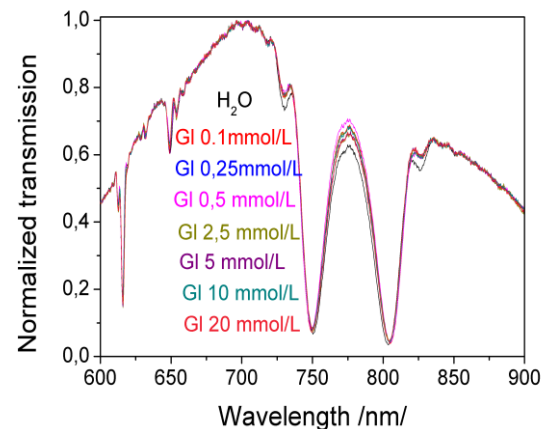
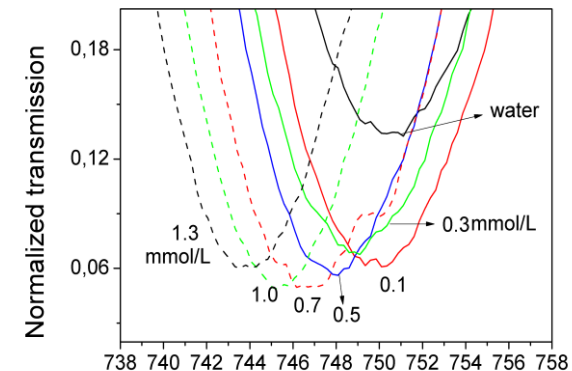
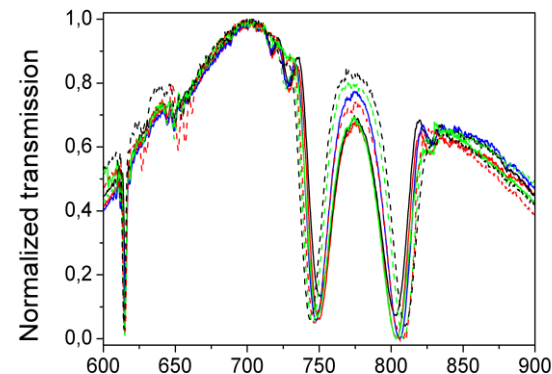
Отместване на резонанса като функция на концентрация на глюкоза

Научни приноси: директна имобилизация на протеини

Високочувствителен сензор за глюкоза: директно имобилизиран Hb върху оптично влакно с дългопериодична решетка



Създаден е прототип на биосензор за неинвазивна детекция на кръвна захар чрез анализ на слюнка.



Научни приноси: директна имобилизация на протеини

Параметри на Matrix-Assisted Pulsed Laser Evaporation (MAPLE) технологичен процес

Optimal parameters	Value	Range of variation
Target temperature	-40 °C	-15 °C - -40 °C
Mode of freezing	Gradually	Chock/gradually
Downtime at pressure less than 10 ⁻³ Torr	45 min	15-120 min

Protein - laser irradiation interaction parameters	Value	Range of variation	Protein - laser irradiation interaction parameters	Value	Range of variation
Wavelength	1.06 μm	355, 512 nm 1.06 μm	Target scanned area	4 cm ²	-
Energy/Pulse	35 mJ	20-100 mJ	Target substrate distance	4 cm	2-7 cm
Fluence	160 mJ/cm ²	100 – 400 mJ/cm ²	Target scanning velocity	0.7 mm/s	0.2-2 mm/s
Pulse repetition rate	10 Hz	1-20 Hz	Number of laser shots	45 000	20 000 – 130 000 ¹
Pulse duration	10 ns	10-30 ns	Deposition time	32 min	20 – 120 min
Solute concentration	7% wt	5-10% wt			

Приноси: Директна имобилизация

За първи път експериментално е доказана ефективността на директно имобилизиране при биосензор:

- Отложените разпознаващи слоеве са със запазена биологична активност;
- Имобилизират се цели (непокътнати) молекули, но едновременно с това част от молекулите се разрушават;
- Отлична адхезия – взаимодействие, определено от Кулоново, Ван-дер Валсово взаимодействие, хидрофобно взаимодействие?

За първи път е осъществена реакцията хемоглобин + глюкоза = гликиран хемоглобин с цел детекция на глюкоза:

- На тази база е създаден лабораторен прототип на биосензор за неинвазивна детекция на кръвна захар чрез анализ на слюнка.

За първи път е създаден SPR биочип чрез директна имобилизация, осъществена изцяло по физичен метод – чрез matrix-assisted pulsed-laser evaporation (MAPLE):

- Разработена е технологична установка, която реализира MAPLE метода, както и са установени наборът от технологични параметри, които гарантират имобилизацията на хемоглобин и миоглобин при запазване на биологичната им активност и с контролируема дебелина на разпознаващия слой.

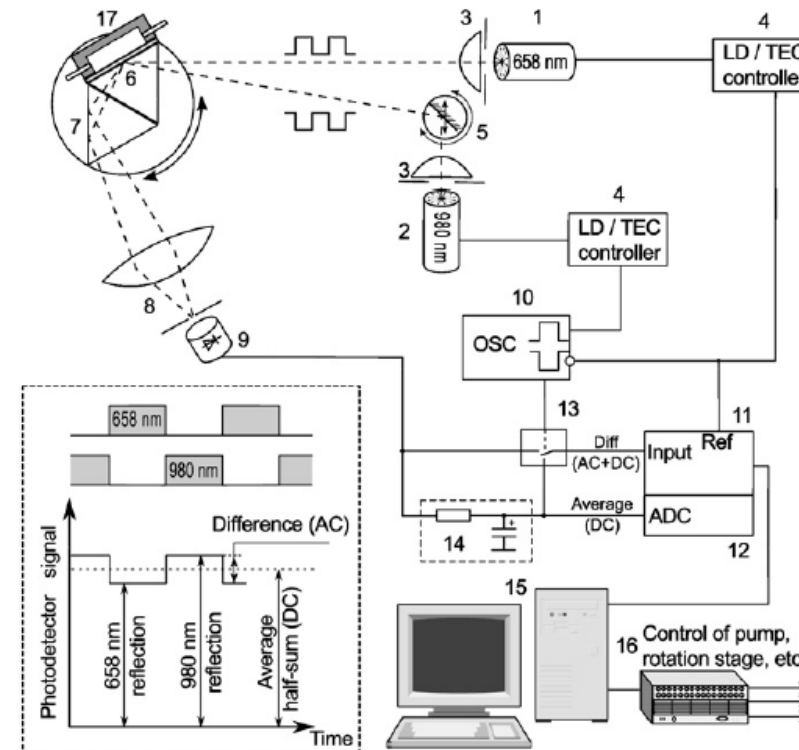
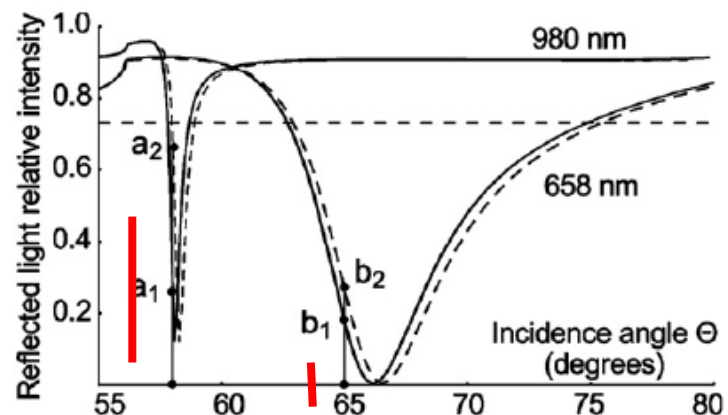
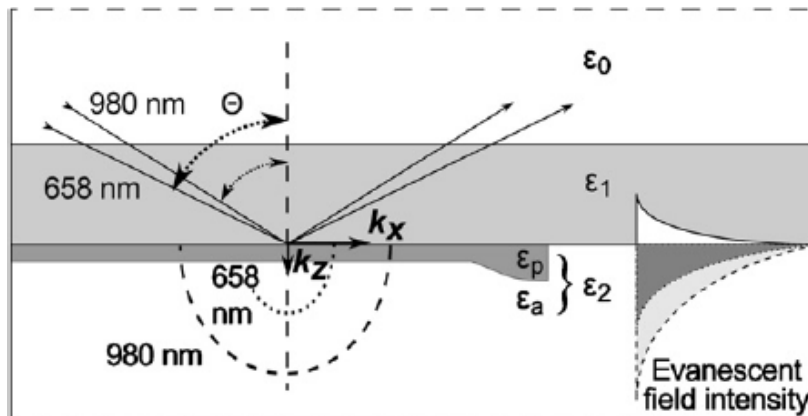
Приноси; Директна имобилизация: публикации

1. **Dyankov G.**, Eftimov T., Malinovski N., Belina. E., Kisov H., Mikulic P., Bock W.; *“Highly Efficient Biosensor based on MAPLE Deposited Hemoglobin on LPGs Around Phase Matching Turning Point.”*
Optics And Laser Technology; Volume: 123, Article Number: 105907, March 2020; DOI: [10.1016/j.optlastec.2019.105907](https://doi.org/10.1016/j.optlastec.2019.105907) Q1-25
2. **Dyankov G.**, Eftimov T., Malinovski N., Belina. E., Kisov H., Mikulic P., Bock W.;
“Data set of MAPLE parameters for Hemoglobin Deposition Upon Long Period Grating”
Data in Brief, April 2020, DOI: [10.1016/j.dib.2020.105641](https://doi.org/10.1016/j.dib.2020.105641); Q1-25
3. Belina, E; Kisov, H; Pavlova, E; Borisova, E; **Dyankov, G**
“Thin Hemoglobin Layers Deposited by MAPLE Technology”
10th Jubilee Conference Of The Balkan Physical Union Book Series: AIP Conference Proceedings Volume: 2075 , Article Number: 160008
Published: 2019 SJR 10
4. **Dyankov, G**; Kisov, C; Belina, E; Pavlova, E; Borisova, E; Gisbrecht, A; Ivanov, D
“Comparative study on the bio-activity of hemoglobin and myoglobin as recognition materials in biosensors”
20th International Conference And School On Quantum Electronics: Laser Physics And Applications Book Series: Proceedings of SPIE
Volume: 11047 ,Article Number: UNSP 1104705 Published: 2019 SJR 10
5. **Dyankov, G.**; Serbezov, V.; Borisova, E.; Kisov, H; Belina, E.
Direct immobilized nanostructured myoglobin for CO detection by surface plasmon resonance
2018 INTERNATIONAL CONFERENCE LASER OPTICS (ICLO 2018) [IEEE](https://doi.org/10.1109/LO.2018.8435542)
Pages: 532-532 Published: 2018 Document Type: Proceedings Paper; DOI:[10.1109/LO.2018.8435542](https://doi.org/10.1109/LO.2018.8435542)

ЗАЩИТА на НОС «доктор»: Биосензори, базирани на SPR в дифракционни решетки с директна имобилизация на разпознаващото вещество: докторант Евдокия Белина;

Научни приноси: разпознаване на специфични от неспецифични взаимодействия

ОСНОВНА ЗАДАЧА: да се разграничат два сигнала; този, генериран от специфичните реакции в разпознаващия слой от сигнала, възникващ от взаимодействия зад разпознаващия слой



Научни приноси: Разпознаване на специфични от неспецифични взаимодействия

НЕОБХОДИМИТЕ УСЛОВИЯ:

- Възбуждане на двете плазмонни вълни: **едновременно, при еднакви условия и еднаква ефективност;**
- Детекция на двете плазмонни вълни: **едновременно и независимо;**
- Максимална съвместимост със съществуващите комерсиални SPR инструменти.

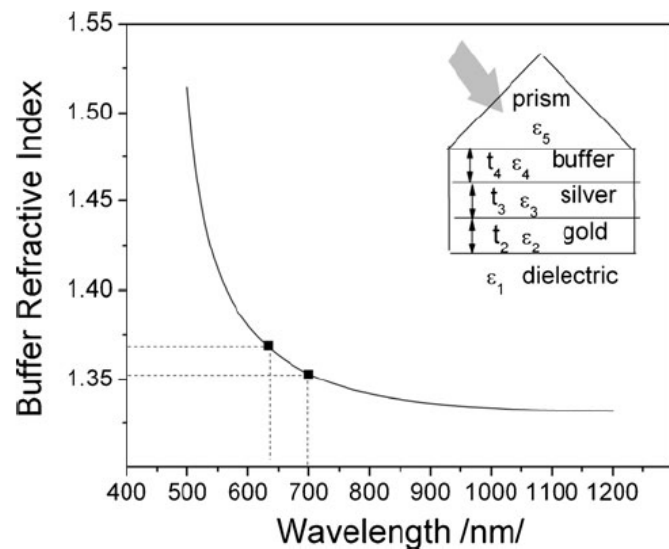
ВЪЗМОЖНОТО РЕШЕНИЕ:

- Възбуждане с полихроматична светлина при фиксиран ъгъл;
- Спектрална детекция при фиксиран ъгъл;
- Плазмонна структура, която позволява възбуждането на две плазмонни вълни при тези условия.

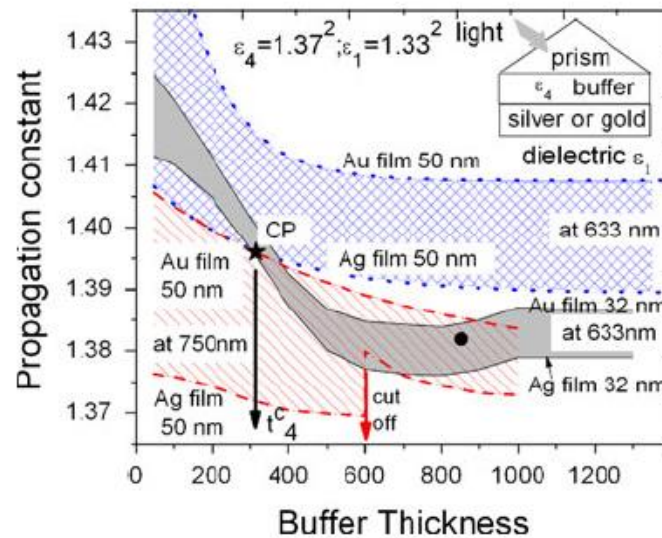
Приноси: разпознаване на специфични от неспецифични взаимодействия

НОВА ПЛАЗМОННА СТРУКТУРА: теоретичен анализ, осъществен с FDTD и многомерни оптимизационни методи

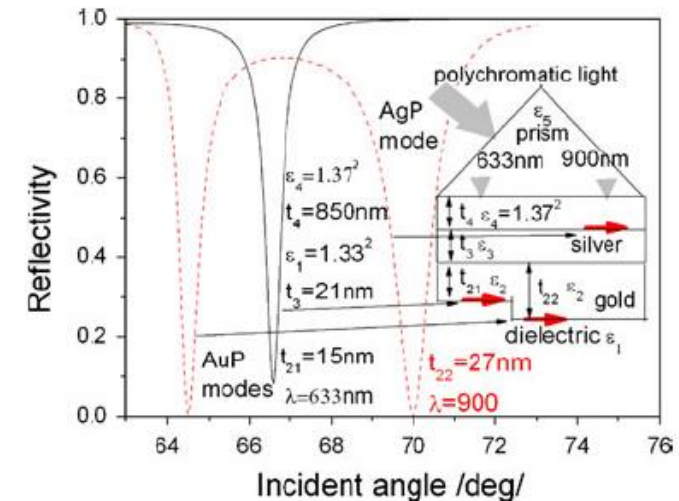
Защо е нужен буферен слой?



Определя модовия състав на повърхнините вълни



Защо е нужен биметален слой?



Използват се различните дисперсионни характеристики на металите за едновременно възбуждане на SPR

Приноси: разпознаване на специфични от неспецифични взаимодействия. Публикации.

1. Сигнален и опорен канал, които не са пространствено разделени, като при това не се изисква различна функционализация;
2. Две плазмонни моди с различно модово разпределение на полето, като едната мода формира сигналния канал, а другата – опорния;
3. Решение два съществени проблема, характерни за двувълновия метод: не едновременното измерване по двата канала и не ефективното възбуждане на SPR по Кречман схема;
4. Нови функционални възможности: възбужда се трета плазмонна мода, която осигурява втори опорен канал само по температура.

ПУБЛИКАЦИИ:

1. **G. Dyankov**, M.Zekriti, Eh Saidi, and M.Bousmina; *“Long range surface plasmon supported by asymmetric bimetallic structure”* Plasmonics Volume: 7 Issue: 3 Pages: 479-485; 2012, Q2-20
2. **G. Dyankov**, M.Zekriti, M.Bousmina *“Dual-mode surface plasmon sensor based on bimetallic film”* Applied Optics ; Volume: 51 Issue: 13 Pages: 2451-2456, 2012; Q1-25
3. **G. Dyankov**, M.Zekriti, and M.Bousmina *“Plasmon modes management”* Plasmonics ,Volume: 6 Issue: 4 Pages: 643-650; 2011; Q2-20

Приноси: Разпознаване на специфични от неспецифични взаимодействия

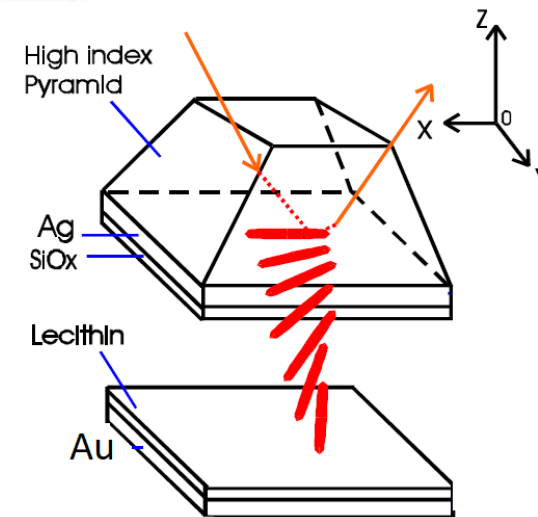
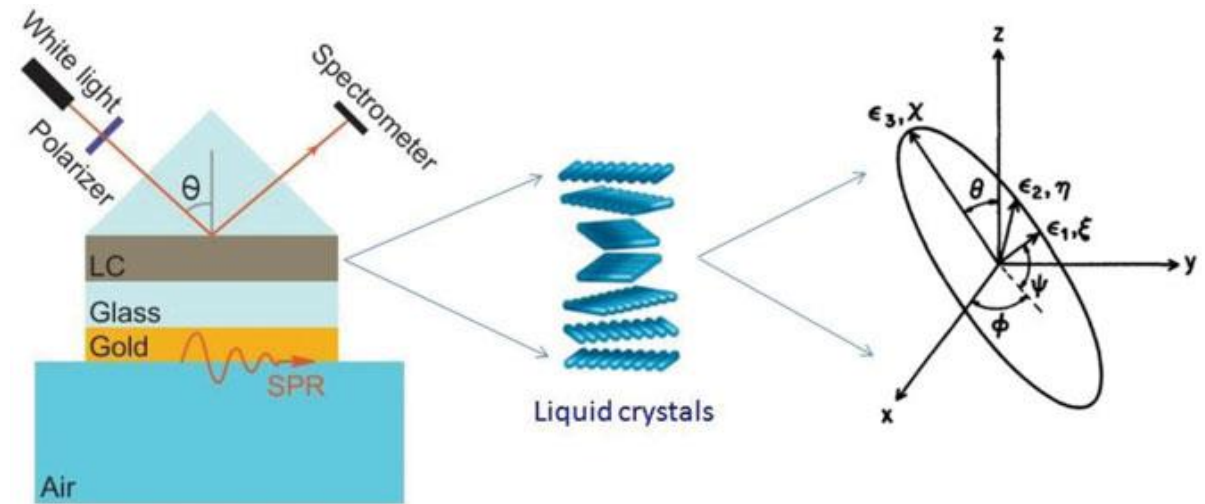
ЗА ПЪРВИ ПЪТ се разглежда възбуждане на плазмонни вълни, асистирано от анизотропна среда – течно-кристален слой (хирален смектик/нематик или нематик)

ОСНОВНА ИДЕЯ: да се използват собствените моди в анизотропната среда за възбуждане на SPR.

ПРЕДИМСТВА: поляризацията играе основа роля.

ПРОБЛЕМИ: осигуряване на нужните гранични условия, зависещи от:

- Пълно вътрешно отражение;
- Период на хеликсната структура/ дължина на вълната;
- Двулъчепречупване.

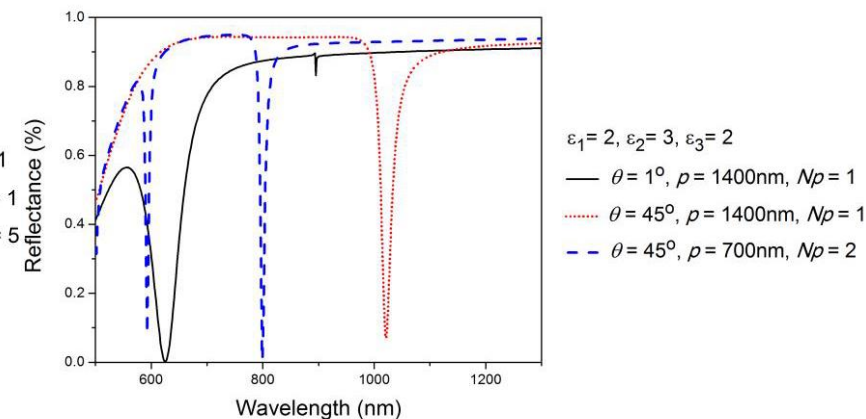
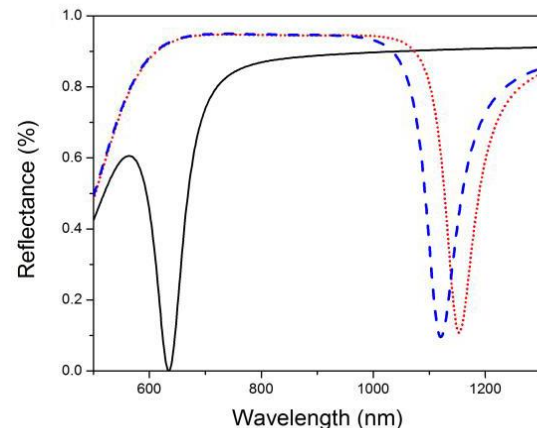
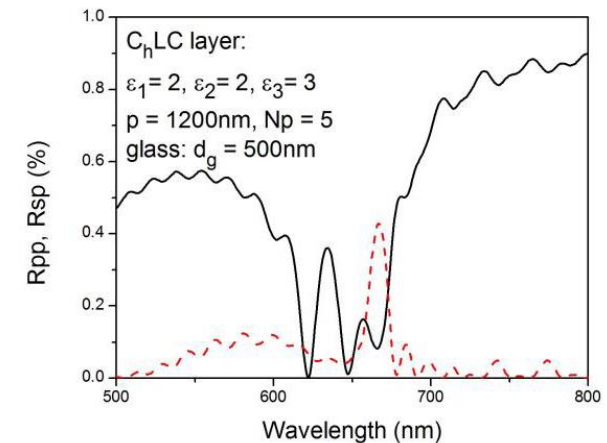
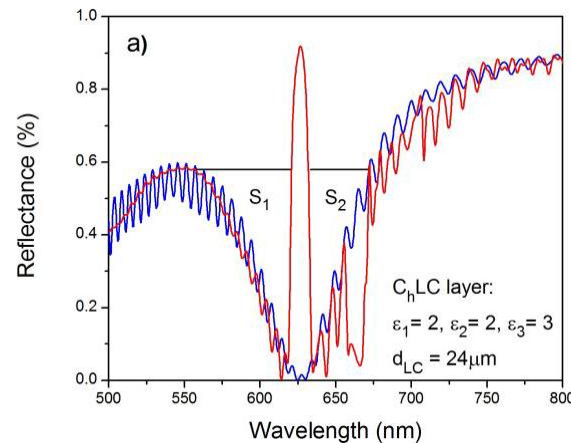


Приноси: разпознаване на специфични от неспецифични взаимодействия

Моделирането на структурата е направено чрез решаване на уравненията на Максвел по метода 4x4.

ХИРАЛЕН НЕМАТИК:
едновременно
възбуждане на
отражение на Брег и SPR.
Отражението на Брег е
много чувствително към
температурата: опорен
канал по температура.

ХИРАЛЕН СМЕКТИК:
При ъгли на наклона
около 45°
поляризационната
конверсия е най-силна:
възбуждане на SPR със s-
и p- поляризация.

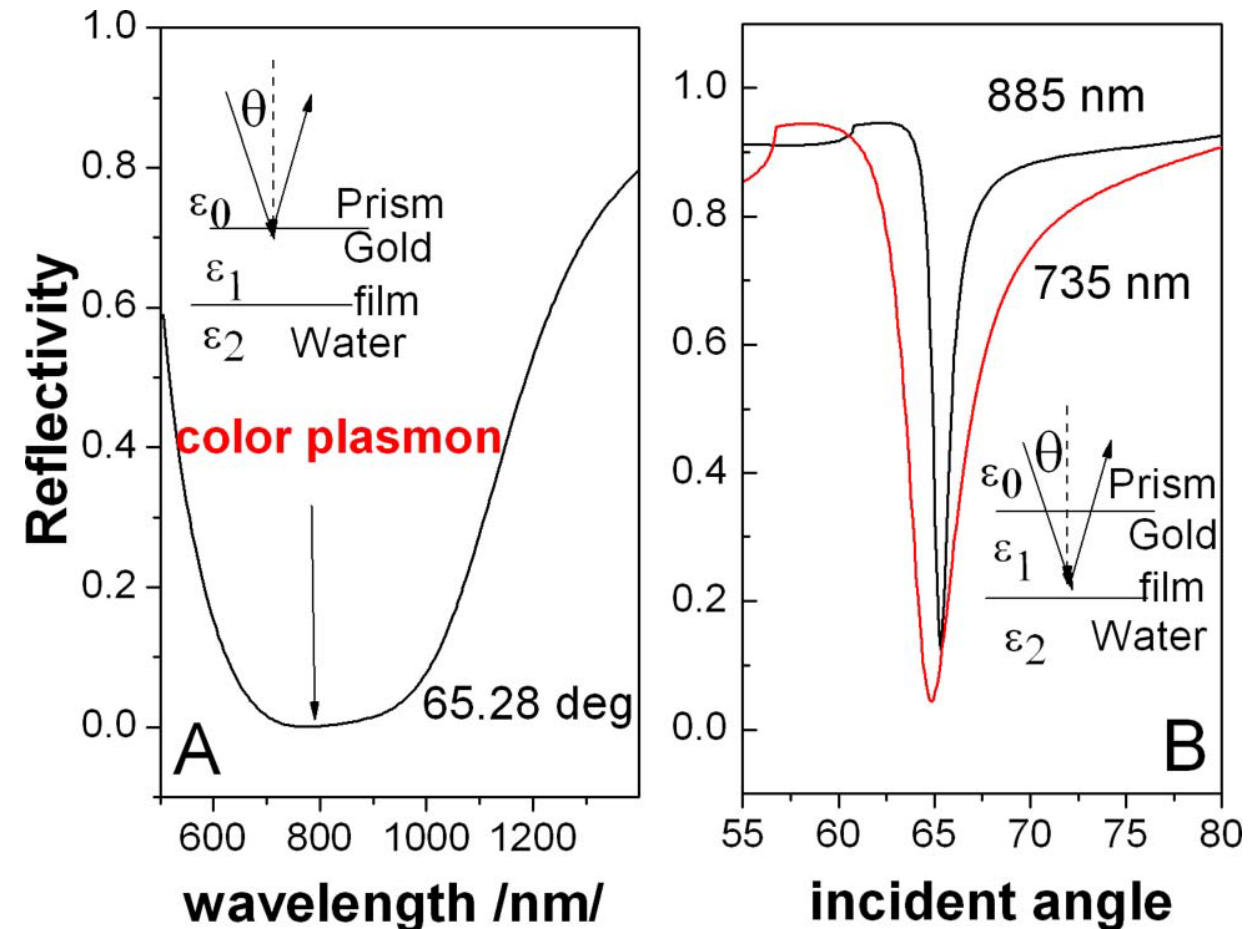


Приноси: разпознаване на специфични от неспецифични взаимодействия

ЗА ПЪРВИ ПЪТ е предложена и теоретично анализирана идеята за „цветен“ плазмон.

Хипотези:

- i)* възбуждането на SPR при различни дължини на вълните, излъчвани на кохерентни или частично кохерентни източници, принадлежащи на спектъра на „цветния“ плазмон ще се възбуждат и детектират при еднакъв ъгъл;
- ii)* разпределението на полето на тези плазмони прониква на различно разстояние; обхваща разпознаващия слой и пространството зад него;
- iii)* анализът на резонанса на „цветния“ плазмон при къси и дълги дължини на вълната, би могъл да раздели специфичните от неспецифичните молекулярни реакции.



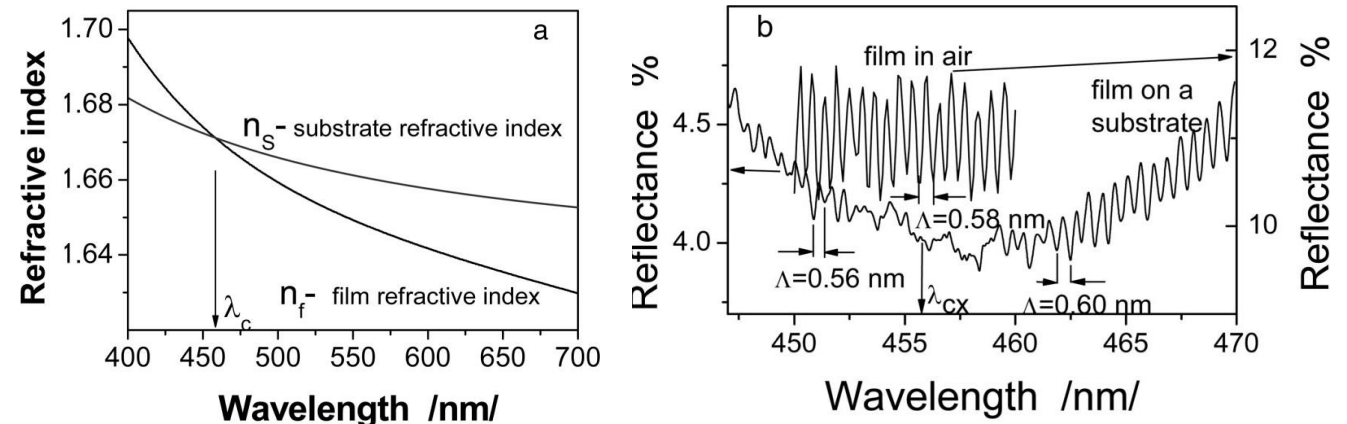
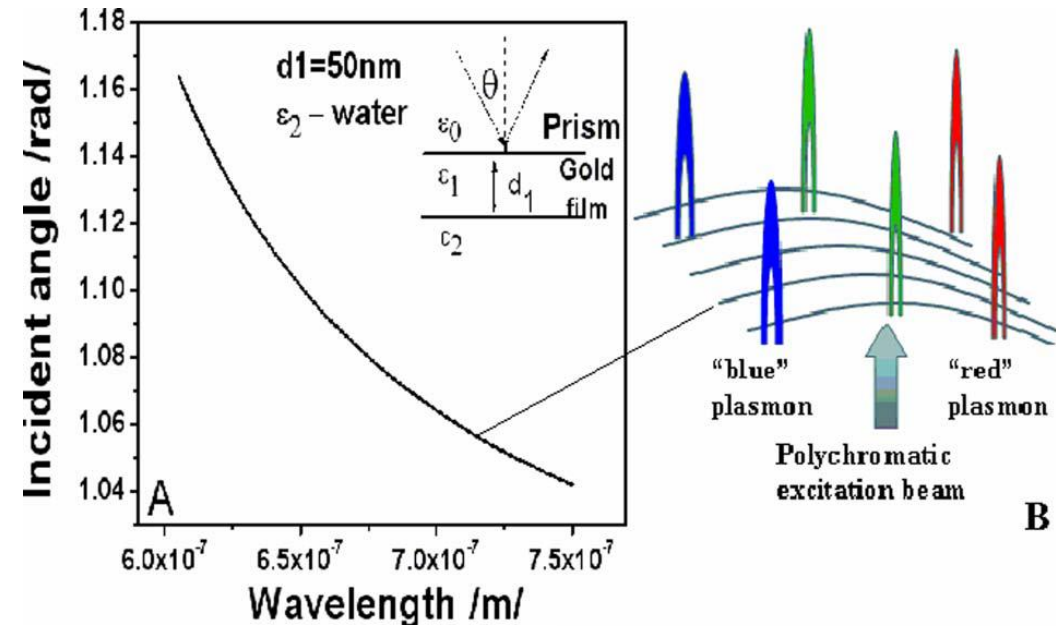
Приноси: разпознаване на специфични от неспецифични взаимодействия

ДВА МЕТОДА за възбуждане на „цветен“ плазмон:

- i) чрез подбор на материала на призмата и металния слой, целящ изравняване на дисперсионните им характеристики в определен спектрален диапазон;
- ii) ii) чрез модифициране на кривината на границата призма/метален слой.

ОСНОВА ИДЕЯ:

Равенство на дисперсионните характеристики на ефективния показател на плазмонната вълна и на ПП на призмата.



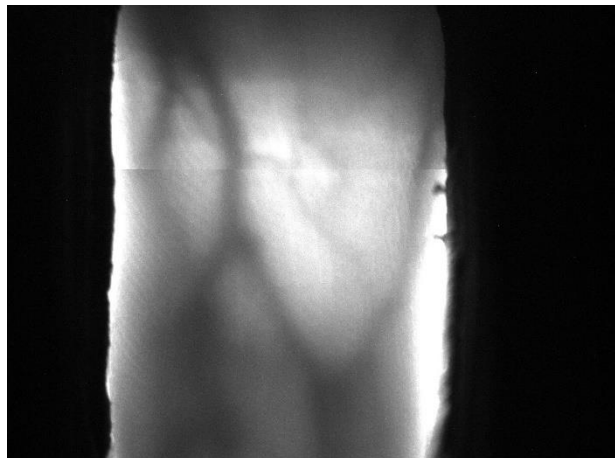
Приноси: разпознаване на специфични от неспецифични взаимодействия. Публикации.

1. **Dyankov, G.**, Zhelyazkova, K., Petrov, M., Katranchev, B., “*A pitch of helicoid of chiral liquid crystals and surface plasmon excitation: A theoretical study*”; Molecular Crystals And Liquid Crystals;; 2016; Q2-20 ;
2. Zhelyazkova, K; Petrov, M; Katranchev, B; **Dyankov, G**; “*Surface plasmon and guided modes excitation of cholesteric liquid crystal layer*”; Bulgarian Chemical Communications ,Volume: 48 2016 Q4 12
3. Zhelyazkova, K; Petrov, M; Katranchev, B; **Dyankov, G** “*An anisotropic stratified structure for surface plasmon excitation*”; Proceedings of SPIE Volume: 9447 , Article Number:UNSP 94470C Published: 2015 SJR 10
4. Zhelyazkova, K ; Petrov, M ; Katranchev, B ; **Dyankov, G** ;“*Surface plasmon resonance on the surface: metal - liquid crystal layer*”, DOI: 10.1088/1742-6596/558/1/012023; Published: 2014 Q3 scimago 15
5. **G. Dyankov**, Z.Sekkat, M.Bousmina; “*Color plasmons and trains of plasmons*”,; Applied Optics Vol.49, Issue 22, pp.4304-4309 (2010) Q1-25
6. **Dyankov, G.**, “*Modified channeled spectrum for fast measurement of thin films*” Applied Optics, 47 (4), pp. 536-540. (2008) Q1-25
7. **Dyankov, G**; Chen, SY; Yang, FS;; “*Vortex polarimetry*”; Optical Fabrication, Testing, And Metrology III Book Series: Proceedings of SPIE Volume: 7102, Article Number: 710212 Published: 2008 SJR 10
8. **Dyankov, G** ; Liu, CS ; Chuang, KP “*Spectral-domain interferometry for simultaneous measuring the refractive index and thickness*” 2007 Pacific Rim Conference On Lasers And Electro-Optics, Vols 1-4; Book Group Author(s):IEEE; Pages: 395-396, Published: 2007;
9. Voskoboynikov, O., **Dyankov, G.**, Wijers, C.M.J.,; “*Left Handed Composite Material in Optical Range*”, Microelectronic Journal V. 36 (3-6), pp. 564-566, (2005) Q2-20
10. **Dyankov G.**, Huai-Yi hen, Shiun Chao and Sien Chi; *Optimization of Second Harmonic Generation in Nonlinear Film Structure Optics Commun.*; 236; 203-208; (2004) Q1 25

Дисертации:

1. Иван Иванов; *Метод на крайните разлики и обратно-степенен метод и приложението им за пресмятане на модите на многослойни анизотропни оптични вълноводи* – защитил 2016
2. Катерина Желязкова, *Структури за ППР и приложението им за сензори*– защитил 2017

Научно-приложни приноси. Патенти, полезни модели.

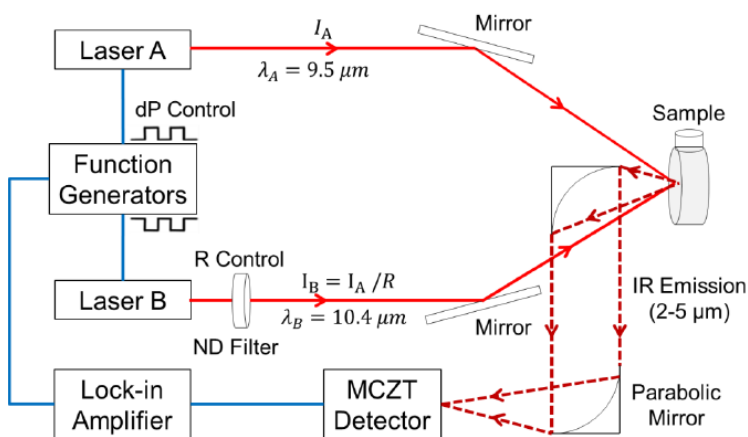


ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО НА РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ

Справка за полезен модел към: 26.02.2020
23:08:32

Основни данни

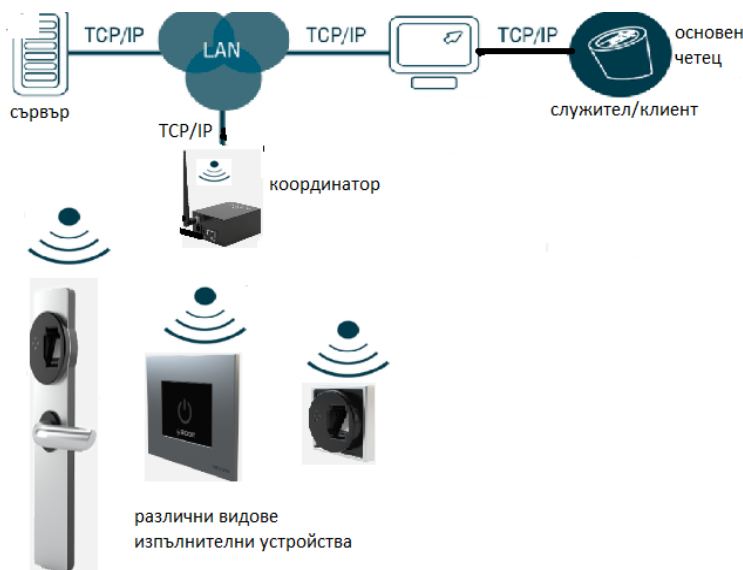
Номер на заявка	3602	Дата на заявяване	11.10.2016
Защитен номер	2762	Дата на издаване/регистрация	26.09.2017
Срок на закрила	11.10.2020	Статус	ПМ Действащ
Платено за година	4	Дата на плащане	07.09.2017
Наименование	УСТРОЙСТВО ЗА ДОСТЪП ДО УПРАВЛЕНИЕ НА МПС ЧРЕЗ УСТАНОВЯВАНЕ НА ИДЕНТИЧНОСТ И СЛЕД НЕИНВАЗИВНО УСТАНОВЯВАНЕ НА АЛКОХОЛНО СЪДЪРЖАНИЕ В ОРГАНИЗМА		



На базата на така регистрираната интелектуална собственост бе спечелен проект по

**H2020 SMEInst-10-2016-2017; SME instrument phase 1;
Proposal number: 774985.**

Научно-приложни приноси. Патенти, полезни модели.



ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО НА РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ

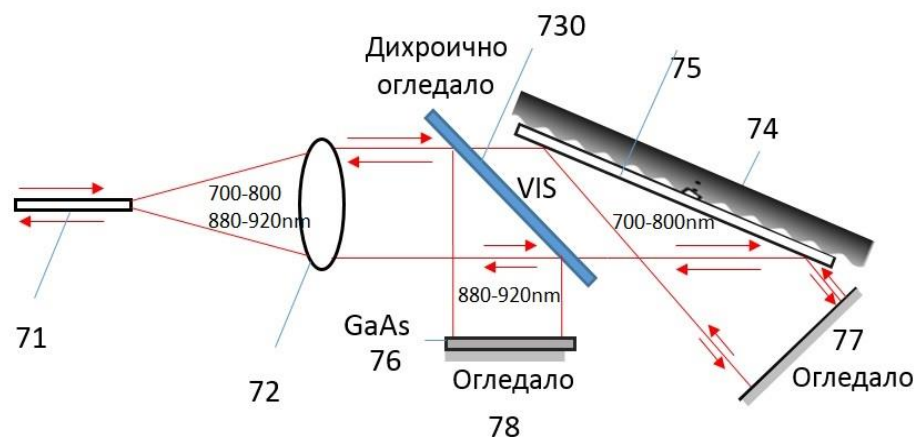
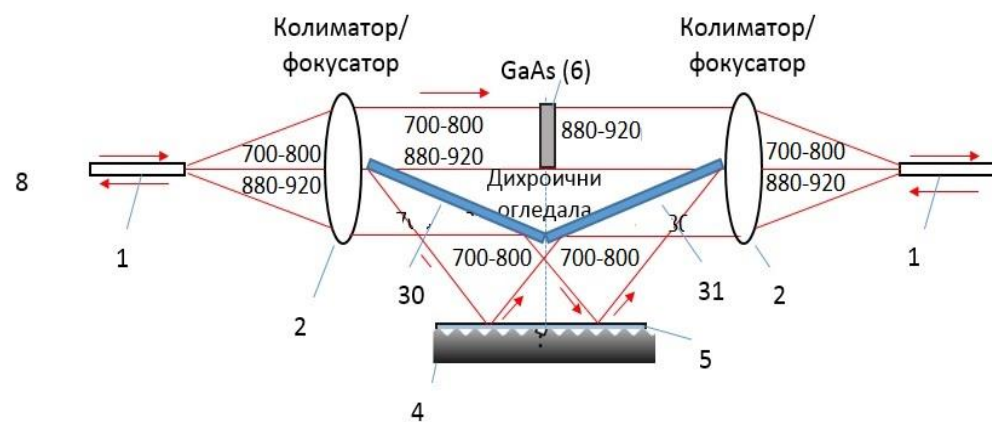
Справка за национален патент към: 26.02.2020
23:23:19

Основни данни

Номер на заявка	112520	Дата на заявяване	08.06.2017
Защитен номер		Дата на издаване/регистрация	
Срок на закрила		Статус	ПТ В Експертиза
Наименование	БИОМЕТРИЧНА СИСТЕМА ЗА БЕЗЖИЧНО ОТДАЛЕЧЕНО АДМИНИСТРИРАНЕ НА ПРАВА НА ДОСТЪП И МЕТОД, ОСЪЩЕСТВЯВАЩ ФУНКЦИОНИРАНЕТО И		

Патентът е оценен на 8.5 милиона лева от АДФИ.

Научно-приложни приноси. Патенти, полезни модели.



ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО НА РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ

Справка за национален патент към: 26.02.2020
23:24:40

Основни данни

Номер на заявка	112583	Дата на заявяване	19.09.2017
Защитен номер		Дата на издаване/регистрация	
Срок на закрила		Статус	ПТ В Експертиза
Наименование	МНОГОФУНКЦИОНАЛЕН ОПТИЧЕН ПРОТИВОПОЖАРЕН ДЕТЕКТОР		

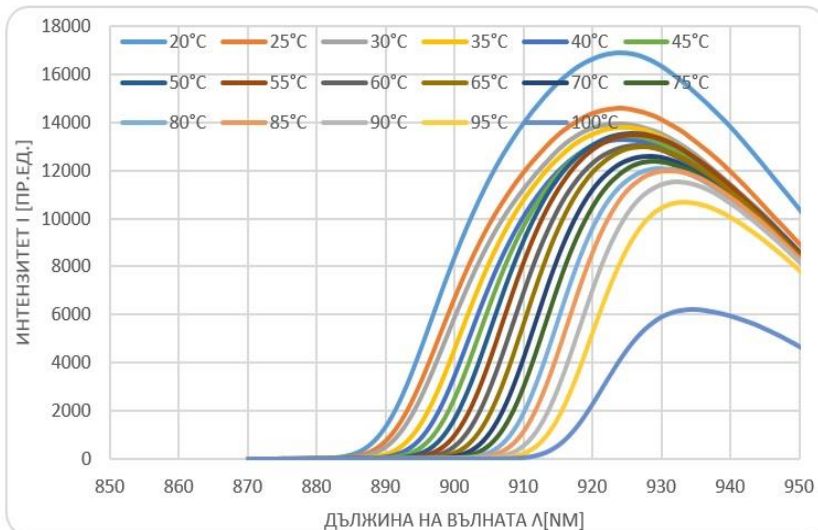
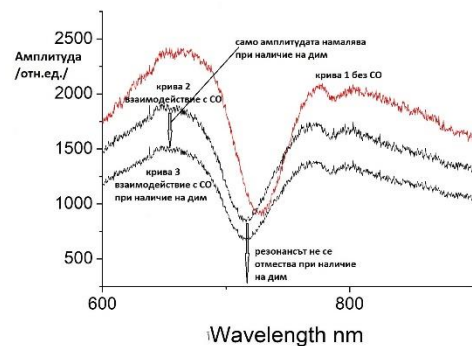
ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО НА РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ

Справка за полезен модел към: 26.02.2020
23:08:32

Основни данни

Номер на заявка	3861	Дата на заявяване	19.09.2017
Защитен номер	2908	Дата на издаване/регистрация	30.03.2018
Срок на закрила	19.09.2021	Статус	ПМ Действащ
Платено за година	4	Дата на плащане	07.03.2018
Наименование	МНОГОФУНКЦИОНАЛЕН ОПТИЧЕН ПРОТИВОПОЖАРЕН ДЕТЕКТОР		

Научно-приложни приноси. Патенти, полезни модели.



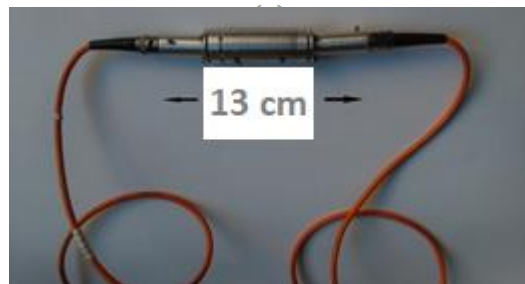
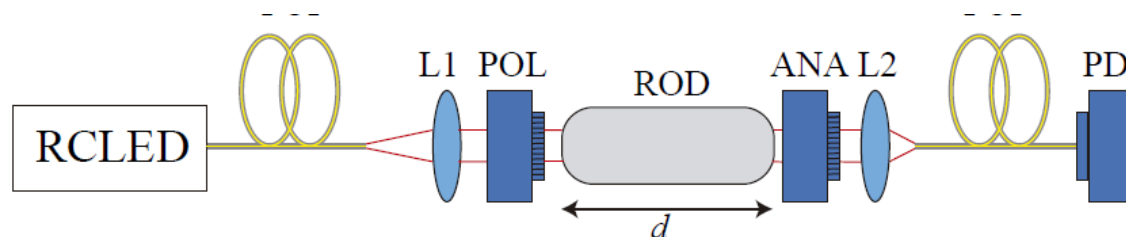
Научно-приложни приноси. Патенти, полезни модели.

ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО НА РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ

Справка за полезен модел към: 26.02.2020
23:08:32

Основни данни

Номер на заявка	2837	Дата на заявяване	05.09.2014
Защитен номер	2064	Дата на издаване/регистрация	29.05.2015
Срок на закрила	05.09.2024	Статус	ПМ Действащ
Платено за година	7	Дата на плащане	10.01.2018
Наименование	ОПТИЧЕН СЕНЗОР ЗА ИЗМЕРВАНЕ НА СИЛНИ ТОКОВЕ		



Искам да изкажа благодарност на ръководството на ИОМТ за осигурените условия за работа, както и на всички колеги, с които съм имал ползотворни дискусии!

Постигнатите резултати не биха били възможни без помощта и сътрудничеството на моите дълбоко уважаеми колеги:

- проф. Н. Малиновски;
- Проф. М. Петров
- Доц. Р. Томова
- Гл. ас. Х. Кисов
- Ас. Е. Белина
- Техник В. Коцева
- Техник К. Шиндарова
- Целият конструкторски отдел на ИОМТ

На които сърдечно БЛАГОДАРЯ!