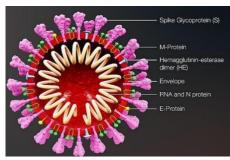
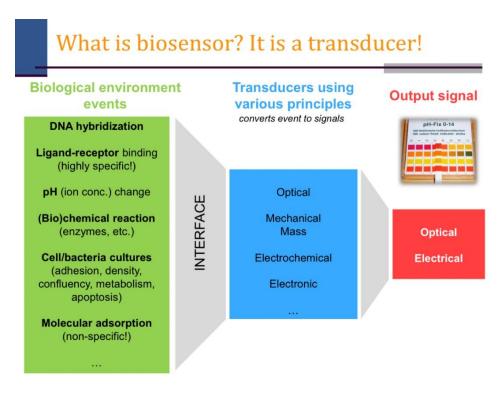
BIOSENZORY

COVID-19 (in 2020)

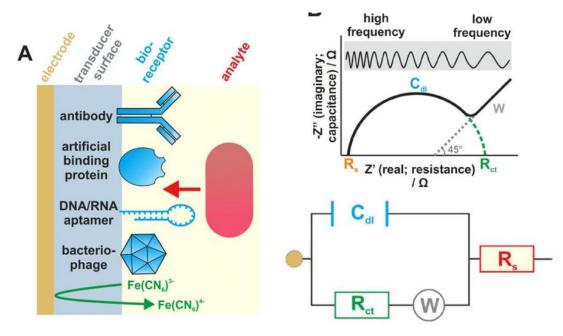
- pozor na označení viru (SARS-CoV-2) vs. nemoci (covid19)
- struktura
 - kulový virus s membránou a proteiny různého typu
 - uvnitř schovaný nosič genetické informace v podobě RNA
- detekce
 - 1) PCR (polymerase chain reaction) test
 - test založen na detekci RNA viru (musíme napřed dosyntetizovat komplementární řetězec -> DNA)
 - řetězová reakce s polymerázou, která namnožuje genetickou informaci viru
 - velmi spolehlivý (pokud se to udělá správně vzhledem k odebrání vstupního vzorku)
 - poměrně pomalý -> cyklování teploty (trvá 1-2 dny) + čeká se na více vzorků
 - princip
 - komponenty: vzorek DNA, nukleotidy, pomocné molekuly (primery), enzym polymeráza,
 chemikálie (buffer = pufr)
 - stále opakujeme dokola cyklus popsaný níže (namnožíme spoustu řetězců) celkem 35
 - 1) denaturace DNA -> získaní oddělených řetězců (t = 95 °C)
 - 2) annealing (navazování primerů na DNA) snížení teploty (t = 55 °C)
 - 3) elongace -> aktivace polymerázy a syntetizace řetězce za primery -> více řetězců DNA
 - 4) přidání fluorescenčních značek (slouží k optické přístrojové detekci pokud je genetická informace viru přítomna, tak je při vhodném ozáření viditelný signál)
 - 2) Antigenní test
 - detekce proteinů na povrchu viru pomocí protimolekul
 - velmi rychlý, ale není tak spolehlivý (20-30 % False-Negative)
 - 3) Nepřímý způsob detekce (Antibody test)
 - funguje na základě tělních protilátek -> pozorujeme, jak tělo reaguje na virovou infekci
 - v protilátkách nelze zachytit počáteční stav infekce (vytvoření protilátek trvá docela dlouho)
 - velmi rychlá detekce, ale není moc relevantní časové zpoždění tvorby protilátek
- CRISPR
 - nástroj na editaci a úpravu genů genetické nůžky –> stříhání, upravování, vkládání DNA





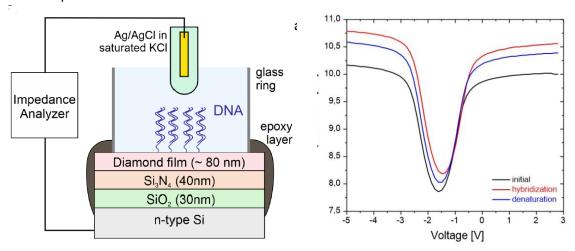
- převaděč signálů z biologického prostředí na námi dobře čitelný signál
- biologické rozhraní
 - DNA hybridizace spojení RNA řetízků –> možnost detekce dědičných chorob (rozdíl ve vazbě nukleotidů)
 - změna pH enzymatické procesy
 - biochemické reakce
 - adheze buněk, bakterií, buněčné kultury změna signálu
 - adsorpce molekul
- převedení
 - optický efekt
 - mechanická změna (např. změna hmotnosti vibračně)
 - elektrochemické procesy
 - elektronické procesy (vodivost, impedance, ...)
- výstupní signál
 - optický
 - využití fluorescenčních značek
 - intenzivně využíván, nevýhodou je, že značky nesvítí věčně
 - elektrický/elektronický
 - využití elektrických nábojů (tranzistor přibydou záporné náboje)
 - menší, velmi citlivý, nepotřebujeme značky pro detekci
- specificita = konkrétnost interakce
 - schopnost testu přesně vybrat případy, u nichž zkoumaný znak nenastává
 - například hybridizace DNA probíhá pouze pro určitou sekvenci
 - matematicky: S = TN / (TN + FP)
- senzitivita = TP / (TP + FN)
- selektivita
 - schopnost nezkresleně stanovit analyt v přítomnosti dalších látek jejichž přítomnost se očekává

- LAB-on-CHIP (pokročilý biosenzor)
 - rychlejší, menší, lepší senzitivita, levnější, přístupnější
 - vzdálená diagnostika, personalizovaná medicína, řešení výzev
- QCM senzory (Quartz Crystal Microbalance)
 - senzory využívající vibrujícího křemenného krystalu (řez správnou krystalografickou rovinou)
 - princip: přiložení střídavého el. proudu -> dojde k rozkmitání krystalu -> navázání látky -> změna hmotnosti -> změna rezonanční frekvence -> snímáme
- Cantilever senzory (pružná raménka)
 - mechanické senzory kalorimetr, polymerové kartáče, mikrovážka, specifické vazby...
 - dochází ke změně frekvence, povrchového napětí, tvaru (ohnutí)
 - výhoda oproti QCM dá se vyrábět mikrotechnologiemi na čipech
- elektrochemické biosenzory
 - mohou se realizovat na čipu miniaturizace je výhodou (nízký proud na pozadí větší citlivost)
 - zlato má vysoké proudy pozadí
 - využití dopovaného diamantu (např. bór) -> široké elektrochemické okno (možnost detekovat velmi malé reakční tiky)
 - enzymatický senzor
 - enzym na povrchu reaguje s analytem -> z analytu vznikají produkty -> změna pH, barvy
 - díky reakcím dochází k přenosu elektronů
 - občas se používá tzv. mediátor napomáhá přenosu elektronu k elektrodě
 - využití při detekci glukosy
- impedanční biosenzory
 - změna impedance na rozhraní, celý děj se odehrává mezi dvěma elektrodami
 - typicky se měří závislost impedance na frekvenci (charakteristika úplnou odezvou Nyquist), která se mění s koncentrací analytu

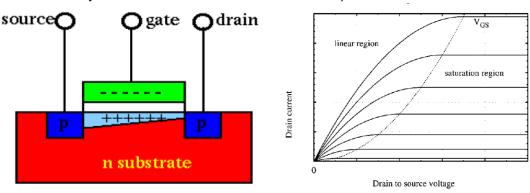


- C_{dl} ... kapacitance mezi analytem a elektrodou, R_{ct} ... vyjadřuje, jak snadno přenesou mediátory elektrony k elektrodě, R_s ... odpor elektrolytu
- zvyšujeme-li objem detekované látky tak se oblouk posouvá (zvyšuje se R_{ct} a posouvá se C_{dl})
- dá se sledovat v reálném čase
- Polní efekt (Field-effect biosenzory)
 - kapacitní senzor elektroda v roztoku, impedanční analyzátor a vrstva s navázanou DNA
 - princip

- hybridizace: testovací ssDNA se zápornými náboji se naváže s komplementární ssDNA -> dojde ke zvýšení záporného náboje na povrchu
- záporné náboje na molekule odpudí elektrony křemíku -> změna kapacity rozhraní a posun napětí



- funguje na bázi elektrostatického efektu -> tranzistor řízený elektrickým polem
 - umožňuje miniaturizaci stačí velmi malé řídící napětí

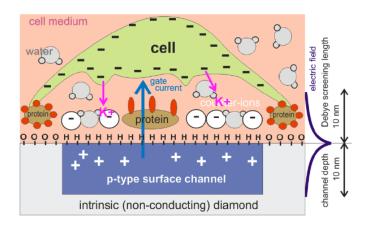


- možnosti použití jako biosenzoru
 - a) na horní elektrodu se naváže DNA, molekuly, ... -> náboj se přenese do tranzistoru
 - b) využití pokročilých materiálů např. diamantu
 - není zde izolační dielektrická vrstva, ale například jen atomy vodíku
 molekuly a buňky se dostanou do větší blízkosti elektrického kanálu
- výhodou je možnost řízení pomocí nanostruktur, navazování dalších molekul...

Materiály pro biosenzory

- běžně: papír, křemík, zlato, celulózové struktury, kovové elektrody, ...
- diamant
 - vlastnosti
 - biokompatibilní, chemicky stabilní, odolný vůči radiaci, opticky transparentní, netoxický, vytváří barevná centra vlastní luminiscence (citlivá na okolní prostředí, výhoda pro optické biosenzory), nízká povrchová reaktivita, široce modifikovatelný, velká citlivost, uměle syntetizovatelný, umíme upravit požadované vlastnosti pomocí přidání příměsí, širokopásmový PV (velký bandgap 5,5 eV)
 - 2D přípovrchová vodivost (jedná se o P typový PV = díry)
 - dojde ke změně rovnováhy mezi elektrolytem a polovodičem -> změna el. vlastností
 - povrchový dipól má parciální kladný náboj, vakuová hladina pod vodivostním pásem PV
 vzniká negativní elektronová aktivita

- rozdíly energií vedou k přechodu elektronů do elektrolytu –
 zbydou díry –> stanovení rovnováhy
- interakce je citlivá na změny pH (využití v IS-FETs a Chem-FETs) a také molekuly plynu
- použití: impedanční senzory, senzory na bází elektrostatického polního efektu, QCM senzory, akustické senzory, fotonické senzorové struktury, tkáňové inženýrství...
- příprava nanokrystalických vrstev diamantu s elektronickou kvalitou
 - nutné vysoké množství energie pro mikrovlny –
 potřebujeme aktivovat metan a vodík k nárůstu diamantu (vytváříme plasmu)
 - může se přitavit na různé podložky (silikon, sklo, kov, plast)
 - schopnost výroby na velké plochy, nárůst možný také na specificky vybraných oblastech
- může dojít k ovlivnění biologického prostředí
 - důvodem je hydrofóbnost a hydrofilnost
- model
 - vodivost se vystavením proteinů na přidaném hradlovém napětí snižuje (není to polní efekt)
 - proteiny odpudí elektrony -> nalepí se hydrofobní interakcí a změní rovnováhu na rozhraní
 - buňka v blízkosti diamantu vypouští nějaké své ionty (aby vyrovnala rovnováhu)
 - -> kompenzace náboje a zvýšení hradlových proudů (určení adherentnosti buňky)
 - a) hradlové proudy jsou citlivé na morfologii buněk které adherují –> detekce radiačních efektů na buněčnou kulturu
 - b) neadherentní buňky -> hradlové potenciály odráží metabolickou aktivitu blízkých buněk

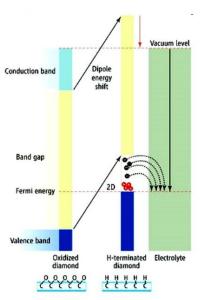


nanomateriály

- využítí v běžném životě: barevné sklo, elektronika, katalyzátory, barvy a laky, palivové články, baterie, sluneční články, maziva (s nanodiamanty – prodlužují životnost motorů), filtry, ochrana potravin, funkční textil, nátěry fasád
 - medicína
 - cílené lokální podávání léků (lipidová membrána cílené doručení do specifikované oblasti, rozpuštění membrány až při změně pH v prostředí např. v rakovinných buňkách)
 - vývoj nových léků (urychlení, snížení nákladů)
 - tkáňové inženýrství (využití jako předstruktury opravy tkáně, náhrady orgánů, kostní implantáty)
 - podklad pro buňky při diferenciaci
 - diagnostika a zobrazování (zlepšení kontrastu, detekce nemocí)

- kosmetika

ochranné krémy proti slunci s mikronizovanými anorganickými částečkami (nanomateriály by mohly pronikat do buněk)

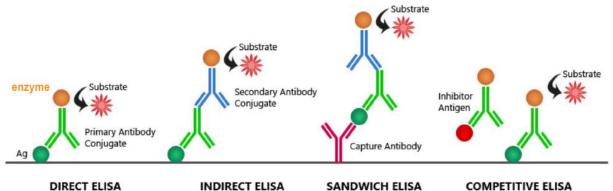


- plasmonický efekt
 - elektronový plyn absorbuje světlo o určité vlnové délce
 - například růžová barva částeček zlata (ne žlutá)
- malé rozměry (typicky pod 100 nm)
 - zvětšení povrchu, zlepšení stávající funkce, dodání nové funkce, větší výkonnost, citlivost, nižší cena, diagnostika na dálku
 - změna vlastností (velká role lokálních chemických, fyzikálních a biologických interakcí)
 - a) elektronické
 - změna pásové struktury
 - změna hustoty elektronových stavů
 - b) optické
 - optické přechody
 - křemíkové nanokrystalky
 - běžně je křemík v těle obalen biomolekulami, při strukturaci biodegradibilní
 - nanostruktury z křemíku je tělo schopné nanokřemík transformovat na oxid křemičitý -> odbouratelný materiál
 - změna vzniká díky prostorové lokalizaci nosičů náboje za normálních okolností křemík nemá fotoluminiscenci –> jakmile se dostanu pod 5 nm, začne se zužovat zakázaný pás –> začíná docházet ke kvazi-přímých přechodům – nepotřebují fonon (vibrace v krystalické mřížce)
 - se změnou velikosti krystalku dochází ke změně optického spektra
 - využití: značení (QD-FRET = kvantové tečky)
 - lehce naladitelná barva (také ve viditelném spektru), mnohem stabilnější (oproti organickým značkám)
 - rezonanční přenos energie (FRET rezonanční značka)
 - funkcionalizace povrchu pomocí polymerů
 - senzitivní detekce enzymů, DNA, protilátek, ...
- práce s nanomateriály
 - fabrikace (získání nano)
 - manipulace (zacházení s nano)
 - komunikace (propojení s nano)
 - uspořádávací procesy
 - bottom-up (= samouspořádání)
 - použití vyextrahovaných hotových nanomateriálů -> chceme poskládat senzorový systém
 - také možnost řízeného samouspořádávání molekul
 - top-down (= litografické metody)
 - opracovávání materiálu
 - metody: optické, elektronové, tiskové, lokální sondy
- kde získáme nanostruktury?
 - 1) nalezení v přírodě
 - DNA, lipidová membrána, motýlí křídla (barva způsobená nanostrukturou, na které se mění vlnová délka), prach, pylová zrna, vlna, membrány, póry, ...
 - 2) přímá syntéza / růstem
 - mokrá chemie makromolekuly, nanočástice, samouspořádací procesy
 - výbuch laserová ablace, exploze v reaktoru, např. nanodiamanty
 - výboj
 - obloukový výboj uhlíkové elektrody s dostatečným napětím vedou k odbourání uhlíku do trubiček a cibulek – další třídění podle hmotnosti
 - plazmový výboj (rozklad plynů v plazmě a opětovná syntéza)
 - molekulární epitaxe zahříváním se vytváří svazek molekul
 - kvantové struktury v PV průmyslu

- 3) strukturování objemového materiálu
 - mechanická dezintegrace
 - drcení
 - mletí
 - můžeme přidat keramické mikrokuličky (<100 nm)
 - delaminace
 - mechanická litografie razítkování, moldování, odškrabávání povrchových molekul pomocí mikroskopu atomárních sil (neprozkoumáváme ale rejeme)
 - chemické leptání
 - mokré
 - vznik porézního křemíku
 - elektrochemické leptání kyselinou (preferenční leptání molekul s hranicemi zrn -> vznik nanostruktur)
 - anizotropní leptání (různě rychlé leptání jednotlivých krystalografických rovin) x izotropní leptání (podleptává masku)
 - hliník
 - kyselé prostředí vede na oxidaci -> Al₂O₃-> hliníkové nanotrubičky
 - suché
 - RIE (= suché reaktivní iontové leptání)
 - diamant pokryjeme tenkou kovovou vrstvou, po zahřátí díky špatné smáčivosti diamantu vytváří ostrůvky –> pravidelná maska (používáme pro další leptání diamantu – ochrání oblasti, které zakrývá, např. Ni (musíme na konci odleptat), Au, Al)
 - plasma směrově pomáhá leptat materiál pokud je přimíchán vhodný plyn (kyslík, sloučeniny F, S, ...)
 - optická litografie
 - substrát, film (chceme leptat), na povrchu fotocitlivý polymer
 - přes masku osvítíme fotocitlivý polymer (rozpadnutí polymeru)
 - zbylý polymer tvoří masku pro leptání filmu
 - FIB (= leptání pomocí iontových svazků)
 - ionty získají energii vyrážet materiál (větší hmotnost než elektrony) -> lze strukturovat
 - pomalé, automatizované
 - nutnost hledět na čistotu může dojít k promíchání, zabudování iontů...
- skládání
 - využití sil a interakci ovlivňujících uspořádání hmoty
 - elektrostatická síla, dipólové síly (Van der Waalsovy síly), magnetická síla, chemické vazby,
 elektromagnetické interakce
 smáčivost a povrchové napětí, mechanické interakce (geometrie, napětí...)

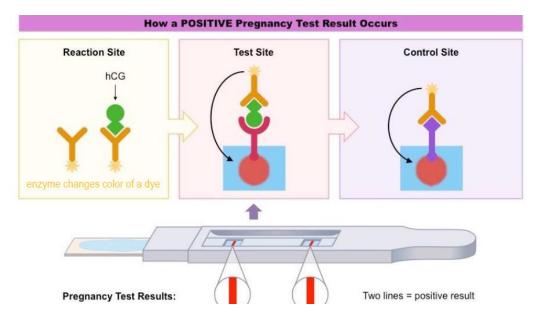
ELISA (Enzymed-Linked Immunosorbent Assay)

- využití specifičnosti protilátky v kombinaci s citlivostí enzymů -> navazuje se na antigen na povrchu viru
- princip (Direct ELISA)
 - 1) přikápnutí enzymatického protilátkového komplexu
 - 2) uchycení komplexu k antigenu (pokud tam je) -> vznik konjugátu
 - 3) produkce barvy
- vylepšení
 - využití sekundární protilátky (Indirect ELISA) -> lepší specificita, levnější a rychlejší (enzym už je svázaný s protilátkou - jen se zmodifikuje tak, aby reagoval s primární protilátkou)
 - protilátky se pasivují inhibitorem



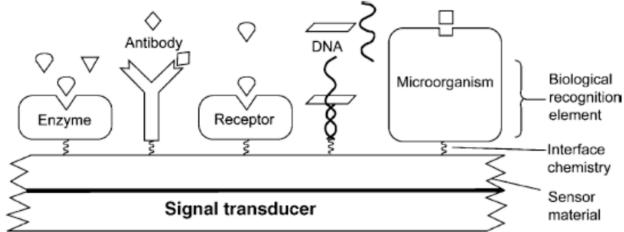
antigen (Ag) immobilization not specific though

- těhotenský test
 - funguje na bázi ELISA
 - reakce enzymu a protilátky s hormonem (Test Site)
 - a) hormon v moči není
 - -> protilátka neobsazená hormonem nenaváže se na vychytávající protilátku
 - b) hormon v moči je
 - protilátka obsazená hormonem naváže se na vychytávající protilátku chemické zpracování substrátu a generování barvy

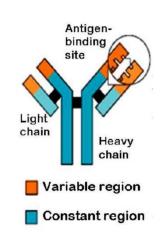


BIORECEPTORY

- biologická složka, na kterou se váže cílový analyt to, co chceme v prostředí detekovat
- typická funkce –> něco jako klíč a zámek
 - receptor = zámek, do kterého zapadne molekula = klíč -> dojde k dočasné/trvalé změně
 - zapadnutí funguje na základě vodíkových vazeb, Van der Wallsových sil, hydrofobních interakcí...
- příklad různých druhů bioreceptorů



- dělení
 - 1) katalytické bioreceptory
 - rozpoznávací prvek je enzym
 - enzym konvertuje/zpracovává vstupní látku na produkt
 - převaděč poté ukazuje změny v koncentraci substrátu, produktu, nebo změny prostředí (pH)
 - 2) afinitní bioreceptory
 - biologický receptor se specificky váže a vytváří tzv. komplex
 - převaděč může detekovat vytvořený komplex
- katalytické biosenzory
 - prvky, které umožňují sledovat kinetiku reakcí
 - veličiny
 - rychlost tvorby produktu
 - rychlost zpracování substrátu
 - jak je reakce působením dalších látek potlačena
 - enzymy nejsou jediné biosenzory -> dále mikroorganismy, organely, tkáně
- afinitní biosenzory
 - důležitá je specifická interakce hledané látky s daným afinitním biosenzorem
 - ireversibilní reakce dojde k vytvoření stabilního komplexu, který může převaděč detekovat
 - receptory
 - protilátkové pevně se váže s antigenem a vytvoří komplex pro detekci
 - hormonální fungují i na principu protilátek
 - nukleové kyseliny
 - př. DNA chip: hybridizací ssDNA sondy a ssDNA vzorku se snižuje náboj u převaděče -> detekuje elektronicky vznik vazby a oznamuje, že jsme našli danou sekvenci DNA
- protilátky
 - proteiny, které využívají živé organismy pro obranu, ale lze využít i pro cílené detekce
 - vazba není kovalentní jde o vodíkové můstky, van der Waalsovy síly, hydrofobní interakce...
 - typická schematická struktura (Y-tvar)





- na konci klíčová část –> proměnlivá oblast přizpůsobující se hledané látce (antigenu)
 - mění se díky tomu, že se protilátka učí na přítomné antigeny v organismu, nebo ji naučíme mi na danou protilátku cíleně
- omezení
 - funkce není reversibilní vazba se velmi těžko přerušuje
 - výhoda: rychlost a možné nasazení přímo na místě

enzymy

- proteiny, které mají vysokou katalytickou aktivitu a vysokou selektivitu
 - -> fungují jako biologické katalyzátory snižují bariéru pro reakci přechodu ze substrátu na produkt
- složení: C, H, O, N, často i S
- využívány v detekčních assayích aby zjišťovaly koncetraci různých analytů
 - -> díky reaktivní funkci velmi dobře umí detekovat jak koncetraci, tak kinetiku celé věci
- jak využít enzym jako detekční prvek
 - 1. změna pH (při reakci dochází ke vzniku kyseliny)
 - 2. změna koncentrace kyslíku detekce spotřeby vstupních látek (pomocí barevného značení)
 - 3. sledování produkce peroxidu vodíku (H₂O₂)
- př. glukózový senzor používající glukóza oxidázu (GOD)
 - glukóza + O₂ + H₂O ----> Kyselina glukonová + H₂O₂
 - pozn. může dojít také k uvolnění tepla může být zajímavé pro detekci
- výhody a nevýhody
 - výhoda: specificita, rychlá odezva (jednodušší interakce s analytem)
 - nevýhody: vyšší náklady, nestabilní vůči teplotě a okolí, častá nutnost převaděče ovlivnění aktivity

biomimetické receptory

- inspirujeme se biologií a snažíme se receptory vyrobit podobně a čistě uměle
 - inženýrsky sestavíme na míru
 - imprinting vytvoříme receptor pro danou látku jejím otiskem do polymeru
- 1) aptamery (uměle vytvářené molekuly)
 - umělé krátké řetízky nukleotidů (= oligonukleotidy)
 - využíváme to, že molekula oligonukleotidu může mít různý tvar -> výhoda spočívá v tom, že se může vázat na proteiny, malé molekuly, kovové ionty...
 - výhoda: specificita dokážou rozlišit i různé formy proteinů
 - metoda
 - připravíme si synteticky různé molekuly na bázi jednořetízkových RNA/DNA
 - hledáme ty, které budou dobře interagovat testujeme na substrátu, se kterým chceme interagovat –> ty, které se dobře vážou, zůstanou zachyceny (zbytek omyjeme)
 - denaturací získáme směs, která bude více specificky interagovat s požadovanou látkou

porovnání s protilátkou

	Aptamery	Protilátkty
Produkce	Levné, jednoduché (chemická	Finančně náročné,
	syntéza)	komplikované
čas přípravy	8 týdnů	6 měsíců
stabilita	Velmi stabilní, uchování po dlouhou	Omezená funkce aktivity (životnost)
	dobu	
assay	Přímá interakce	Část nutná sekundární protilátka
chem. modifikace	Jednoduchá	Složitá
rozměry	Malé – dobře pronikají přes	Velké (až 5x větší)
	membrány	

- 2) Molecularly Imprinted Polymers (MIPs)
 - metoda = velmi jednoduchá polymerní chemie
 - vezmeme látku, kterou chceme smícháme ji s monomery (obalí ji) –> vytvoření polymeru

- -> poté postupně promyjeme v polymeru zůstane její tvar, který dokáže látku podobného typu detekovat
- k uvolnění/omytí se používá nějaký detergent
- pozn. otiskovaná látka může být i taková, která je hledané látce tvarově blízká

ELEKTROCHEMICKÉ METODY

- kombinace elektřiny a elektronů s chemickými procesy
- př. bateriový článek
 - princip
 - dochází k elchem. reakcím s přenosem náboje
 - spontánní reakce vložením různých materiálů –> nerovnováha –> přenos elektronů do elektrody
- polarografie
 - elektrochemická metoda sloužící k určování výskytu a koncentrace látek v roztoku a ke zkoumání jejich reakcí -> tedy k chemické analýze
 - základní měřící prvek voltametrická cella
 - tříelektrodový systém
 - referenční elektroda (anoda) ideální polarizovalená
 - pracovní elektroda (katoda) z elektrody kape rtuť rychlostí kapka za 5 s, na kapce vzniká elektrická dvojvrstva, ideální nepolarizovatelná
 - přídavná elektroda odvádí proud, aby neovlivňoval referenční elektrodu, ideální nepolarizovatelná
 - Zvyšováním potenciálu mezi katodou a anodou se vylučují na katodě ionty a roste proud
- fungování elektrochemie
 - dynamický systém -> záleží, jak rychle měním napětí
 - roztok pomalejší difuze látek v roztoku (pohyblivost iontů a látek)
 - rozhraní povrchu elektrody a roztoku adsorpce (přitahování) různých molekul
 - Nernstova rovnice
 - vztahuje koncetraci přítomných látek k napětí na elektrodě rozdíl potenciálů
 - změnou potenciálu na elektrodě dochází k řízení redoxních páru

$$E = E^0 - \frac{RT}{nF} ln \frac{c_R^0}{c_O^0}$$

jestliže je elektronový proces rychlý ve srovnání s dalšími procesy, tak je reakce je reversibilní -> rozdíl peaků odpovídá napřímo úměrně Faradayově konstantě

$$\Delta E_p = \left| E_{pa} - E_{pc} \right| = 2.303 \, RT/nF$$

pro reverzibilní reakce je rozdíl potenciálů ~ 60 mV na jeden elektron

- Cottrellova rovnice
 - Pro jednoduchou redoxní reakci bere v úvahu difúzi -> proud řízený difúzí
 - změřený proud závisí na rychlosti, se kterou analyt difunduje k elektrodě
 - v případě plošné elektrody platí:

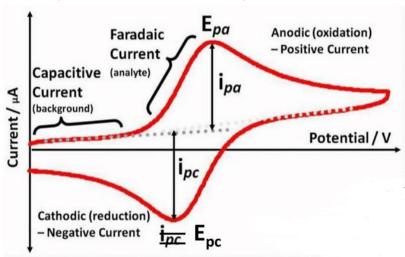
$$\dot{u}(t) = nFACo\sqrt{\frac{D}{\pi t}}$$

i = current [A] $i(t) = nFACo\sqrt{\frac{D}{\pi t}}$ n = number of electrons(to reduce/oxidize one molecule of analyte) F = Faraday constant 96485 C/mol A = area of the (planar) electrode [cm2]

 C_0 = initial concentration of analyte [mol/cm3] D = diffusion coefficient for analyte [cm2/s] t = time [s]

- plošná elektroda lineární difúze
- zmenšení elektrody (<25 um) radiální difúze –> zúží C-V křivku
- mikroelektrodové pole (překrývání okrajů) -> dostaneme zpět známou C-V křivku
- ultramikroelektrody (UME)
 - využití v biosenzorech
 - kapacitní nabíjecí proudy jsou malé -> nízké kapacitní pozadí
 - malý spád potenciálů (to o co přijdeme v roztoku)

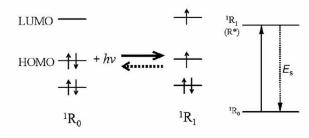
- stabilní difuzní proudy, lehčí difundace látky kolem elektrody
- nevýhody proudy jsou velmi malé -> řešením ale je vytvořit pole UME (ultramicroelectrodes)
 - = zvýšení užitečného signálu
 - použitím UME zlepšujeme limit detekce (LoD) a citlivost
 - používané pro detekci DNA
- tvar:
 - mikrodisky
 - mikropásky
 - 3D nanotyčinky větší změna difúzního profilu, lepší navázání enzymů více prostoru (méně omezená aktivita)
- Příklady
 - Imunosenzor na mikroelektrody připojíme protilátky pozorujeme po navázání bakterií zvýšenou impedanci (pokles proudu)
 - Uhlíkové nanotuby narostlé na křemíkovém čipu
- způsob detekce
 - 1) cyklická voltametrická křivka (CV)
 - zvyšování napětí -> zvyšování proudu (dynamický systém -> záleží, jak rychle měním napětí)
 - popis
 - počátek: kapacitní proud pozadí (náboj na rozhraní)
 - stoupání křivky: dochází k redoxním reakcím na povrchu
 - reakční proud (ipa): rozdíl anodického peaku (Epa) a kapacitního proudu
 - zvýšení potenciálu: pozastavení redoxní reakce -> energetické hladiny v redoxním páru se dostanou daleko od potenciálu elektrody - nedochází již k přenosu náboje
 - snižování potenciálu: hystereze -> využití opačné části reakce
 - reakční proud (ipc): rozdíl katodického peaku (Epc) a kapacitního proudu



- vzdálenost a přítomnost peaků je jeden z parametrů, který se v elektrochemii určuje
 - pozn. diamant malé proudy v pozadí –> i malý reakční peak je možné detekovat
- 2) diferenční voltametrická křivka (DPV)
 - napětí přikládáme pulzně
 - jedná se o derivaci cyklické voltametrické křivky -> zjistíme, kde přesně je přítomen reakční peak
 - řada ovlivnitelných parametrů výška pulzu, trvání pulzu...
- 3) chronoamperometrie / chronovoltametrie
 - měříme v čase
 - při konstantním napětí proměřujeme změny proudu
 - při konstantním proudu sledujeme změny napětí
 - ukazuje průběh reakce v čase
- 4) čtvercová voltametrie (SWV) podobné DPV
- senzor glukózy

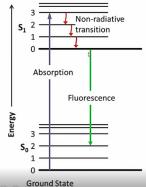
- A) enzymatický glukózový senzor
 - 1. glukóza je zpracována enzymem glukóza oxidáza
 - Glukóza + kyslík + voda → glukonová kyselina + peroxid vodíku
 - Lze detekovat změnu pH, spotřebu kyslíku, produkci H₂O₂
 - nevýhoda nutnost vzácných kovů pro detekci H₂O₂, detekce reakce je relativně pomalá
 - 2. přímá reakce
 - uvolněný elektron se snažíme detekovat přímo
 - nevýhoda enzym musí být v blízkosti elektrody
 - 3. použití redoxních mediátorů
 - mediátor pomáhá k přenesení elektronu -> enzym nemusí být přímo na elektrodě
- B) neenzymatický glukózový senzor
 - molekula cukru zinteraguje přímo s povrchem -> myšlenka je, že jen přímá přítomnost molekuly cukru by vedla k interakci (ne enzym)
 - jak to provést bez větší přítomnosti katalyzátorů? -> řešení: anorganický systém grafén
 - vlastnosti grafénu:
 - přechází z P-typové vodivosti do N-typové dle polarizace
 - není to typický polovodič nemá zakázaný pás
 - chemicky inertní těžká modifikace bez dodání větší energie
 - biofunkcionalizace grafénu
 - 1) nekovalentní grafén-oxid
 - grafén není na povrch nanesen přímo jedná se o malé vločky v roztoku
 - 2) kovalentní
 - dostat se na grafén přímo chemickou vazbou -> narušení elektronové struktury
 - metody produkce grafénu
 - 1) mechanická
 - příprava synteticky pomocí depozice z chemických par -> odloupávání
 - výhody
 - lokálně dostaneme velmi pěkně uspořádanou strukturu málo defektů
 - nevýhody
 - hydrofobní
 - pomalá výroba
 - 2) chemická (GONR graphene oxide nanoribbons)
 - rozkrajování nanotrubiček chemicky rozpojím -> často vede k oxidaci vznik grafén-oxidu
 - výhody
 - hydrofilní lehčeji se dostane do roztoku
 - rychlá výroba
 - nevýhody
 - může vznikat spoustu defektů děr, zdvojených částí...
 - nutná chemická redukce v případě, že nechceme oxidové skupiny
 - pozn. samotný grafén-oxid nestačí -> poskytnutí reakčních míst
 - interakce se zlatými nanočásticemi
 - výhodou by měla být výborná katalytická aktivita zlatých nanočástic ve spojitosti s grafénem
 - zlaté částečky by měly sloužit jako mikroelektrody
 - shrnutí
 - samostatný grafén či zlato -> odezva není příliš velká
 - nanočástice zlata -> o mnoho řádu výraznější odezva
 - grafén-oxid a nanočástice zlata -> pozdvihne odezvu ještě výše
 - vyšší hustota proudu
 - zvětšení plochy reakce (nanostrukturování)
 - podpoření nanokinetiky

- elektrochemiluminiscence (ECL)
 - luminiscence
 - dodáme energii k vybuzení excitovaného stavu zpětný přechod zapříčiní uvolnění energie v podobě záření
 - typy luminiscence
 - a) fotoluminiscence
 - dochází k excitaci látek a sloučenin materiálu pomocí světla
 - mechanismus fotoluminiscence (zjednodušené schéma)
 - orbitaly:
 - HOMO nejvyšší obsazený molekulární orbital
 - LUMO nejnižší neobsazený molekulární orbital

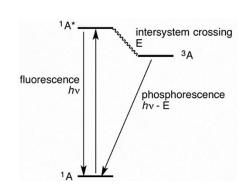


(Ground State) (Excited State)

- Jablonski diagram
 - singletní proces
 - větší množství energie se typicky nevyzáří rovnou -> dochází k nezářivým přechodům na nižší hladiny - až ze základní hladiny se energie uvolní a vyzáří
 - energie se nemusí opět vyzářit do základní hladiny vyzáří se do tzv.
 vibračních hladin neradiačním přesunem
 - tripletní proces = fosforescence
 - mnohem pomalejší proces vydrží mnohem déle



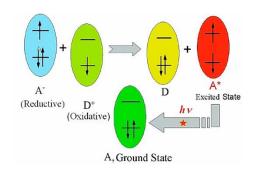
singletní proces



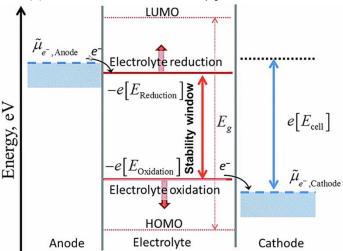
tripletní proces

b) chemiluminiscence

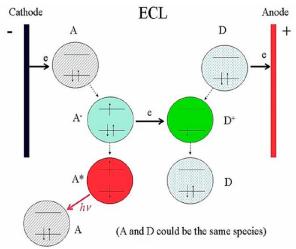
- k excitaci dochází pomocí chemické reakce
- energetické schéma
 - redukční část dává elektron
 - oxidační část ráda přijímá elektron
- luminol
 - klasická chemiluminiscenční látka
 - smícháním s peroxidem dojde k vytvoření excitovaného stavu a následnou deexcitací na základní stav dojde k vyzáření světla



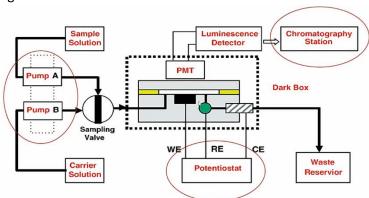
- nutná podpora katalyzátoru
 - např. forenzní železo v hemoglobinu pomáhá reakci
- c) elektroluminiscence
 - k excitaci dodáváme elektrony přímo elektrickým proudem (např. diody)
- d) elektrochemiluminiscence
 - kombinujeme elektrický proud s chemií –> proudem podpoříme chemickou excitaci
- e) další
 - radiochemiluminiscence radiačně indukované chemické excitace
 - lyoluminiscence rozpouštění
 - sonoluminiscence energie dodána např, ultrazvukem
- příklady LED diody, zářivky (fluorescenční lampy), QD displeje, disconáramky
 - použití pro biosenzory lab-on-chip
 - fotodiody integrované do čipu + mikrofluidní kanál
 - můžeme detekovat např. mycotoxin (problém v potravinách)
 - v případě kontaminace dojde k obsazení protilátek a nelze navázat komplexy nesoucí flourofol – sledujeme pokles luminiscence
- pravidla absorpce a fluorescence
 - absorpce typicky při vyšších energiích
 - fluorescence typicky při nižších energiích
 - Franck-Condon princip -> přechod může být jen vertikální & Kasha's pravidlo -> relaxace
 - v případě posunutého profilu (např. polovodiče) nemůže jít přechod do minima přímo – jde rovně a pak se deexcitací dostane na minimum
 - -> to samé platí pro vyzáření
- mechanismus elektrochemiluminiscence
 - elektřina dodává energii, která pomáhá chemické reakci
 - energetické hladiny
 - elektrochemický potenciál (čárkované linie $\tilde{\mu}_e$)



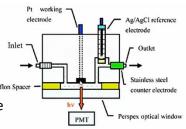
 přikládáním napětí můžeme posunout hladiny redukce a oxidace vůči elektrochemickému potenciálu -> nejvýhodnější přenos: hladiny v jedné rovině v systému – dodáme elektron z katody / odebereme elektron anodou



- čím je elektrochemiluminiscence užitečná pro biosenzorické aplikace
 - vysoce citlivá metoda a současně velmi selektivní -> hodně využívaná v klinických laboratořích
 - kombinuje
 - výhody chemiluminiscence nemá pozadí, světlo se generuje chemickou reakcí
 - výhody elektroluminiscence umožňuje nám chemickou reakci řídit a studovat
 - hlavní výhody
 - jednoduché optické uspořádání není nutné integrovat žádné osvětlení
 - jednoduché ovládání v čase i prostoru vysoká selektivita
- technické uspořádání
 - nějaké okénko abychom se mohli podívat na luminiscenci (běžně sklo)
 - centrální část
 - vstup a výstup tekutiny pro sledování nějakých reakcí
 - PMT fotonásobič k detekci světla
 - referenční elektroda zajišťuje správný potenciál pro řízení reakce
 - kompletnější schéma
 - pumpy na dodávání roztoku
 - vstřikují zdroj vzorku smíchaný s nosným roztokem
 - potenciostat řídí reakci, monitoring
 - chromatograf sledování luminiscence v čase



- příklad: enzymatický senzor urey (studie)
 - využívá luminol, ale svícení řídí přes napětí na elektrodě detekce pomocí elektrochemiluminiscence
 - urea (močovina)
 - součást biologického metabolismu v živých organismech
 - při metabolismu aminokyselin vzniká amoniak (toxický) -> převádí se pomocí urea cyklu na ureu - látka, která již není tak toxická a může putovat krevním řečištěm
 - putuje až do ledvin, kde se odloučí od krve a vyloučí se do moči
 - využití
 - hladina urey odráží zdraví organismu



- detekce kvalitního mléka u krav
- princip
 - detekce pomocí změny pH využití ureázy pro tvorbu amoniaku, který změní kyselost prostředí $NH_2CONH_2 + H_2O$ ---ureáza----> $2NH_3 + CO_2$
 - navážeme modifikovaný luminol na zlaté nanočástice -> změna pH pomocí ureázy zapříčiní přechod do excitovaného stavu -> vede k vyzáření
 - celkový průběh
 - 1) smícháme různé koncentrace urey s PBS (pufr, řídí základní pH)
 - 2) krátce inkubujeme
 - 3) nakápneme na modifikovaný senzor
 - 4) proměříme cyklickou voltametrii a detekčním systémem změříme luminiscenci
 - se zvyšující se koncentrací urey roste intenzita luminiscence (ne zcela lineárně)
- důvod zlatých nanočástic
 - má velmi pozitivní efekt na chemiluminiscenci -> v závislosti na velikosti nanočástic dochází ke zvyšování intenzity chemiluminiscence
- důvod modifikovaného luminolu (ABEI)
 - luminol je nastaven uhlíkovým řetězcem ukončeným NH₂ (aminoskupinou) -> umožní lepší vazbu k chemické nanočástici - dobře reaguje se zlatou nanočásticí
- navíc přidány ještě grafén-oxidové nanoproužky (GONR)
 - výhoda spočívá v lepší struktuře
 - větší povrch, než má samotná elektroda
 - lépe se vážou zlaté nanočástice
 - lehčí elektrochemie větší intenzita
- ABEI + GONR + AuNP
 - vyšší ECL emise
 - rychlejší kinetika
 - vhodný fyziologický rozsah detekce
 - vyšší katalytická aktivita
 - zavedený mechanismus v medicíně

WEARABLE TECHNOLOGY /nositelná technologie/

- motivace
 - menší, levnější, rychlejší hardware snadná přenositelnost
 - větší rozvoj lokalizačních dat triangulace telefonních sítí, GPS, minisatelity...
 - úložiště dat
- parametry a způsoby měření
 - 1) EMG
 - elektrody přímo přilepené na kůži
 - měří elektrickou aktivitu svalů
 - možné také využít pro aktuaci svalů rehabilitace
 - 2) EEG
 - elektrody na skalpu
 - monitorace aktivity mozku
 - 3) pohyb, pád, aktivita
 - akcelerometr (v podobě MEMs)
 - monitorace gest a pohybů
 - 4) dýchací aktivita
 - piezoelektrický/piezorezistivní senzor
 - monitoring nádechů a výdechů za jednotku času
 - 5) glukóza
 - glukometr
 - monitoring koncentrace glukózy v krvi
 - 6) saturace kyslíku
 - pulzní oxymetr
 - měříme množství poměr okysličeného hemoglobinu v krvi
- vytvoření nositelného flexibilního senzoru
 - využítí: piezorezistence, kapacitance, tranzistorů řízených elektrickým polem FET
 - potřebujeme
 - 1) substrát
 - pravděpodobně polymerní folie
 - možné využít také dostatečné malé a tenké křemíkové/zlaté proužky
 - 2) vodivé elektrody
 - měly by být odolné vůči napínání a prostředí
 - nejjednodušší trik různě zvlněné (např. jako harmonika)
 - nanomateriály by v tomto případě mohly být velmi užitečné
 - 3) senzorový materiál
 - polymery a nanovlákna vysoce laditelné
 - pozn. Youngův modul je srovnatelný s Youngovým modulem kůže stahuje se podobně
 - 4) materiály na pouzdro/rozhraní
 - piezoelektrický princip
 - externím tlakem/pnutím dochází k nabíjení piezoelektrického materiálu -> vytvořené elektrické náboje je poté možné detekovat
 - výhody:
 - ideální integrovatelnost s flexibilními substráty
 - vysoká citlivost, opakovatelnost a odolnost
 - nízký detekční limit
 - velmi rychlé
 - nízká spotřeba energie
 - kapacitní princip
 - vyhází z toho, že kapacita je přes permitivitu úměrná ploše a vzdálenosti ($C = \varepsilon \frac{S}{d}$)
 - odezva nebývá ideální, nedají se příliš miniaturizovat

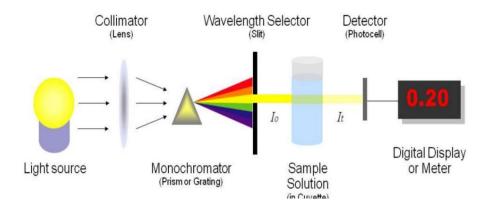
- tranzistory řízené elektrickým polem (FET)
 - změna kapacity a náboje se přenáší na hradlovou elektrodu tranzistoru
 - tranzistor funguje jako inherentní zesilovač
- př. subretinální implantát
 - náhrada poškozené či zdegradované sítnice
 - nosným základem je polymidová fólie a anorganický integrovaný čip
 - funkce
 - nahrazuje původní buňky oční sítnice sloužící k detekci světla fotodiodami (velké množství mikroskopických diod + zesilovačů signálu)
 - stimulační elektroda napojena na oční nerv –> potvrzuje a přenáší signál na budící nerv
- př. kolorimetrický glukózový senzor
 - pot se vede zvlněnými kanálky na reakční místa např. pH, laktát, chloridy, glukóza...
 - výhoda nepotřebujeme žádnou elektřinu, levné –> jen nálepka
 - nevýhoda jednorázová detekce, není tak přesné
- limitace
 - bezpečnost
 - spotřeba energie problém s dodáním dostatku energie
 - ochrana dat

OPTICKÉ METODY PRO BIOSENZORY – FLUORESCENCE A KOLORIMETRIE

- kolorimetrie

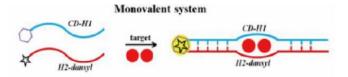
- umožňuje nám určit koncentrace zabarvených sloučenin v roztoku měříme absorbanci (na specifické vlnové délce nebo přes celé spektrum)
- rychlé měření: provádíme na konkrétní vlnové délce
- komplikovanější: umožňuje proměřit celé spektrum (spíše spektrofotometrie)
- základní princip
 - ze zdroje světla (může být i laser) nám vystupuje konkrétní vlnová délka, která prochází nádobou s roztokem a dopadá na detektor (fotobuňka/fotodioda/fotonásobič/CCD čip...)
 - měří se intenzita na dané vlnové délce (Lambert-Beerův zákon)

$$Abs = -log \left(\frac{I}{I_0}\right) = \varepsilon * c * l \dots$$
 absorpční koeficient, koncentrace, tloušťka kyvety

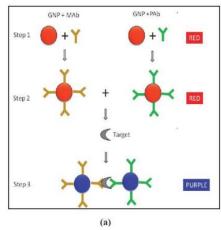


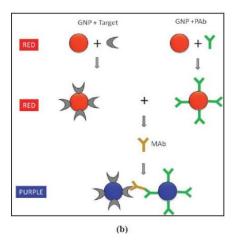
- podmínky kolorimetrie
 - barva musí být stabilní (může na vzduchu vybledávat)
 - intenzita osvětlení stejná (může docházet k vlivu osvětlení)
 - nutnost dostatečně intenzivního roztoku i v malém množství
 - roztok nesmí být zakalený aby rozptyl světla nezabránil dobré detekci
 - nutnost reprodukovatelnosti kontrola závislosti na pH, teplotu...
 - nutnost specificity barva by měla odpovídat dané detekované látce
 - vždy ověřit Beerův zákon
 - intenzita barvy by měla být úměrná logaritmu koncentrace
 - logaritmem porovnáváme hodnotu bez útlumu s tím, kolik projde při dané koncentraci
 - útlum v materiálu probíhá exponenciálně, zlogaritmováním získáme lineární závislost
- př. detekce Tat proteinu biomarker HIV-1
 - první protein syntetizovaný při nákaze
 - detekce reakce mezi HIV Tat proteinem a split aptamerem s využitím zlatých nanočástic
 - zlaté nanočástice
 - důvodem je plasmonický efekt vysoká absorpce a rozptyl světla
 - pozn. plasmon = kolektivní vibrace vodivostních elektronů při povrchu materiálu
 - frekvence záleží na velikosti, materiálu, tvaru, index lomu, dielektrické konstantě...
 - roztok zlatých nanočástic má růžovo-červenou barvu, jelikož zlato dobře absorbuje v zelené oblasti – procházející světlo odfiltruje zelenou složku a dostaneme rubínové zabarvení
 - titrace zlatých nanočástic
 - přidáním NaCl (0 500 mM) dochází k zabarvení až do fialova
 - sůl sníží odpuzení částic v roztoku a dojde k agregaci získáme větší objekty
 - dojde ke změně plasmonické frekvence = změna barvy do fialova

- split aptamery
 - jedná se o rozdělený aptamer
 - velkou výhodou je vázání nízkomolekulárních cílových molekul
 - princip: rozdělené řetízky DNA, které mezi sebe zabalí detekovanou látku

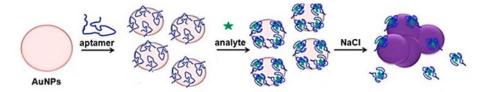


- dva možné mechanismy
 - a) antibody binding, target link
 - step 1 + 2: navázání zlatých nanočástic na protilátky na Tat protein = GNP+MAb
 - step 3: přidání Tat proteinu, navázání přes MAb -> změna plasmonický frekvence, změna barvy
 - b) target binding, antibody link
 - step 1 + 2: navázání Tat proteinu na zlaté nanočástice a navázání zlaté nanočástice s protilátkou
 - step 3: přidání protilátky na Tat protein -> spojení GNP s proteinem a GNP s protilátkou přes protilátku Tat proteinu- změna barvy





- př. detekce drog
 - kolorimetricky velmi rychlé
 - princip
 - naváže se aptamer na zlaté nanočástice -> dojde k reakci analytu s aptamerem -> přidá se sůl
 - dojde k odplavení aptameru s navázaným analytem z nanočástice a změně barvy
 - použití různých aptamerů -> PCA -> detekce odlišných látek



fotoluminiscence

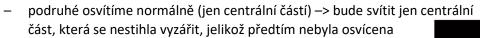
- vyzáření světla dochází k absorpci excitační energie a následné fluorescenční ztrátě energie
- immunostaining = imunologické barvení proteinů (fluorescenční značení)
 - využijeme protilátky s navázanou barvou k detekci konkrétního proteinu (obdobný jako ELISA)
 - dochází k označení míst výskytu daného proteinu v tkáni/buňce
 - špatně proniká do živých buněk, nefunguje úplně nejlépe
 - využití

- označení struktury buněk či případně samotné organely v buňkách, rozlišení různých buněčných typů, histologických vzorků...
- ukázka, kde konktrétně se daný biomarker exprimuje + kolokalizace
- sledování v čase kdy se biomarker vylučuje + časová souslednost biomarkerů
- př. barva DAPI barvení buněčného jádra a chromozomů (zářivě modrá)
- fluorescenční mikroskopie
 - metody zvětšení rozlišení
 - 1) SNOM (scanning near-field optical microscopy)
 - v blízkém poli se světlo chová jinak již nehraje roli difrakční limit
 - při odrazu/rozptylu se u povrchu šíří evanescenční vlny – velmi rychle ubývají (ve vzdáleném poli netřeba řešit)

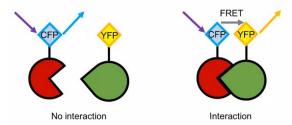


- využití optického vlákna s pokoveným povrchem uvnitř se šíří světlo, které lokálně osvětluje povrch vyvazujeme si evanescenční vlny –> prostorové rozlišení je mnohem vyšší vidíme i jednotlivé svítivé nanočástice, dokonce i jejich tvar
- funguje i bez apertury, detekce až do 10 nm
- úskalí
 - geometrický cross-talk, odrazy světla, výpočty parazitní a reálné odezvy
 - problém vyrobit hrot
- 2) STED (stimulated emission depletion microscopy) = ultrarezoluční optická mikroskopie
 - selektivní deaktivace fluoroforů, pikosekundové ozařovací pulzy, pozorování v dalekém poli, rozlišení 100 nm
 - překonává difrakční omezení pomocí stimulovaného ochuzení emise ve smyslu fotoluminiscence
 - princip
 - využítí fázové modulace na vzorek se svítí dvakrát
 - nejprve koblížkem s dírkou -> vysvítí části kolem centrální dírky

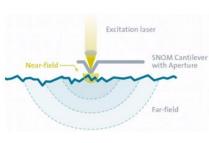




- nevýhoda photobleaching (vysvícení)
- 3) FRET (fluorescence resonance energy transfer)
 - velmi citlivý na interakce bez potřeby prostorového rozlišení
 - ukáže, zda se např. dvě molekuly vyskytují ve své blízkosti a zda mezi nimi došlo k reakci
 - princip
 - každou část máme označenou jiným fluorescenčním labelem
 - když se dostanou do blízkosti může dojít k přenosu excitace
 - dojde k nezářivému přechodu excitace se přenese na druhý systém a ten teprve zářivě deexcituje
 - donor má emisní spektrum překrývající se s absorpční spektrum akceptoru



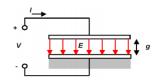
- 4) RAMAN spektroskopie
 - vibrační spektroskopie, kdy se detekuje intenzita neelasticky rozptýleného světla
 - rozpty
 - elasticky = Rayleigh rozptyl



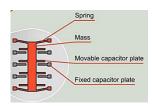
- energie světla se nemění jen se šíří jiným směrem
- neelastický = Raman rozptyl
 - dochází ke ztrátě nebo naopak získání energie
- závisí na excitační vlnové délce
- SERS (surface enahanced Raman scatterring)
 - osvícením vybudíme na vhodném povrchu povrchové plasmony
 - lokální zesílení elektromagnetického pole -> zvýšení intenzity rozptylu
 - pro zajištění selektivity můžeme využít aptamery či imprinted polymery
 - mapování hloubky, detekce krevního séra na stříbrném nanofilmu
- 5) Infračervená spektroskopie
 - optická technika k rozpoznávání molekul včetně konformací
 - závislá na infračervené absorpci, reflexi a emisi
- 6) SPR = plasmonová rezonance
 - využití na tenkých vrstvách
 - princip
 - posvítíme na vrstvu v roztoku -> dojde k vytvoření evanescenčních vln, které vytvářejí plasmonovou rezonanci
 - navázáním molekul dojde ke změně plasmonového spektra posun maxima plasmonické absorpce
 - využití např. pro detekci kokainu ze slin
- fotonické biosenzory
 - na povrchu vlákna jsou přichyceny biomolekuly, které mění průchod světla vláknem
 - příklad: zkoumání kontaminace vody

MEMs (micro electro mechanical systems) a Bio-MEMs

- MEMs
 - micro mikroskopická úroveň (1 100μm)
 - electro mechanical propojení elektrických jevů s mechanickými jevy a naopak
 - systems integrované prvky, které dohromady provádí nějaké úlohy
 - základní provedení
 - velké množství pohyblivých a fixních elektrod dochází ke změně kapacity
 - kapacita závisí na ploše malé množství by vedlo k zeslabení signálu
 - funkce
 - na začátku hlavně v automobilovém průmyslu (náraz, tlak v palivovém systému/pneumatikách),
 dnes herní konzole, IoT a wearables
 - detekční prvek malou částí, hlavní je komunikace, zpracování signálu, dodání energie
 - detekce: akcelerace, tlaku, teploty, chemického složení, radiačních efektů, záchytu biomateriálů...
 - buzení (aktuace): tepelnou energií, elektrickým nebo magnetickým polem, změnou hmotnosti,
 změnou okolní gravitace, externími vibracemi, ...
 - výstup: změna kapacity, tvaru, proudu, napětí (využíváme hlavně elektrickou detekci)
 - 1) elektrostatické buzení
 - mechanické buzení pohybu a změna vzdálenosti elektrod vede ke změně kapacity, kterou lze sledovat – vzniká elektrostatická síla, která k sobě přitahuje elektrody



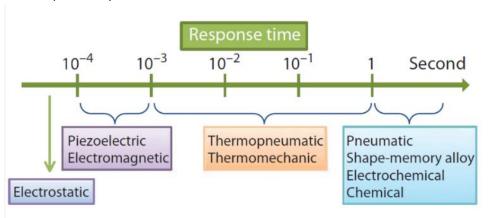
- výhoda: rychlé, jednoduché
- nevýhoda: nutnost poměrně vysokého napětí, malý rozsah pohybu
- 2) magnetické (elektromagnetické) buzení
 - výhoda: dobré budící charakteristiky
 - nevýhoda: poměrně složitá technologie, problém odstínění -> příliš se nepoužívají
- 3) piezoelektrické buzení



- s přiloženým napětím dochází ke změně rozměrů materiálů -> mechanické ohyby membrán, klapek...
- umožňují zobrazovat až jednotlivé atomy
- výhoda: velmi jednoduchá integrace, rychlé, široký frekvenční rozsah, dostatečně veliké vybuzené síly -> nejpoužívanější
- nevýhoda: nutnost poměrně vysokého napětí

4) teplotní buzení

- výhoda: není nutná příliš velká energie, tepelná síla je poměrně velká, změna tvaru může být poměrně velká, technologicky středně obtížné, nepodléhá to rušení – zajímavé pro aplikace ve vesmírném prostoru
- nevýhoda: hodně šumu (při malých signálech znatelná tepelná vibrace), pomalá odezva
- přehled rychlosti buzení



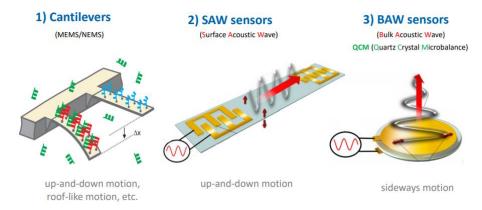
kritéria výroby

- spotřeba energie
- potřebný rozsah
- rozlišení
- potřebné maximální síly či momenty
- rychlost reakce
- frekvenční rozsah

Bio-MEMs

- třída MEMs zařízení používaných v biomedicíně -> jakýkoliv mikroskopický elektricko-mechanický systém použitý v biomedicíně
- velmi rozsáhlé využití mikrojehličky, tlakové senzory, teploměry, pomůcky na slyšení, pomůcky na vidění, nositelné technologie, pacemakery, monitorování krevního tlaku, ultrazvukové senzory, akcelerometry, ...
- výhody mikrofabrikačních technologií: malé, lehké, levné, dobře kvantifikovatelné
- typické materiály: křemík, sklo, polymery
- metody výroby: litografie, laser-writing, leptání přes masky, ...
 - piezomateriály
 - princip: změna hmotnosti/elastických vlastností díky interakci s biologickým prostředím modifikuje rezonanční frekvenci daného mikro-mechanického rezonátoru
 - piezoelektrický jev
 - piezoelektrický materiál nemá střed symetrie
 - při změně rozměrů se vytvoří nenulové napětí asymetrie rozložení náboje
 - možnosti provedení
 - mechanicky měníme náboj
 - dodáme náboj vynutíme změnu rozměrů
 - oblasti použití
 - Cantilevers (systém pružných ramének)

- SAW senzory (mechanická vlna při povrchu materiálu)
- BAW senzor QCM krystal





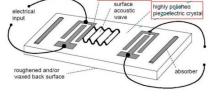
- založeno na pružném raménku
- díky absorpci analytu dojde k vytvoření pnutí raménka
 - projeví se na statickém prohnutí (Ize detekovat také opticky) nebo na vibrační charakteristice systému
- vysoká citlivost (pg/Hz)
 - ladění raménka pro vysokou citlivost

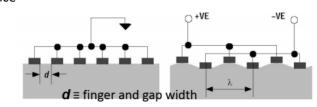
$$\Delta f/\Delta m = \pi k^{1/2} m^{-3/2}$$

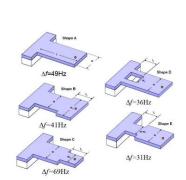
- posun ve frekvenci na změnu hmotnosti podle tuhostní konstanty a hmotnosti
- chci co největší konstantu tuhosti
- chci co nejmenší hmotnost (alespoň na detekčním konci)
- př. elektronický nos
 - pole cantileverů je pokryto různými polymery, případně jejich kombinacemi
 - využití k analýze dechu
 - aceton náznak diabetu
 - dimethylamin biomarker uremie
- př. mikroskop atomárních sil
 - pružné raménko s ostrým hrotem na konci rozmotávání biomolekul
 - získáme spektrum sil, ze kterého lze usoudit, jak molekuly fungují
- př. detekce antigenu rakoviny prostaty (PSA)
 - navázáním antigenu se mění rozměry systému a dojde k ohybu raménka
- př. detekce DNA -> hybridizace vede k ohybu
- př. senzor bakteriálních kmenů, které se vážou na glykany
- SAW senzory
 - povrchově akustická vlna se šíří v několika směrech
 - podél povrchu
 - kolmo na povrch
 - nevýhodné pro detekci v kapalinách dochází k výrazné disipaci energie
 - využití specializované verze SAW senzorů tzv. LW (love wave senzory),
 které mají jen laterální vlnu
 - výpočet rezonanční frekvence

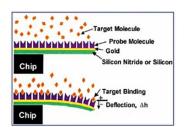
$$f_0 = \frac{V_R}{\lambda} = \frac{V_R}{4d}$$

V_R...rychlost šíření vlny



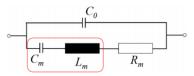






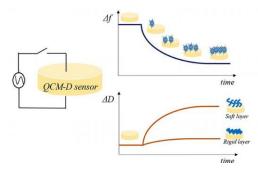
- QCM senzory (piezolektricita krystalu)
 - mění se energie při oddělení buňky od povrchu, lýzi (destrukci buněk) nebo změně v cytoskeletu
 - nejběžněji využití křemenného krystalu
 - vyřízne se plátek pod určitou rovinou podle toho se pohybuje (protahování x smykové buzení...)
 - ekvivalentní obvod
 - modelujeme to jako rezonanční obvod s danou rezonanční frekvencí (statická kapacita vlastního krystalu a indukčnost)
 - schéma

 C_m ... ukládání polarizace L_m ... setrvačnost kmitů R_m ... ztráty díky tření

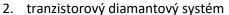


$$\omega_0 = \frac{1}{\sqrt{L_{\scriptscriptstyle m} C_{\scriptscriptstyle m}}} :$$

- využití disipace energie (důležitější než změna frekvence je ztráta energie)
 - pevná látka velmi malá disipace
 - měkká látka mnohem výraznější disipace



- případové studie
 - 1. perfúzní systém s využitím diamantové membrány
 - složení
 - buněčná kultura na nějaké porézní membráně
 - mikrofluidní oblasti dodávají nutrienty a odvádí produkty
 - elektrody detekce vodivosti skrz vrstvu
 - využití zjištění vlivu např. kosmetiky na tkáň
 - hlavní myšlenka: omezení experimentů na zvířatech použití lidských buněk



- pohyb a adherence buněk zaplnění G elektrody tranzistoru
- změna vodivosti v SD kanálu
- 3. DNA InkJET vylepšeno o diamant
 - spodní část křemíkového čipu pokryta diamantem
 - vznik transparentních membránek
 - diamant kryje jednotlivá ohřevná místa, které pomáhají budit kapalinu -> slouží jako ochranná vrstva před degradací
 - polyimidy tvoří další část kanálků
 - injekční systém (horní vrstva): proleptávání otvůrků
 - vrstvy spojeny flip-chip způsobem
 - vznikne sandwich vytvořený z vrstev křemíku, diamantu, polyimidů a dalších komponentů

