

МНОГОКАНАЛЬНЫЙ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНЫЙ ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ НА ОСНОВЕ ОПТИЧЕСКИХ МИКРОРЕЗОНАТОРОВ

А.В. Саечников, Э.А. Чернявская, В.А. Саечников

*Белорусский Государственный Университет, Минск, Беларусь
E-mail: anton.saetchnikov@gmail.com*

В данной работе предлагается биочип на основе оптического микрорезонатора, предназначенный для иммуноферментного анализа в сложных растворах. Он использует метод мультиплексного параллельного опроса микрорезонаторов и вычислительные методы на основе машинного обучения для уменьшения зависимости от постоянства производства сенсорных единиц.

Ключевые слова: оптический микрорезонатор; машинное обучение; детектирование; мода шепчущей галереи.

Оптические биосенсоры основаны на взаимодействии между оптическим полем и биохимическими веществами, обеспечивая компактность, доступность, высокую чувствительность и мультиплексное обнаружение для комплексного анализа биохимических систем. Датчики, использующие оптические микрорезонаторы, обеспечивают взаимодействие оптической волны с образцами. Оптическое поле локализуется в кольцевых полостях, что позволяет волнам распространяться по периферии резонатора и взаимодействовать друг с другом для создания мод шепчущей галереи (МШГ) [1]. Известные высоким показателем добротности, они обеспечивают чувствительность до уровня единичных молекул [2]. Множество микрорезонаторов может быть плотно упаковано в небольших областях или объемах для создания массива [3,4], где применение машинного обучения позволяет проводить измерения с использованием доступного оборудования и производить количественные оценки больших данных [5,6].

Критическим требованием для сенсора, поддерживающим машинное обучение, является необходимость высокой согласованности в производстве, где вариабельность чипов может существенно снизить производительность из-за тонких изменений в их параметрах.

В этой статье мы сообщаем об интеллектуальном биочипе на основе оптических микрорезонаторов обеспечивающем иммуноферментный анализ в сложных биохимических растворах. Он объединяет технологию мультиплексного микрорезонаторного детектирования вместе с методами машинного обучения, что позволяет снизить требования к стабильности изготовления чипов и тем самым значительно расширить реальный потенциал биодетектирования на основе МШГ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Чип объединяет тысячи стеклянных микросфер, зафиксированных на тонком покровном стекле, образуя отдельные измерительные каналы. Он может содержать до 16 каналов, с возможностью расширения до 100 каналов за счет использования микрорезонаторов малого размера. Оптимизация толщины клеевого слоя снижает потери на связь и улучшает чувствительность отдельных датчиков, максимизируя коэффициент добротности под нагрузкой, приближающийся к 10^6 в воде.

В качестве источника излучения использовался одночастотный лазер с длиной волны 785 нм. Регистрируемый сигнал представляет собой время зависимый набор интенсивностей, которые изменяются в соответствии с спектральными характеристиками каждого резонатора, такими как спектральное положение и ширина лазерной линии.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Простота изготовления и метода опроса имеет недостаток: результаты измерений биочипов различаются по размерности и механизмам, лежащим в основе отклика. Для обеспечения согласованности данных различных чипов необходимо построить вектор признаков из измеренных данных, чтобы повысить устойчивость зондирования. Помимо нормализации и согласования масштаба, полученные данные обрабатываются с помощью анализа главных компонент, который является общим методом уменьшения размерности, преобразуя исходные переменные в независимые компоненты, известные как главные компоненты (ГК).

Несмотря на нелинейную и уникальную функции сигнала для каждой микросферы можно точно получить образ спектрального сдвига в первой главной компоненте. Это становится возможным при наличии достаточного количества (> 100) одновременно доступных откликов резонаторов. В результате набор первых ГК для функциональных каналов используются в качестве исходных признаков для обучения нейронной сети.

В рамках работы было изготовлено несколько биочипов, каждый из которых использовался несколько раз для демонстрации определения типа и концентрации иммуноглобулинов. Чипы содержали по 4 функциональных канала, где два использовались как контрольные, а остальные два обрабатывались антителами anti-human IgG и anti-rabbit IgG.

Избирательное обнаружение различных составляющих сложных растворов с концентрациями отдельных иммуноглобулинов от 100 до 50000 нг/мл достигалось путем связывания с антителами на поверхности микрорезонаторов. Отклик на среду с растворенными иммуноглобулинами измеренный в течение 2000 с совместно с реакцией на буферный раствор до

и после измерения аналита использовался как исходный набор данных для обучения. После второго измерения буферного раствора чип подвергался процедуре регенерации. Набор данных, построенный таким образом, позволяет учесть изменения в эффективности связывания, вариации чувствительности среди отдельных образцов многоканальных сенсоров, а также воспроизводимость процесса осаждения функционального слоя.

Было показано, что простая однопроходная нейросеть с сверточными и полносвязными слоями подходит для решения задачи предсказания состава растворов и концентрации отдельных компонент. Сеть с оптимизированной архитектурой показала высокую точность ($> 98\%$) для определения типа иммуноглобулина с относительной ошибкой ~ 10 нг/мл.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мы разработали и охарактеризовали биочип на основе оптического микрорезонатора, предназначенный для иммуноферментного анализа в сложных средах. Этот метод основывается на преимуществах методики одновременной регистрации сигнала для тысяч микрорезонаторов, а также методах машинного обучения.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЕ ССЫЛКИ

1. M. Loyez, M. Adolphson, J. Liao, L. Yang. From Whispering Gallery Mode Resonators to Biochemical Sensors // ACS sensors. 2023. 8. P. 2440.
2. Whispering-Gallery Mode Optoplasmonic Microcavities. / M. C. Houghton, S. V. Kashanian, T. L. Derrien [et al.] // ACS Photonics. 2024. 86. P. 37.
3. Saetchnikov A. V., Tcherniavskaia E. A., Saetchnikov V. A., Ostendorf, A. Multiresonator imaging sensor for the aerial parameters detection // IEEE Journal on Miniaturization for Air and Space Systems. 2021. 2(2). P. 84–91.
4. Saetchnikov A. V., Tcherniavskaia E. A., Saetchnikov V. A. Ostendorf, Detection of per- and polyfluoroalkyl water contaminants with multiplexed 4D microcavities sensor // Photonics Res. 2023. 11. P. A88.
5. Saetchnikov A. V., Tcherniavskaia E. A., Saetchnikov V. A., Ostendorf, A. Deep-learning powered whispering gallery mode sensor based on multiplexed imaging at fixed frequency // Opto-Electronic Adv. 2020. 3. P. 200048.
6. Saetchnikov A. V., Tcherniavskaia E. A., Saetchnikov V. A., Ostendorf, A. Intelligent optical microresonator imaging sensor for early stage classification of dynamical variations // Advanced Photonics Research. 2021. 7. P. 2100242.