

VILNIAUS UNIVERSITETAS  
FIZINIŲ IR TECHNOLOGIJŲ MOKSLŲ CENTRAS

Aušra  
BARADOKĖ

# Miniatiūrizuotas elektrocheminis jutiklis vėžio biožymenų tyrimams

## **DAKTARO DISERTACIJOS SANTRAUKA**

Gamtos mokslai,  
Chemija (N003)

---

Vilnius, 2019

Disertacija rengta 2014-2018 m., Fizinių ir technologijos mokslų centre. Mokslinis tyrimas atliktas 2014-2018 m., bendradarbiaujant, valstybiniam mokslinių tyrimų institutui, Fizinių ir technologijų mokslo centrui ir Dublino miesto universitetui (Airijoje) bei Trejybės koledžui Dubline (Airijoje).

**Mokslinė vadovė - prof. dr. Rasa Pauliukaite** (Fizinių ir technologijos mokslų centras, gamtos mokslai, Chemija - N003)

#### **Moksliniai konsultantai:**

- **Dr. Ramūnas Valiokas** (Fizinių ir technologijos mokslų centras, gamtos mokslai, Fizika - N002)
- **Prof. Kim McKelvey** (Dublino universitetas, Airija, gamtos mokslai, Chemija - N003)
- **Prof. dr. Robert Forster** (Dublino miesto universitetas, Airija, gamtos mokslai, Chemija - N003)

#### **Gynimo taryba:**

**Pirmininkė - Dr. Loreta Tamašauskaitė Tamašiūnaitė** (Fizinių ir technologijos mokslų centras, gamtos mokslai, Chemija - N003)

#### **Nariai:**

- **Prof. dr. Tautgirdas Ruzgas** (Malmo universitetas, Švedija, gamtos mokslai, Biochemija - N004)
- **Prof. dr. Saulius Šatkauskas** (Vytauto didžiojo universitetas, gamtos mokslai, Biofizika - N011)
- **Prof. dr. Kęstutis Sužiedėlis** (Nacionalinis vėžio institutas, gamtos mokslai, Biochemija - N004)
- **Dr. Edita Voitechovič** (Fizinių ir technologijos mokslų centras, gamtos mokslai, Biochemija - N004)

Disertacija apginta viešame disertacijos gynimo komisijos posėdyje, gegužės 29 d., 10 val., Valstybinių tyrimų instituto Fizinių ir technologijos mokslų centro konferencijų salėje. Adresas: Savanorių pr. 231,- LT-02300, Vilnius. Telefono nr .: +370 5 266 1640; paštas: info@ftmc.lt

Su šios disertacijos tekstu galima susipažinti per Valstybinio tyrimų instituto Fizinių ir technologijos mokslų centro, Vilniaus universiteto bibliotekas, taip pat Vilniaus universiteto tinklalapyje: [www.vu.lt/lt/naujienos/ivykiu-kalendorius](http://www.vu.lt/lt/naujienos/ivykiu-kalendorius).

VILNIUS UNIVERSITY  
CENTER FOR PHYSICAL SCIENCES AND TECHNOLOGY

Aušra  
BARADOKĖ

# Fabrication of Miniaturised Electrochemical Sensor for Cancerogenic Biomarker Detection

## **SUMMARY OF DOCTORAL DISSERTATION**

Natural Sciences,  
Chemistry (N003)

---

Vilnius, 2019

Dissertation prepared 2014-2018 m., at the Center for Physical Sciences and Technology. The research was carried out in 2014-2018 during international collaboration between the State Research Institute Center for Physical Sciences and Technology, Lithuania and Dublin City University, Ireland and Trinity College Dublin, Ireland.

**Academic supervisor - Prof. dr. Rasa Pauliukaite** (Center for Physical Sciences and Technology, Natural Science, Chemistry - N003)

**Academic consultants:**

- **Dr. Ramūnas Valiokas** (Center for Physical Sciences and Technology, Natural Science, Physics - N002)
- **Prof. dr. Kim McKelvey** (Trinity College Dublin, Ireland, Natural Science, Chemistry - N003)
- **Prof. dr. Robert Forster** (Dublin City University, Ireland, Natural Science, Chemistry - N003)

**Board of defence:**

**Chairman - Dr. Loreta Tamašauskaitė Tamašiūnaitė** (Center for Physical Sciences and Technology, Natural Science, Chemistry - N003)

**Members:**

- **Prof. dr. Tautgirdas Ruzgas** (Malmö University, Sweden, Natural Science, Biochemistry - N004)
- **Prof. dr. Saulius Šatkauskas** (Vytautas Magnus University, Natural Science, Biophysics - N011)
- **Prof. dr. Kęstutis Sužiedėlis** (National cancer institute, Natural science, Biochemistry - N004)
- **Dr. Edita Voitechovič** (Center for Physical Sciences and Technology, Natural Science, Biochemistry - N004)

The thesis defended at a public meeting of the dissertation defence panel on 29<sup>th</sup> of May, 10 am., in the Conference Room of the State Research Institute Center for Physical Sciences and Technology. Address: 231 Savanoriu Ave., LT- 02300 Vilnius, Lithuania. Phone No.: +370 5 266 1640; email: info@ftmc.lt

The text of this dissertation can be accessed through the libraries of the State Research Institute Center for Physical Sciences and Technology, Vilnius University, as well as on the website of Vilnius University: [www.vu.lt/lt/naujienos/ivykiu-kalendorius](http://www.vu.lt/lt/naujienos/ivykiu-kalendorius).

# Įvadas

Ankstyvas onkologinių ligų diagnozavimas pagerins žmonių gyvenimo kokybę. Kaip vienas iš aspektų reikalingas biožymenų, parodančių galimą ligos riziką, nustatymas. Biojutiklių miniatiūrizacija yra itin rekomenduotina, atliekant ikiklinikinius tyrimus ir pritaikant juos diagnostikoje. Galimybė tirti mikrolitrų tūrio mėginius ypač patraukli, kai analizė aptinkama skystose terpėse, tokiuose kaip kraujo plazma, serumas, tepinėlis ar kt. Tačiau vis dar tenka susidurti su keletą iššūkių, kur reikalingas didelis jautris ir atrankumas analizei. Atliekant klinikinę diagnostiką, tyrimas turi būti greitas, patikimas ir gerai atkartojamas. Keitiklio paviršius turi būti biologiškai suderinamas, išvengiant užteršimo pavojaus, ir stabilus sudėtingose terpėse. Pavyzdžiui, kraujo mėginyje galima rasti tūkstančius biožymenų, kurie gali nespecifiškai prisijungti prie jutiklio paviršiaus. Todėl imunojutiklio, skirto baltymų sąveikai tirti, kūrimas priklauso nuo tinkamų metodų greitam miniatiūriniam jutiklio paruošimui ir paviršiaus funkcionalizavimui specifiniais bioreceptoriais (pvz. antikūnais). Dėl biologinio suderinamumo ir jautrumo, Au paviršiai įprastai naudojami bioreceptoriaus imobilizavimui ir analizės atpažinimui, paviršiaus plazmonų rezonanso ir elektrocheminiuose jutikliuose.

Šio darbo **tikslas** buvo patobulinti jutiklius, sukuriant naują mikroelektrodų dizainą, siekiant greitai pagaminti miniatiūrinės elektrocheminės celes imunojutikliams biožymenų aptikimui. Šiam tikslui pasiekti buvo iškelti šie **uždaviniai**:

1. Suprojektuoti ir paruošti persiklojančių šukų tipo mikroelektrodus, naudojant biologiškai suderinamas medžiagas (pvz., Au), naudojant minkštosios litografijos ir cheminio ėsdinimo metodus bei įvertinti elektrodų kokybę naudojant mikroskopijos ir elektrocheminius metodus.
2. Modifikuoti šukų tipo elektrodus Pt dangomis, kontroliuojant medžiagos šūrkštumo koeficientą  $H_2O_2$  nustatymui.
3. Suprojektuoti modelį, įskaitant šukų tipo elektrodų geometriją ir imituoti elektroaktyviųjų medžiagų difuzijos procesą,

naudojant baigtinių elementų metodą.

4. Suprojektuoti miniatiūrinę elektrocheminę celą, mažo tūrio (5  $\mu\text{L}$ ) analitei tirti; įvertinti Ag/AgCl palyginamojo elektrodo pakeitimą pseudopalyginamuoju miniatiūrizuotu Au elektrodu.
5. Sukalibruoti redokso molekules (pvz. FcMeOH), naudojant paruoštą miniatiūrizuotą celą; Nustatyti jautrį ir LOD, esant skirtingiems potencialų skleidimo greičiams.
6. Imobilizuoti bioreceptorių (antikūną) vėžio antigeno 125 atpažinimui, naudojant mikrokontaktinį antspausdinimą ir ištirti antikūnų pasidengimo tankį, naudojant vaizdinančią elipsometriją; nustatyti vėžio antigeno 125 atpažinimą, naudojant paviršiaus plazmono rezonansą.
7. Imobilizuoti bioreceptorių (antikūną) vėžio antigeno 125 atpažinimui ant šukų tipo Au elektrodų ir nustatyti vėžio antigeną 125, naudojant elektrocheminio impedanso spektroskopiją; Nustatyti jautrį, LOD, naudojant įvairius jutimo parametrus, įskaitant  $R_{ct}$  ir immitancijos funkcijos analizę.
8. Suformuoti jutiklius ant elektrochemiškai paruošrų Au ir Pt nanostruktūrinių elektrodų ir palyginti jutiklių jautrius ir LOD vėžio antigeno 125 atpažinimui; Nustatyti jautrį, LOD, naudojant įvairius jutimo parametrus, įskaitant  $R_{ct}$  ir immitancijos funkcijos analizę.



## Darbo naujumas:

Šiame darbe palygintas Au persiklojančių šukų elektrodų ir nanostruktūrizuotų Au ar Pt elektrodų panaudojimas metabolito  $H_2O_2$  ir vėžio antigeno 125 atpažinimui.

1. Darbe naudojami minkštosios litografijos ir cheminio ėsdirimo metodai, siekiant greito ir paprasto miniatiūrizuotos elektrocheminės celės paruošimo.
2. Tiriama unikali elektrodų konfigūracija, kai šukų tipo mikrojuostų elektrodai yra naudojami kaip darbinis ir pagalbinis elektrodai. Tokia konfigūracija gali pakeisti redokso aktyvių molekulių difuziją iš linijinės į sferinę, o tai galėtų pagerinti jutiklio jautrį.
3. Unikali jutiklio elektrodų padėtis buvo tiriama modeliuojant numatomą elektrocheminį atsaką, naudojant baigtinių elementų metodą.
4. Pt ant elektrodo paviršiaus buvo padengtas netradiciniu būdu platinizuojant skirtingu potencialų skleidimo greičiu, kuris leido labai tiksliai kontroliuoti Pt struktūrą ir šurkštumą. Be to, šis metodas leidžia atlikti procesą be nuodingų reagentų (švino II), priešingai nei naudojama tradiciniuose metoduose.
5. Vėžio antigeno 125 aptikimo jautris pagerintas, naudojant išsamesnius duomenų analizės metodus, elektrocheminio impedanso spektroskopijai, kai impedanso komponentų  $Z'$ ,  $Z''$  priklausomybė nuo dažnio analizuojama ties vienu dažniu.
6. Siekiant pagerinti jutiklio jautrį, plokšti elektrodai modifikuoti Au arba Pt nanostruktūromis; lyginamas jautris ir LOD tarp Au ir Pt nanostruktūrų, kas literatūroje niekada nebuvo lyginami vėžio antigeno 125 atpažinimui.

*Autoriaus indėlis* Autorius tardamasis su vadovu ir konsultantais suplanavo tyrimus ir atliko eksperimentinį darbą, įskaitant 1) persiklojančių šukų tipo mikroelektrodų paruošimą, naudojant

mikrokontaktinį antspausdavimą, cheminio ėsdinimo ir elektrocheminio nusodinimo metodus; 2) paviršiaus tyrimus, naudojant skenuojančią elektronų, optinę mikroskopijas ir vaizdinančią elipsometriją; 3) bioreceptoriaus anti-CA125 imobilizavimą ant -COOH funkcinėmis grupėmis dekoruotų paviršių; 4) antikūnų ir antigenų sąveikos tyrimą, naudojant SPR; 5) su šia tematika susijusių eksperimentinių duomenų apdorojimas ir analizė bei trijų mokslinių straipsnių rengimas; 6) rezultatų pristatymas 17-oje tarptautinių mokslinių konferencijų.

*Kitų bendraautorių indėlis* Dr. Martynas Gavutis ir Ignas Masiulionis asistavo PDMS spaudo ruošime, Dr. Jurga Juodkazytė konsultavo Pt nusodinimui ant šukų tipo elektrodų tyrimui. Gintarė Garbenčiūtė padėjo paruošti -COOH dekoruotas dangas antikūnų imobilizavimui.

# 1. Metodika

## 1.1 Medžiagos ir tirpalai

Visi reagentai naudojami šiame darbe buvo analitinio grynumo ir naudojami be papildomo gryninimo. Vandeniniai tirpalai buvo ruošiami filtruotame vandenyje ( $18.2 \text{ M}\Omega\text{cm}^{-1}$ ) iš Synergy 185 įrenginio (Millipore, JAV). Visi tyrimai buvo atlikti kambario temperatūroje  $21 \pm 2^\circ\text{C}$ .

### 1.1.1 Medžiagos ir tirpalai naudoti elektrodų ruošimui

- 20 nm storio Au dengti stiklo paviršiai ( $10 \times 10 \text{ mm}$ ) buvo įsigyti iš Ssens (Olandija).
- Au plovimui naudotas standartinis valymo tirpalas ( $\text{SC}_1$ ) susidedantis iš 5:1:1  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  ir  $\text{NH}_3$  mišinio.  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30 %),  $\text{NH}_3$  (25 %) tirpalai buvo gauti iš Carl Roth GmbH (Vokietija).
- Masteris buvo paruoštas ant Si plokštės, padengiant fotojautrus apsauginis sluoksnis SU-8 (MicroChem Corp, JAV) dangą, kurios storis:  $40 \mu\text{m}$  ir norimas raštas graviruotas naudojant fotolitografiją.
- Polidimetilsiloksano (PDMS) replikos buvo paruoštos maišant elastomera ir elastomerų kietiklį masės santykiu 10:1, naudojant SYLGARD® 184 silikono elastomero rinkinį (Dow Corning, JAV). Gauta masė padengta ant masterio paviršiaus ir 2 h kaitinta  $70^\circ\text{C}$  krosnyje. Vėliau PDMS replika buvo kruopščiai nulupta ir laikomos uždarytoje lėkštelėje. Prieš naudojimą, PDMS replika buvo 1 min sonikuojama  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ , nudžiovintas  $\text{N}_2$  srove ir naudojamas kaip spaudas.
- Mikrokontaktiniam antspaudavimui ( $\mu\text{CP}$ ) buvo naudojamas 1 mM  $\text{C}_{20}\text{H}_{42}\text{S}$  (Alfa Aesar, Vokietija), ištirpintas  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  (Sigma Aldrich, Vokietija).

- Cheminiam aukso ęsdinimui naudotas 20 mM  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  (Fluka, Ŗveicarija) ir 30 mM  $\text{CH}_4\text{N}_2\text{S}$  (Fluka, Ŗveicarija) tirmalų mišinys.
- Elektrodo paviršiaus padengimui Au ar Pt nanostruktūromis, naudoti 10 mM  $\text{HAuCl}_4\text{H}_2\text{O}$  arba 10 mM  $\text{H}_2\text{PtCl}_6\text{H}_2\text{O}$  (Sigma Aldrich, Vokietija) nusodinimo tirpalai.
- Paviršių džiovinimui naudotos 5.0 klasės  $\text{N}_2$  dujos (Aga, Lietuva).

### 1.1.2 Medžiagos imunojutikliui

Antikūnas anti-CA125 skiestas, naudojant 1  $\text{mgmL}^{-1}$  monokloninį pelės anti-CA125 (HyTest, Suomija). CA125 tyrimui, CA125 koncentracijos ruoštos, skiedžiant 1  $\text{mgmL}^{-1}$  CA125 žmogaus antigeną (HyTest, Suomija). Baltymų paruošimui naudotas, vandinis fosfatinis buferis (PBS), pH 7.4 (Sigma Aldrich, UK).

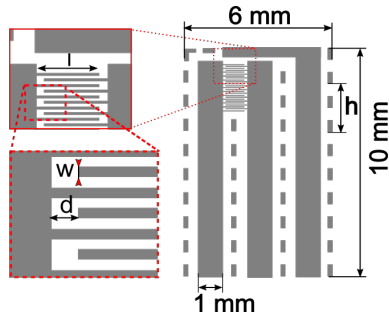
### 1.1.3 Reagentai elektrocheminiam tyrimui

CV ir EIS matavimamas naudoti  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ,  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  ir  $\text{FcMeOH}$  buvo įsigyti iš Sigma Aldrich (UK). 0.1 M vandenilio peroksido tirpalas buvo ruošiamas šviežiai 0.1 M PB, naudojant 35 %  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Carl Roth GmbH, Vokietija).

## 1.2 Metodai Ŗukų tipo elektrodų ruošimui

### 1.2.1 Elektrodo dizainas

Pav 1.1 pavaizduotas, IDA dizainas, kuris susidėjo iš 25 vienetų 40  $\mu\text{m}$  pločio ir 0.9 mm ilgio persiklojančių mikroelektrodų. Atstumas tarp persiklojančių elektrodų buvo 40  $\mu\text{m}$ . Elektrodų prisegimui, naudotos 1 mm pločio kontaktinės juostos. Zonos, kur  $h=1.5$  mm buvo reikalingos spaudo lygiavimui antspaudavimo metu.



**1.1 Pav.** IDA dizainas: 25 persiklojantys mikrojuostų elektrodai, elektrodo ilgis  $l=0.9$  mm ir plotis  $w=40$   $\mu\text{m}$ ,  $d=100$   $\mu\text{m}$ , izoliuotos zonos ( $h=1.5$  mm), naudotos spaudo lygiavimui  $\mu\text{CP}$  metu, su kontaktinėmis 1 mm juostomis.

## 1.2.2 Silicio šablono ruošimas

Fotolitografijos kaukė buvo ruošta naudojant fotolitografijos įrenginį (Heidelberg Instruments, Vokietija). Siekiant suformuoti 20  $\mu\text{m}$  storio dangą, teigiamas fotojautrus apsauginis sluoksnis ma-P 1275G (Microresist GmbH, Vokietija) buvo sukamas (500 apskų/min, 15 s, 2000 apskų/min, 15 s.) paskleidžiant ant 4 colių silicio lakšto (Topsil, Danija). Po dengimo silicio lakštas kaitintas ant kaitlentės 100 °C temperatūroje 4 min ir vėsintas kambario temperatūroje 5 min. Apsauginis sluoksniu padengtas silicio lakštas struktūrizuotas UV (405 nm), naudojant fotolitografijos įrenginį. Gautas raštas ryškintas naudojant ryškialą (Microresist GmbH, Vokietija), kol išryškėja struktūros.

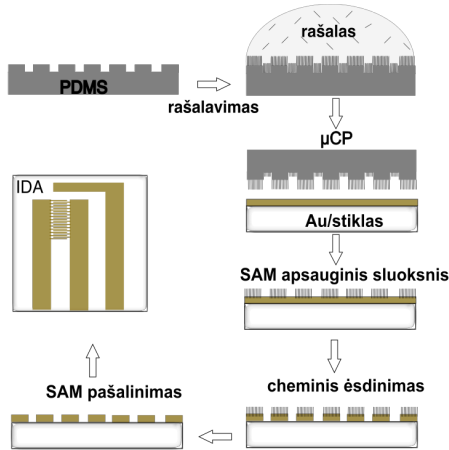
## 1.2.3 PDMS spaudo ruošimas

PDMS spaudas ruoštas maišant elastomero bazę ir kietiklį masės santykiu 10:1, naudojant SYLGARD 184 silikono elastomero rinkinį (Dow Corning, JAV). Gautas mišinys degazuojamas vakuume, siekiant pašalinti susidariusius oro burbulus ir patalpintas 70°C krosnyje, 2 h. Po kaitinimo, PDMS replika atsargiai nulupta ir gautų struktūrų kokybė įvertinta optiniu mikroskopu (Olympus

BX-51, Japan).

### 1.2.4 Apsauginio sluoksnio struktūrų formavimas ir cheminis ėsdinimas

Pav. 1.2 pavaizduota IDA elektrodo ruošimo schema. 20 nm storio aukso paviršius plautas 2 kartus,  $SC_1$  tirpale, kaitinant  $85\text{ }^\circ\text{C}$ , 7 min. , skalaujant dejonizuotu vandeniu ir nudžiovinant  $N_2$  srove.



**1.2 Pav.** IDA ruošimo diagrama, įtraukiant mikrokontaktinį antspaudavimą  $C_{20}H_{42}S$ , cheminį ėsdinimą ir  $C_{20}H_{42}S$  pašalinimą.

Prieš naudojimą,  $10 \times 10\text{ mm}^2$  PDMS spaudas 1 min purtytas ultragarso vonelėje etanolyje. Mikrokontaktiniam antspaudavimui PDMS spaudas padengtas  $50\text{ }\mu\text{L}$ , 1 mM eikosantioliu ( $HS-C_{20}$ ) etanoliniu tirpalu ir inkubuotas 1 min. Po inkubavimo, rašalas nusiurbtas pipete ir švelniai nudžiovinamas  $N_2$  srove. Rašaluotas PDMS spaudas priglautas prie aukso substrato, laikytas 1 min ir atsargiai pašalintas pincetais. Tokiu būdu norimas apsauginio sluoksnio raštas pasidengė ant aukso paviršiaus ir struktūros ėsdintos naudojant cheminį ėsdinimą 5 min. Cheminiam ėsdinimui, buvo naudotas 1:1 tūrio santykiu, 20 mM  $Fe(NO_3)_3$  (Fluka, Šveicarija) ir 30 mM  $CH_4N_2S$  (Fluka, Šveicarija) mišinys.

Po cheminio ęsdinimo Au substratai skalauti dejonizuotu vandeniu ir nudžiovinti N<sub>2</sub> srove. Apsauginio sluoksnio pašalinimui ęsdinti substratai apšviesti UV (254 nm bangos ilgio) spinduliuote 20 min. ir purtyti ultragarso vonelėje etanolyje 2 min., sukeliant C<sub>20</sub>H<sub>42</sub>S SAM degradaciją. Papildomai, po UV apšvietimo, IDA elektrodai plauti 2 kartus, naudojant SC<sub>1</sub>.

## 1.3 Persidengiančių šukų tipo elektrodų tyrimas

### 1.3.1 Optinė mikroskopija

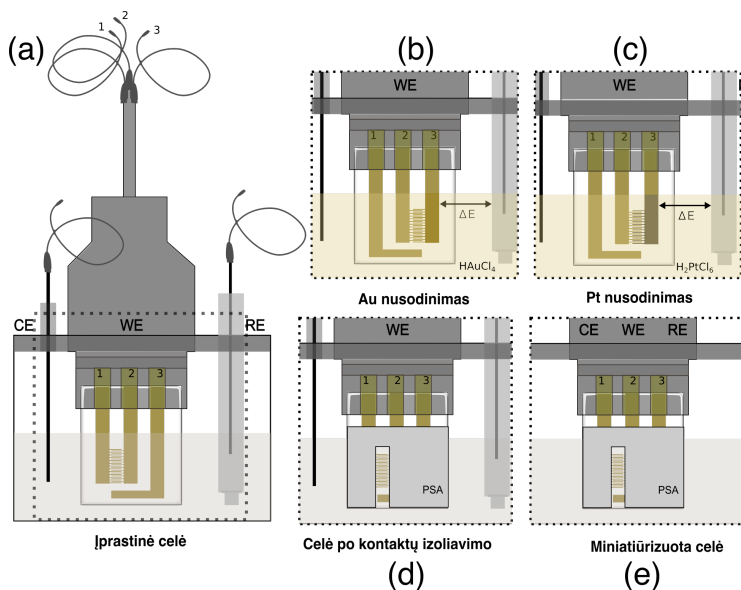
Prieš mikrokontaktinį antspaudavimą ( $\mu$ CP), PDMS spaudo kokybė buvo vertinama, naudojant optinę mikroskopą Olympus BX51 (Olympus, Japonija). Taip pat, po IDA elektrodo ruošimo, optinis mikroskopas naudotas defektų vertinimui, esant 10 $\times$ , 20 $\times$ , 50 $\times$  didinimo objektyvams.

### 1.3.2 Pavišiaus tyrimas naudojant SEM ir EDS

Elektrochemiškai nusodinta Pt ant IDA buvo papildomai tirta vertinamos skenuojančiu elektronų mikroskopu (SEM), JEOL JSM 6490 LV (Japonija) su integruotu rentgeno spektroskopijos (EDS) detektorium. Papildomai, Pt buvo tirta naudojant aukštos raiškos SEM (Helios NanoLab 650, Olandija). Nusodintos Au ir Pt struktūros, naudotos CA125 atpažinimui, tirtos SEM (Hitachi S3400N VP-SEM, Japonija), naudojant 10 kV volтажą.

### 1.3.3 Elektrocheminis tyrimas

Elektrocheminiai tyrimai atlikti naudojant keletą skirtingų potenciostatų CH Instrument 760e (JAV), CompactStat, IVIUM Technologies (Olandija) arba Autolab PGSTAT 30 (Olandija). Pav 1.3 pavaizduotas IDA elektrodas prijungtas prie modifikuotos USB tipo jungties, kur 1<sup>-a</sup>, 2<sup>-a</sup> ir 3<sup>-ia</sup> zonos buvo tirtos skirtingose konfigūracijose.



**1.3 Pav.** Elektrocheminės celės diagramos su išoriniu CE, RE - (a) naudota Au (b) ir Pt (c) elektrocheminiam nusodinimui. Dominanti darbinė zona izoliuota, naudojant PSA (d). Miniatiūrizuota celė su integruotais CE, RE (e).

## 1.4 Elektrodų padengimas Pt ir Au nanostruktūromis

Pav. 1.3 pavaizduota, elektrocheminė celė, kurią sudarė IDA Au elektrodas, pagalbinis Pt elektrodas ir palyginamasis Ag/AgCl/3 M KCl, naudota Au ir Pt nusodinimui. Pt elektrocheminiam nusodinimui, elektrodai įmerkti į 10 mM  $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  ir CV potencialai skleisti nuo -0.4 iki 0.8 V, keičiant potencialų skleidimo greitį nuo  $5 \text{ mVs}^{-1}$  iki  $50 \text{ mVs}^{-1}$ . Au padengimui, elektrodai įmerkti į 10 mM  $\text{HAuCl}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  vandeninį tirpalą ir CV potencialai skleisti nuo -0.8 V to 0.9 V, esant  $100 \text{ mVs}^{-1}$  potencialų skleidimo greičiui.



### 1.4.1 Tyrimui naudotos elektrocheminės celės

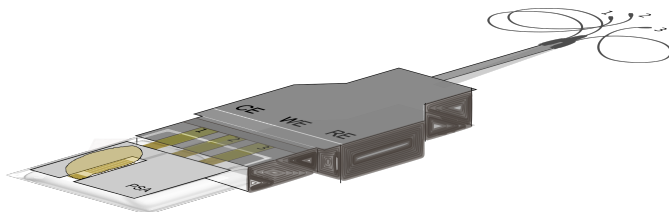
Pav 1.3 (d) ir (e) pavaizduota balta kaukė (PSA), priklijuota ant IDA elektrodo, skirta IDA kontaktų zonos izoliavimui, naudojant 140  $\mu\text{m}$  storio dvipusę lipnią juostą (Adhesive Research Ltd., Airija), išpjautą 1x3.5 mm (darbinę zoną), naudojant kompiuteriu valdomą asmeninį raizytoją Cameo 3 (Silhouette, JAV).

### 1.4.2 Difuzijos proceso modeliavimas

Programinė įranga COMSOL Multiphysics 5.3a naudota kompiuteriniam modeliavimui, naudojant Windows operacinę sistemą, 32 Gb Intel(R) Core, i5-6500 CPU @ 3.20GHz. CV simuluotos pagal baigtinių elementų metodą, dviems sistemoms: naudojant integruotą CE persidengiantį su WE ir CE nutolusį nuo WE. CV simuluotos potencialų intervale nuo -0.3 iki 0.3 V, esant potencialų skleidimo greičiams 10, 30, 50, 100, 150, ir 200  $\text{mVs}^{-1}$ .

### 1.4.3 Elektrocheminis tyrimas miniatiūrizuotai celei

Pav 1.4 pavaizduota miniatiūrizuota elektrocheminė celė naudota feroceno metanolio (FcMeOH) nustatymui. Celės tūris - 5  $\mu\text{L}$  FcMeOH ištirpinto 0.1 M PB, pH 7.4. CV registruota, esant FcMeOH koncentracijoms nuo 0.5  $\mu\text{M}$  iki 1000  $\mu\text{M}$ . Matavimas vyko potencialų intervale nuo -0.2 iki 0.4 V, esant potencialo skleidimo greičiams 5 ir 50  $\text{mVs}^{-1}$ , naudotas Au palyginamasis elektrodas.

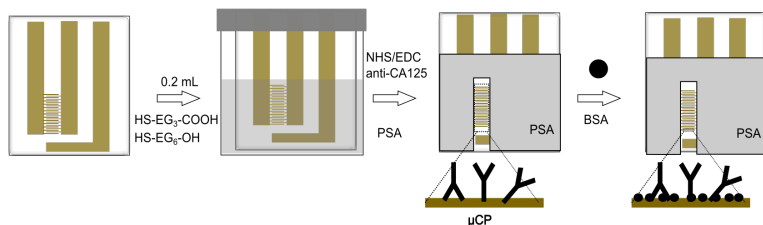


**1.4 Pav.** Miniatiūrizuotos elektrocheminės celės diagrama, skirta 5  $\mu\text{L}$  analitės tūrio matavimams.

## 1.5 Elektrodu modifikavimas vėžio antigeno 125 aptikimui

### 1.5.1 Antikūno imobilizavimas ant Au

Pav 1.5 pavaizduota jutiklio ruošimo CA125 atpažinimui schema. Au paviršius plautas SC<sub>1</sub> tirpalu ir IDA pamerktas į 70 % HS-EG<sub>3</sub>-COOH ir 30 % HS-EG<sub>6</sub>-OH etanoliniame tirpale 12 h savitvarkio monosluoksnio (SAM) formavimui. SAM -COOH grupės aktyvuotos šviežiai paruoštame 0.2 mL 2.5 mM N-hydroxysuccinimide (NHS) ir 10 mM 1-ethyl-3-[3-imethylaminopropyl] carbodiimide hydrochloride (EDC) etanoliniam tirpale 30 min. Toliau, IDA purtytas ultragarso vonelėje 3 s. etanolyje, nuskaitytas dejonizuotu vandeniu ir švelniai nudžiovintas N<sub>2</sub> srove.



**1.5 Pav.** Jutiklio CA125 atpažinimui schema. IDA Au paviršius padengtas SAM 70 % HS-EG<sub>3</sub>-COOH ir 30 % HS-EG<sub>6</sub>-OH etanolio tirpale, aktyvuotas NHS/EDC, ir anti-CA125 imobilizuotas ant SAM antspauduojant, IDA kontaktai izoliuoti PSA, ir paviršius užblokuotas BSA.

Anti-CA125 praskiestas 1:100, 0.1 M PB ir naudotas, antspauduojant nestruktūrizuotu PDMS ant NHS/EDC aktyvuoto paviršiaus. Anti-CA125 inkubuotas ant spaudu 5 min., spaudu ir Au kontakto laikas 10 min. IDA kontaktinės zonos izoliuotos, naudojant PSA. NHS/EDC paviršius deaktyvuotas, padengiant 2 μL 0.5 % BSA tirpinto 0.1 M PB 30 min. Iki naudojimo, imunojutiklis saugotas 4 °C temperatūroje.

## 1.5.2 Antikūno padengimo tyrimas

Anti-CA125 pasidengimas ant Au paviršiaus tirtas, naudojant vaizduojantį elipsometrą (Accurion GmbH, NanofilmEP, Germany), esant 658 nm lazerio bangos ilgiui. Aukščių žemėlapiai matuoti esant  $56^\circ$  spindulio kritimo kampui. Suformuota -COOH danga ir anti-CA125 modeliuoti kaip 'organiniai' sluoksniai, kur atspindžio koeficientas  $n = 1.5$  ir  $k = 0$ . Taip pat, šis prietaisas su integruota SPR sistema, naudotas CA125 atpažinimui, leidžiant CA125, esant  $25 \mu\text{Lmin}^{-1}$  tekėjimo greičiui, registruojant duomenis kas 30 s.

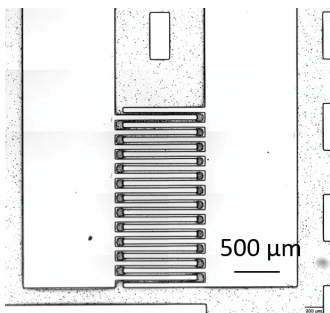
## 1.5.3 Elektrocheminis tyrimas vėžio antigeno 125 nustatymui

CHIInstrument, naudotas elektrocheminės impedanso spektroskopijos (EIS) matavimams dažnių diapozone nuo 100 000 Hz iki 0.1 Hz (matuojant 20 verčių), pastovi srovė (DC) nustatyta, esant atviros grandinės potencialui (OCP), esant 10 mV amplitudei. Gauti duomenys atvaizduoti Nyquist ir  $Z'$ ,  $Z''$  priklausomybės nuo dažnio išraiškose. Kreivės analizuotos pritaikant Randles elektrinę grandinę, iš kurios paskaičiuota krūvio pernašos varža ( $R_{ct}$ ) kaip kintantis parametras su didėjančia koncentracija CA125. Palyginimui, CA125 kalibravimui naudota  $Z''$  maksimali vertė  $Z''$  nuo dažnio priklausomybėje. Taip pat, CA125 kalibruotas parinktiems dažniams, plačiame dažnių diapozone, naudojant imitancijos funkcijos analizę.

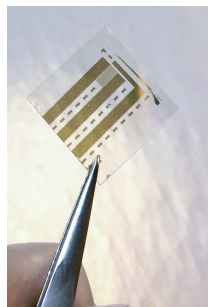
## 2. Rezultatai ir diskusija

### 2.1 Persidengiančių šukų tipo elektrodų tyrimas

Minkštoji litografija ( $\mu$ CP) ir cheminis ėsdinimas buvo naudoti IDA elektrodų paruošimui. Rašalu buvo pasirinktas  $C_{20}H_{42}S$  tiolis, antspaudavimui ant Au paviršiaus, skirtas apsaugoti Au nuo cheminio ėsdinimo proceso. Ištirti keli  $\mu$ CP ir cheminio ėsdinimo laikai 0.5 min, 1 min, 2 min, 5 min ir 10 min.



(a)



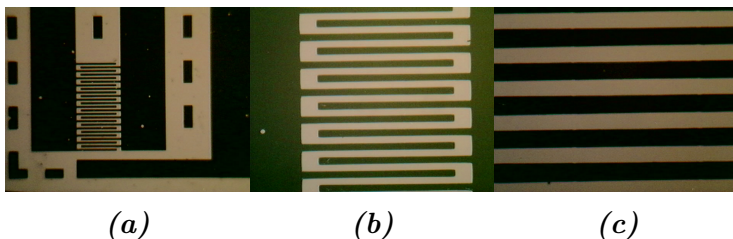
(b)

**2.1 Pav.** Paruošto PDMS spaudo optinio mikroskopo vaizdas, vaizduojantis dominančią sritį su  $40 \mu\text{m}$  šukų tipo mikro struktūromis (a); IDA elektrodas, esant optimalioms ruošimo sąlygoms:  $\mu$ CP laikas 1 min., cheminio ėsdinimo laikas - 5 min (b).

Vienalytis apsauginis SAM sluoksnis buvo suformuotas, kai rašaluoto spaudo ir 20 nm Au padengto stiklo substrato kontaktas buvo 1 min. Po  $\mu$ CP proceso, PDMS spaudas buvo sonikuotas etanolyje 30 s ir pakartotinai panaudotas kelioms (iki 15 kartų)  $\mu$ CP procedūroms ant naujų Au substratų. Dėl ilgesnio spaudo naudojimo kilo tokių problemų, kaip pats spaudo išbrinkimas, dėl ko padidėjo atspausdinto SAM sluoksnio užimamas plotas. IDA kokybei įvertinti, šukų juostos plotis ir defektai (Au mikro/nanostruktūros laisvojoje zonoje) buvo stebimi optiniu mikros-

kopu. Visų pirma, apsauginio sluoksnio kokybė buvo optimizuota keičiant  $C_{20}H_{42}S$  inkubavimo laiką nuo 0.5 iki 10 min., naudojant 5 min cheminio ėsdinimo procedūrą. Paruoštos mikrošukos struktūros po cheminio ėsdinimo buvo didesnio pločio, kai spaudo ir aukso kontakto laikas buvo ilgesnis nei 1 min, kas galėjo nutikti dėl rašalo išsiliejimo už struktūrų ribų. Trumpesnis nei 1 min PDMS spaudo ir Au kontaktinis laikas buvo nepakankamas SAM pasidengimui.

Pastebėta, kad cheminio ėsdinimo procesas mikro juostų šukų zonoje buvo greitesnis nei kontaktinio takelio zonoje, todėl reikėjo optimizuoti ėsdinimo laiką. Taikant trumpesnę ėsdinimo laiką (1 - 5 min.), Au struktūros nepilnai išsiėdino, palikdamos mikro-/nano Au salų pėdsakus. Ilgesnis ėsdinimo laikas padidino mikrojuostos kraštų šiurkštumą ir sumažino mikro juostos plotį ( $35 \pm 5 \mu\text{m}$ ). Ėsdinimo trukmė buvo apribota iki 5 min, gaunant numatomą pločio vertę  $40 \pm 2 \mu\text{m}$ .



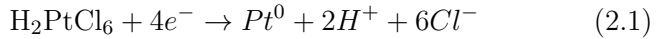
**2.2 Pav.** *Optinio mikroskopo atvaizdai, optimizuotomis IDA ruošimo sąlygomis, vaizduojantys 3 elektrodų (a), persiklojančių šukų zoną (b) ir defektų laisvosios zonos (c) vaizdą po optimizuoto 5 min cheminio ėsdinimo.*

PDMS spaudo rašalo inkubavimas,  $\mu\text{CP}$  ir cheminis ėsdinimas naudoti IDA formavimui užtruko ne ilgiau nei 10 minučių. Tokiu būdu buvo paruošti 125 vienetai IDA elektrodų tolimesniam naudojimui. Prieš elektrochemiškai charakterizuojant, paruošti IDA elektrodai buvo apdoroti naudojant aukštos galios ultravioletinę (UV) šviesą. Keletas UV apšvietimo laikų (10, 30, 60 min.) buvo tiriami optimizuojant laiką reikalingą tiolio ir aukso ryšio (-SH)

sunaikinimui. Kadangi 10 min. buvo per trumpas laikas gauti švarų Au paviršių, o 30-60 min davė švarų Au paviršių, 30 min buvo pasirinktas kaip optimalus (trumpesnis) UV apdorojimo laikas likusiam tiolio apsauginiam sluoksniui pašalinti. Kad būtų išvengta tiolių likučių, IDA elektrodai buvo plaunami  $SC_1$  tirpalu, po kurio Au paviršius tampa hidrofilinis, kas yra švaraus Au įrodymas.

## 2.2 Persidengiančių šukų tipo elektrodų modifikavimas Pt $H_2O_2$ nustatymui

Paruošti IDA elektrodai buvo prijungti prie modifikuotos USB jungties elektrocheminiam platinos padengimui. Elektrocheminis procesas, vykstantis nusodinimo metu ( $H_2PtCl_6$  tirpale) pavaizduotas lygtyje 2.1.

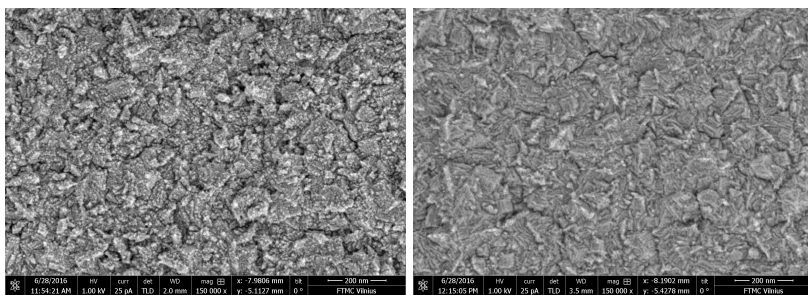


Siekiant nustatyti elektrochemiškai aktyvų paviršiaus plotą (EASA) ir Pt morfologiją, buvo ištirti keli galimi potencialų skleidimo greičiai nuo 10 iki 100  $mVs^{-1}$ .

Šiurkštumo faktoriaus ( $R_f$ ) skaičiavimui, nustatytas EASA buvo padalintas iš geometrinio IDA elektrodo ploto. Gautos  $R_f$  vertės padidėjo nuo 49.8 - 214.0 kartų, priklausomai nuo potencialų skleidimo greičio. Pt dangų suskilimai, buvo stebimi, kai naudotas lėtas potencialų skleidimo greitis (10  $mVs^{-1}$ ) ir netgi dangos lupimasis esant 5  $mVs^{-1}$  greičiui.

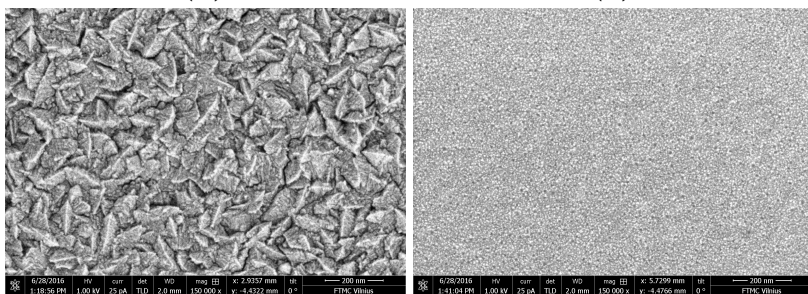
Pav 2.3 pavaizduoti, SEM vaizdai, gauti skirtingiems Pt nusodinimo potencialų skleidimo greičiams. Priklausomai nuo skenavimo greičio buvo suformuoti 5 - 140 nm nanokristalai. Didžiausi kristalai susiformavo, naudojant 50  $mVs^{-1}$  potencialų skleidimo greitį platinizavimo metu ir Pt struktūrizuoti IDA buvo naudoti tolimesniuose tyrimuose.

Cheminių elementų kompozicija buvo identifikuota, naudojant SEM kombinuotą su EDS. Šiam eksperimentui, viena iš IDA elektrodo šukų buvo atrankiai platinizuota, naudojant optimizuotą 50



(a)

(b)



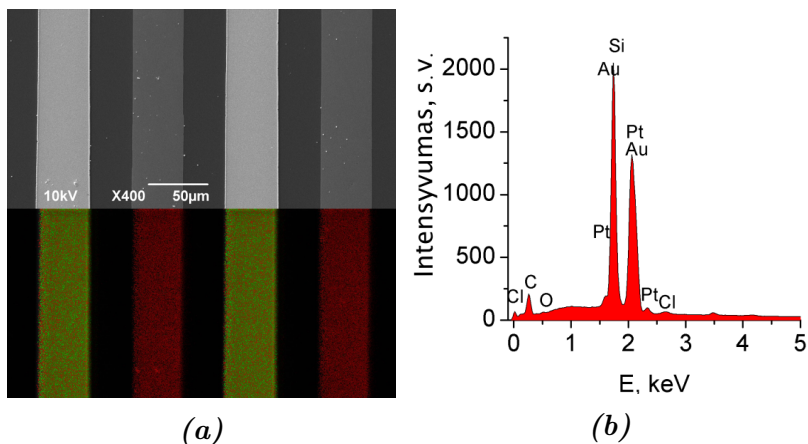
(c)

(d)

**2.3 Pav.** SEM vaizdai po Pt elektrocheminio padengimo potencialų intervale nuo 0.4 iki 0.8 V vs. Ag/AgCl, esant  $5 \text{ mVs}^{-1}$  (a),  $10 \text{ mVs}^{-1}$  (b),  $50 \text{ mVs}^{-1}$  (c),  $100 \text{ mVs}^{-1}$  (d) skleidimo greičiams.

$\text{mVs}^{-1}$  potencialų skleidimo greitį. Cheminių elementų pasiskirstymo gautas vaizdas rodė, kad Au buvo visiškai padengtas Pt (96.9 %) danga. Zonoje, kur Pt nebuvo elektrochemiškai sodinama, tik mažas kiekis Pt (4.2 %) buvo nustatytas, kas rodo lokalią Pt nusodinimą.

Siekiant ištirti gautos Pt panaudojimą elektrocheminiam jutikliui,  $\text{H}_2\text{O}_2$  buvo naudotas kaip analizė. Pav 2.5 (a), pateikta CV registruota 0.1 M PB pH 7.3 be analizės (juoda linija) ir su keleta koncentracijų analizės ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Kaip matoma, CV neutralaus pH buferyje rodo tipišką Pt kristalų elektrocheminį atsaką [2].  $\text{H}_2\text{O}_2$  oksidacija vyko potencialų intervale nuo 0.4 iki 0.8 V (Ag/AgCl). Didėjantis kiekis analizės įtakojo oksidacijos ir redukcijos srovės

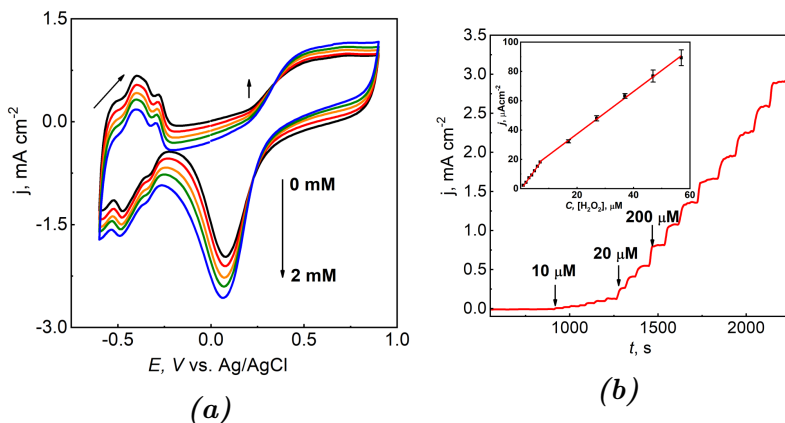


**2.4 Pav.** EDS spalvų žemėlapis vaizduojantis Pt (žalia) zoną po elektrocheminio nusodinimo ant Au (raudona) (a), EDX spektras, vaizduojantis elementų kompoziciją ant IDA elektrodo (b).

stiprio tankio didėjimą. Tačiau, elektrono pernaša oksidacijos metu buvo lėtesnis procesas, nei anodiniame diapozone, didinant  $\text{H}_2\text{O}_2$  koncentraciją. Jautris  $\text{H}_2\text{O}_2$  matuojant CV buvo  $0.23 \text{ mAcm}^{-2} \text{ mM}^{-1}$  ir  $0.34 \text{ mAcm}^{-2} \text{ mM}^{-1}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  atitinkamai oksidacijos ir redukcijos zonose. Skirtumai tarp katodinių ir anodinių sričių jautrio galimi dėl skirtingo elektronų perdavimo greičio oksidacijos ir redukcijos metu, kuri lemia atitinkamai Pt paviršiaus oksidacijos ir susidariusių oksidų redukcija. Papildomai,  $\text{H}_2\text{O}_2$  kalibravimas katodinėje ir anodinėje srityse buvo atliktas naudojant chronoamperometriją. Pav. 2.5 (b) pavaizduotas atsakas į  $\text{H}_2\text{O}_2$  koncentracijos didėjimą, matuojant srovės keitimąsi, esant fiksuotai potencialų vertei. Buvo nustatyta, kad geriausias jautris  $\text{H}_2\text{O}_2$  atpažinimui pasiektas, esant  $+0.35 \text{ V}$  fiksuotam potencialui ir šis potencialas buvo pasirinktas kaip optimalus tolimesniems eksperimentams. Ištirtas  $\text{H}_2\text{O}_2$  koncentracijų diapazonas nuo  $1 \text{ M}$  iki  $6 \text{ mM}$ , tačiau grafike pateikti atsakai iki  $2 \text{ mM}$ , nes mažesnių koncentracijų diapazonas yra aktualesnis jutikliams. Pav. 2.5 (b) įterpatoje kalibracinėje tiesėje matyti, jog elektrocheminis atsakas buvo ne visiškai tiesiškai proporcingas  $\text{H}_2\text{O}_2$  koncentracijai. Nustatyta,



kad tiesinis  $\text{H}_2\text{O}_2$  aptikimo diapozonas skyla į du intervalus nuo 1 iki 8  $\mu\text{M}$  ir nuo 10  $\mu\text{M}$  iki 6  $\text{mM}$ , tuo tarpu LOD vertė, apskaičiuota pagal kalibracinę kreivę naudojant  $3\sigma$  metodą (3 kartus didesnis už kalibracinės spektrai standartinį nuokrypį, padalintą iš nuolinkio vertės), buvo 21.7 nM, o Pt IDA mikroelektrodo jautris  $\text{H}_2\text{O}_2$  buvo 770 ir 428  $\mu\text{Acm}^{-2}\text{mM}^{-1}$  atitinkamai pirmajam ir antrajam linijiniam diapazonui. Dauguma esamų darbų naudoja sunormuotą srovę geometriniam elektrodo plotui, mūsų atveju tai būtų 2662 ir 1443  $\mu\text{Acm}^{-2}\text{mM}^{-1}$  kiekvienam tiesiniam diapazonui. Palyginus su kitais literatūroje skelbiamais darbais, mūsų gautas jautris buvo beveik 300 kartų didesnis, nei gautas literatūroje (2.70  $\mu\text{Acm}^{-2}\text{mM}^{-1}$ ), kai atpažinimui naudotas Pt elektrodas [3].



**2.5 Pav.**  $\text{H}_2\text{O}_2$  aptikimas 0.1 M PB. CVs atsakas didėjant  $\text{H}_2\text{O}_2$  koncentracijai nuo 0 iki 2 mM, kas 0.5 mM, potencialų skleidimo greitis  $50 \text{ mVs}^{-1}$  (a), chronoamperograma, esant pastoviam potencialui 0.35 V vs. Ag/AgCl, kur  $\text{H}_2\text{O}_2$  injekcijos koncentracija nuo 10  $\mu\text{M}$  iki 2 mM.

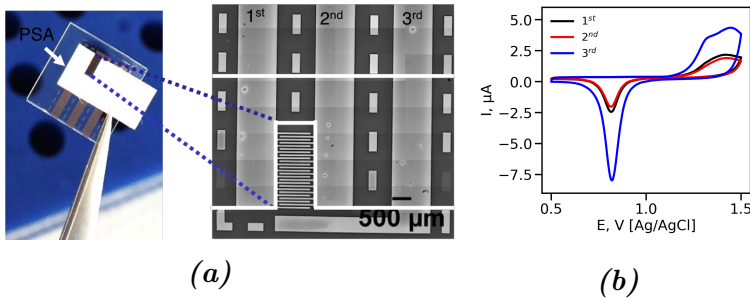
Taigi tokią suformuotą Pt IDA mikroelektrodų sistemą galima naudoti aptikti mažas (21.7 nM)  $\text{H}_2\text{O}_2$  koncentracijas, o jos elektrocheminės savybės yra artimos Pt nanokristalinių struktūrų charakteristikoms. Tuo pačiu metu tokių Pt nanostruktūrų ruošimas yra paprastas ir suderinamas su kitais procesais, reikalingais

mikrosistemai kurti.

## 2.3 Miniatiūrizuotos elektrocheminės celės tyrimas

### 2.3.1 Persidengiančių šukų tipo elektrodų kontaktų izoliavimas

Kadangi IDA mikrojuostos buvo dominanti zona, reikėjo užmaskuoti Au kontaktinius takelius. Pav 2.6 (a) pavaizduota IDA elektrodo su suformuota PSA kauke (balta) nuotrauka, o padidinta zona - mikroskopo nuotrauka, vaizduojanti paruoštą IDA su kontaktiniais takeliais, Au stačiakampiai yra izoliuotos zonos, naudotos PDMS lygiavimui. Pav 2.6 (b) pateiktos CV, rodo elektrocheminį Au elgesį  $H_2SO_4$ , kur katodinė smailė ties  $815 \pm 2$  mV. Lent 2.1 pateiktas iš mikroskopo nuotraukos apskaičiuotas darbinųjų elektrodų plotas ir elektrocheminės charakteristikos, kai WE buvo prisegtas prie kontakto Nr. 1, 2, arba 3.



**2.6 Pav.** Dominanti zona izoliuota, naudojant PSA juostą (a). Optinio mikroskopo nuotraukos, vaizduojančios dominančių elektrochemijos sritį, 1<sup>as</sup>, 2<sup>as</sup>, 3<sup>as</sup> elektrodų kontaktai. CVs 10 mM  $H_2SO_4$ , potencialų sklaidymo greitis  $50$  mVs<sup>-1</sup>, kur 1<sup>as</sup>, 2<sup>as</sup>, 3<sup>as</sup> kontaktai pajungti paeiliui kaip WE (b).

2<sup>as</sup> elektrodas turėjo didesnę plotą (18 %) nei 1<sup>as</sup> elektrodas, kas gali būti paaiškinama didesniu mikrojuostų skaičiumi 1<sup>oje</sup> šu-

**2.1 Lent.** Geometrinis plotas - (a) (iš mikroskopo vaizdo) ir elektrocheminiai parametrai iš CV, 10 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Paklaida skaičiuota esant 1 STDEV.

	A, cm <sup>2</sup> x10 <sup>-3</sup>	i <sub>pc</sub> , μA	Q, μC	E, mV
1 <sup>-as</sup>	4.61 ± 0.08	2.6 ± 0.09	5.71 ± 0.04	815 ± 2
2 <sup>-as</sup>	4.32 ± 0.06	2.25 ± 0.013	4.73 ± 0.07	815 ± 1
3 <sup>-as</sup>	13.2 ± 0.2	7.817 ± 0.29	16.46 ± 0.15	815 ± 2

koje. 3<sup>-as</sup> elektrodas turėjo didžiausią paviršiaus plotą (matoma iš mikroskopo nuotraukos pažymėtoje zonoje) sąlygojantis didesnės bendro krūvio vertes (16.46 ± 0.15), skaičiuotas iš integruoto ploto po katodine smaile. Bendras krūvis buvo skaičiuotas po elektrodų izoliavimo, naudojant PSA juostą iš 9 matavimų su 1% standartiniu nuokrypiu (1 STDEV).

### 2.3.2 Persidengiančių šukų tipo elektrocheminės celės dizainas ir konfigūracija

Pav 1.3 pavaizduoti elektrocheminių celių tipai naudoti šiame darbe. Pav 1.3 (d) konfigūracijoje, buvo matuoti skirtingi potencialų sklaidimo greičiai WE elektrodai, registruojant CV, 1 mM FcMeOH, 0.1 M PB, naudojant išorinį CE ir RE. Papildomai, IDA tirta naudojant Pav 1.3 (e) celę, kur Ag/AgCl pakeistas miniatiūrizuotu Au elektrodu ir naudojamas mikrošukų pagalbinis CE. Kai buvo naudotas CE išorinis, nuolinkio vertės buvo 0.0741 μA(Vs<sup>-1</sup>)<sup>-1/2</sup> ir -0.0371 μA(Vs<sup>-1</sup>)<sup>-1/2</sup>, su R<sup>2</sup> lygiu 0.998 ir 0.969 atitinkamai i<sub>pa</sub> ir i<sub>pc</sub> smailėms.

$$i_p = 0.4463 nFAC \left( \frac{nFvD}{RT} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (2.2)$$

Kai buvo naudojamas integruotas CE, skaičiuotos nuolinkio vertės buvo 0.0445 μA(Vs<sup>-1</sup>)<sup>-1/2</sup> ir -0.0348 μA(Vs<sup>-1</sup>)<sup>-1/2</sup>, su R<sup>2</sup> lygiu 0.989 ir 0.976 atitinkamai i<sub>pa</sub> ir i<sub>pc</sub> smailėms. Difuzijos koeficientas FcMeOH buvo skaičiuotas naudojant Randless-Sevcick

priklausomybę ( 2.2), gauta vertė  $2.002 \times 10^{-7} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$  vėliau buvo naudota CV simuliacijai.

## 2.4 Difuzijos simuliacija ir palyginimas su eksperimentu

### 2.4.1 Modelis simuliacijai

CV buvo simuliuotos naudojant COMSOL Multiphysics 5.3a dviems atvejams, kai CE išorinis ir kai CE integruotas, esant skirtingiems potencialų skleidimo greičiams (10, 30, 50, 100, 150, ir 200 mVs<sup>-1</sup>) ir esant tam pačiam potencialų intervalui kaip naudota tyrime (nuo -0.2 iki 0.6 V). Redokso molekulių transportas simuliuotas remiantis Fikso antruoju dėsnium:

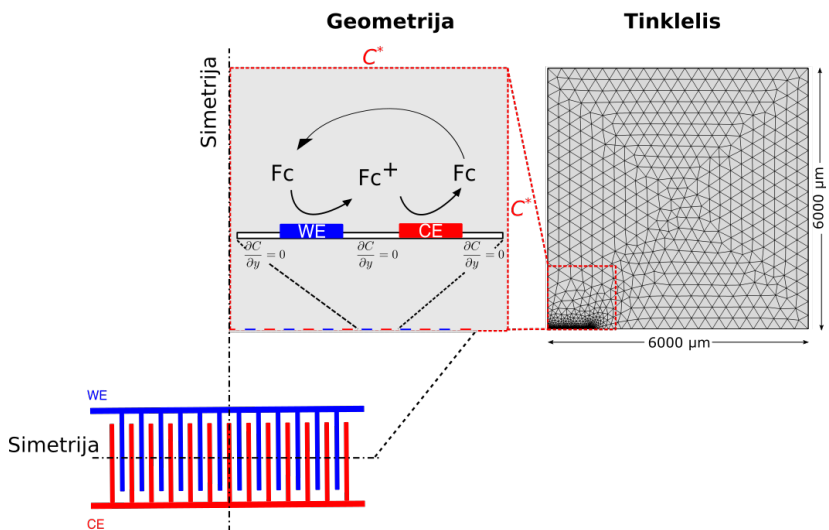
$$\frac{dc_i}{dt} = D_i \nabla^2 c_i \quad (2.3)$$

,kur  $c_i$  - redokso aktyviųjų molekulių (i) koncentracija,  $F_c$  - neutralus ferocenas,  $F_c^+$  - oksiduotas ferocenas ir  $D_i$  - difuzijos koeficientas redokso aktyvioms molekulėms i lygus  $2.002 \times 10^{-7}$  cm<sup>2</sup>s<sup>-1</sup> [8], bendra  $F_c$  koncentracija buvo 1 mM, o  $F_c^+$  buvo 0 mM.

Pav 2.7 pateikiamas sukurtas modelis IDA elektrodams. Modeliavimas buvo atliktas naudojant 2D geometriją, naudojant šoninę simetriją išilgai 900 μm mikrojuostų, siekiant sutrumpinti skaičiavimo laiką. Feroceno redokso poros oksidacija ir redukcija tiek darbiniam, tiek priešiniame elektrode buvo aprašytos naudojant Butlerio-Volmerio lygtį:

$$J_{F_{c+}} = c_{F_c} k_0 e^{((1-\alpha)\frac{zF}{RT}\eta)} - c_{F_c^+} k_0 e^{(-\alpha\frac{zF}{RT}\eta)} \quad (2.4)$$

Kur  $\eta$  apibrėžiamas kaip  $\eta = E - E_{eq}$ .  $E_{eq}$  buvo nustatyta kaip 0 V. Temperatūra buvo nustatyta kaip 300 K,  $\alpha = 0.5$ ,  $k_0$  nustatyta kaip 5 cms<sup>-1</sup>,  $F_c/F_c^+$  redokso poros kinetikoms,  $z = +1$ , ir  $F$  Faraday's konstanta. Ant integruoto CE, tik  $F_c$  redukcijos procesas svarstomas ir pastovus potencialas bu nustatytas kaip  $E = -0.3$  V, gautas iš tyrimo duomenų. Kitos modeliavimo srities ribos buvo nustatytos kaip bendroji koncentracija (pažymėta kaip  $C^*$ ),  $C_{F_c} = 1$  mM,  $C_{F_c^+} = 0$  mM), simetrijos riba (pažymėta kaip simetrijos linija), arba ribos, kur nevyko jokie transporto ( $\partial C/\partial y = 0$ ).



**2.7 Pav.** IDA elektrodo modelio schema, apimanti geometrijos, aukščio ir pločio srities, tinklelio ir ribinių sąlygų pasiskirstymą 1 mM FcMeOH.

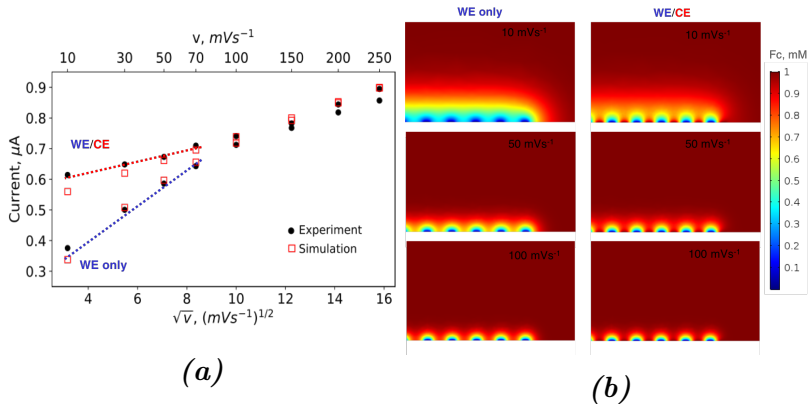
Elementų skaičius buvo optimizuotas, kad būtų aukštos skiriamosios gebos tinklelis, ypač IDA elektrodo kraštuose, kur reikalaujama, kad elementų skaičius būtų 12000. Srovė buvo apskaičiuota integruojant difuzinį  $\text{FeMeOH}$  srautą per WE ir padauginus iš dviejų ir iš mikroelektrodo juostos ilgio ( $2 \times 900 \mu\text{m}$ ).

## 2.4.2 Palyginimas tyrimo su simuliacijos duomenimis

Pav 2.8 (a) pavaizduoti tyrimo (juodos linijos) ir modeliuoto (raudoni taškai), kai CE buvo išorinis ir CE integruotas (WE/CE). Tuo atveju, kai mes turime tik WE konfigūraciją, CE mikroelektrodų šukos buvo atjungtos, o išorinis Au elektrodas buvo naudojamas kaip pagalbinis.

Srovės stiprio vertės palygintos ties pusiasvyros būseną ir gautos vertės palygintos abiemis konfigūracijoms. Didžiausias skirtumas tarp WE ir WE/CE integruotų atsakų stebėtas, kai potencialų skleidimo greitis buvo mažesnis nei  $100 \text{ mVs}^{-1}$  tiek iš pamatuotų, tiek iš simuliuotų verčių. Esant  $10 \text{ mVs}^{-1}$  potencialų skleidimo greičiui, srovės stiprio vertės lyginant abi konfigūracijas skyrėsi daugiau nei 2 kartus. Tačiau esant didesniai potencialų skleidimo greičiui, srovės vertės tarp dviejų konfigūracijų sutampa. Šį poveikį galima suprasti įvertinus feroceno koncentracijos profilius abiejose tyrimo konfigūracijose. Pav 2.8 (b) pateikti feroceno koncentracijos profiliai, esant skirtingiems potencialų skleidimo greičiams ( $10, 50$  ir  $100 \text{ mVs}^{-1}$ ).

Iš 2D difuzijos profilių galima pastebėti, kad feroceno oksidacijos metu WE su integruotu CE sumažino difuzijos profilių persidengimą iš gretimų WE mikrojuostų. Esant mažesniai potencialų skenavimo greičiui, pakako laiko, kad difuzijos profiliai sutaptų ir todėl stebimas skirtumas tik tarp WE ir WE/CE. Esant greitesniems potencialų skleidimo greičiams ( $>100 \text{ mVs}^{-1}$ ), registruojant CV praėjo per mažai laiko, kad įvyktų difuzinis sutapimas, todėl nepastebime skirtumo tarp WE ir WE/CE konfigūracijų. WE/CE atveju, efektyviai padidėja redokso molekulių srautas (matuojamas kaip srovės padidėjimas) į WE paviršių. WE/CE konfigūra-



**2.8 Pav.** *Srovės stiprio vertės (tyrimo ir modeliuotos) ties 0.3 V, įvairių potencialų skleidimo greičių (10, 30, 50, 100, 150, ir 200  $\text{mVs}^{-1}$ ) WE ir WE/CE konfigūracijoms (a). Feroceno koncentracijos profiliai esant trims skirtingiems potencialų skleidimo greičiams, vaizduojantys bendrą difuzijos iš persipynusių elektrodų persidengimą, esant mažam potencialų skleidimo greičiui (b).*

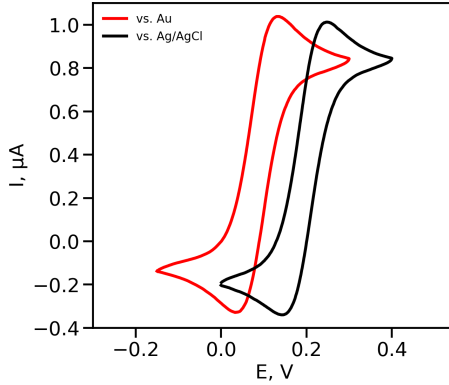
cija sumažina difuzinio sluoksnio dydį, užkertant kelią susidaryti linijiniams difuzijos profiliams. Galima tikėtis, kad integruotojo CE, regeneruojančio redokso molekules, slopinimas ir difuzinis skirtinųjų WE mikrojuostų sutapimas padidins sistemos, kuri priklauso nuo feroceno sąveikos su analite, jautrį.

## 2.5 Au pseudo-palyginamojo elektrodo charakterizavimas

Nepaisant to, kad Ag/AgCl dažniausiai naudojamas kaip palyginamasis elektrodas biojutikliuose; literatūroje pabrėžiama, kad gali atsirasti tam tikrų netikslumų, lemiančių žemą palyginamojo potencialų matavimų atkuriamumą [9].

Pav. 1.3 (d) pavaizduota elektrocheminė celė naudota, siekiant supaprastinti elektrocheminės celės ruošimą. IDA buvo suprojektuotas kaip trijų elektrodų sistema, kur  $1^{-as}$ - WE,  $2^{-as}$ - CE ir





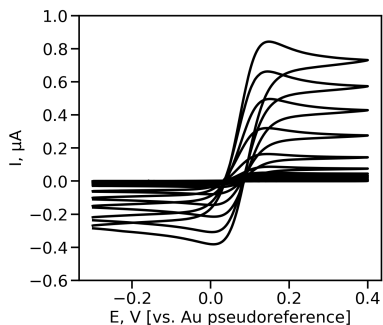
**2.9 Pav.** CV, kai WE su integruotu CE registruota 1 mM Fc-MeOH, 10 mM PB, 50 mVs<sup>-1</sup> vs. Ag/AgCl ir Au palyginamiesiems elektrodams, kur potencialas pasislenka -100 mV.

3<sup>-as</sup>- RE elektrodai. Vengiant papildomo modifikavimo etapo, Au (3<sup>-as</sup>) buvo laikomas palyginamuoju elektrodu. Au buvo pasirinktas dėl supaprastinto IDA paruošimo, taip pat dėl biologinio suderinamumo, dėl santykinai stabilaus Au etaloninio potencialų ir patvarumo [10, 11, 12, 13]. Pav 2.9, CV matuotos vs. Ag/AgCl ir Au pseudopalyginamuoju elektrodu rodė 100 mV pasislinkimą į mažesnių potencialų pusę.

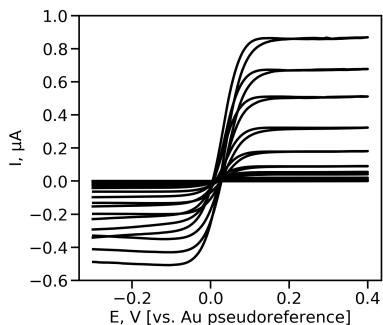
Vidutinis skirtumas tarp smailių potencialų ( $\Delta E_p$ ) buvo  $116 \pm 1.2$  mV, kas rodo, kad sistema yra pusiau grįžtama, kur  $I_{pa}/I_{pc}$  santykis buvo  $1.006 \pm 0.003$ . Standartinis katodinių ir anodinių srovių ir potencialų nuokrypis, apskaičiuotas iš 9 matavimų, buvo mažesnis nei 1%. Au pseudoelektrodo stabilumas buvo su 1 %  $\Delta E_p$  svyravimu.

Kadangi esant integruotai WE ir CE konfigūracijai, numatomas didesnis jautrį iki 2 kartų tyrimo ir modeliuojamose pastoviuųjų srovių vertėse esant mažam potencialo skenavimo greičiui; FcMeOH buvo tiriamas kaip pavyzdinė sistema šiai koncepcijai įrodyti.

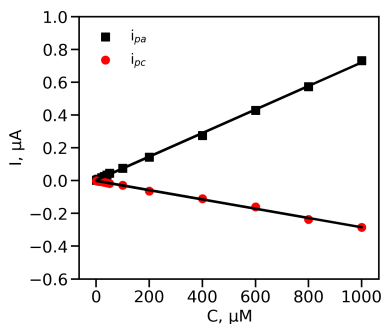
Siekiant nustatyti FcMeOH, CV koncentracijoms nuo 0.5 μM



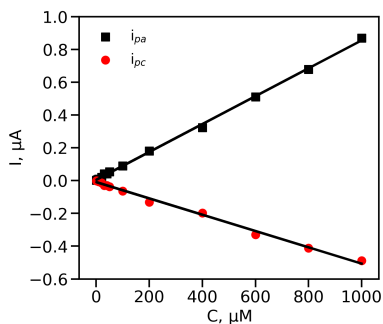
(a)



(b)



(c)



(d)

**2.10 Pav.** CV *FcMeOH* oksidacijos ir redukcijos dinaminiam intervale nuo  $0.5 \mu\text{M}$  iki  $1000 \mu\text{M}$ , esant  $50 \text{ mVs}^{-1}$  (a)  $5 \text{ mVs}^{-1}$  (b) potencialų skleidimo greičiams. Kalibracinės tiesės, gautos iš anodinės ( $i_{pa}$ ) ir katodinės ( $i_{pc}$ ) srovės  $50 \text{ mVs}^{-1}$  (c) ir  $5 \text{ mVs}^{-1}$  (d).

iki  $1000 \mu\text{M}$  buvo naudota, esant didesniam ( $50 \text{ mVs}^{-1}$ ) ir mažesniajam ( $5 \text{ mVs}^{-1}$ ) potencialų skleidimo greičiams. Pav. 2.10 pavaizduota anodinių ir katodinių srovių vertės, kurios didėjo didėjant redokso aktyviųjų molekulių koncentracijai. Įdomu tai, kad padidėjus koncentracijai, anodinė srovė padidėjo daug greičiau nei katodinė. Kalibracinėms spektrams, naudotos srovės vertės ties  $-0.3 \text{ V}$  ir  $0.4 \text{ V}$ . Kai potencialų skleidimo greitis buvo mažas ( $5 \text{ mVs}^{-1}$ ),

**2.2 Lent.** Nuolinkio vertės iš *FcMeOH* kalibracinių kreivių, esant  $50 \text{ mVs}^{-1}$  ir  $5 \text{ mVs}^{-1}$  potencialų skleidimo greičiams.

	Nuolinkis, $\text{nA}\mu\text{M}^{-1}$		LOD, $\mu\text{M}^{-1}$	
	$i_{pa}$	$i_{pc}$	$i_{pa}$	$i_{pc}$
$50 \text{ mVs}^{-1}$	$0.718 \pm 0.005$	$-0.283 \pm 0.004$	32	74
$5 \text{ mVs}^{-1}$	$0.851 \pm 0.008$	$-0.498 \pm 0.011$	24	51

srovės vertės stabilizavosi, vaizduojančios sferinės difuzijos dominavimą. Taip pat, srovės vertės buvo ženkliai didesnės, naudojant  $5 \text{ mVs}^{-1}$  nei naudojant  $50 \text{ mVs}^{-1}$  potencialų skleidimo greičius. Kalibracinės tiesiškumas tęsėsi visame naudotų koncentracijų diapozone (nuo  $0.5 \mu\text{M}$  iki  $1000 \mu\text{M}$ ) su  $R^2 = 0.999$  ir  $R^2 = 0.998$  atitinkamai  $I_{pa}$  ir  $I_{ca}$  vertėms.

Pav 2.10 (c), (d) pavaizduotos nuolinkio vertės gautos iš srovės nuo koncentracijos priklausomybės. Esant  $50 \text{ mVs}^{-1}$ , jautris skaičiuotas iš nuolinkio buvo  $0.718 \text{ nA}\mu\text{M}^{-1}$  ir  $-0.283 \text{ nA}\mu\text{M}^{-1}$ , su  $R^2$   $0.999$  ir  $0.998$  skaičiuotais atitinkamai  $I_{pa}$  ir  $I_{ca}$  vertėms. Esant  $5 \text{ mVs}^{-1}$ , nuolinkio vertės jautris buvo didesnis  $0.851 \text{ nA}\mu\text{M}^{-1}$  ir  $-0.498 \text{ nA}\mu\text{M}^{-1}$ , su  $R^2$   $0.999$  ir  $0.995$ , atitinkamai  $i_{pa}$  ir  $i_{pc}$ . Lent 2.2 pateiktos LOD vertės, kur LOD vertė  $32 \mu\text{M}^{-1}$  ir  $24 \mu\text{M}^{-1}$  esant atitinkamai  $50 \text{ mVs}^{-1}$  ir  $5 \text{ mVs}^{-1}$  potencialų skleidimo greičiams. Geriausias jautris  $0.851 \text{ nA}\mu\text{M}^{-1}$  gautas, esant  $5 \text{ mVs}^{-1}$  buvo 1.6 karto didesnis nei paskelbtas literatūroje  $0.547 \text{ nA}\mu\text{M}^{-1}$  ir  $0.521 \text{ nA}\mu\text{M}^{-1}$  [13].

## 2.6 Vėžio antigeno 125 nustatymas naudojant pavišiaus plazmonų rezonansą

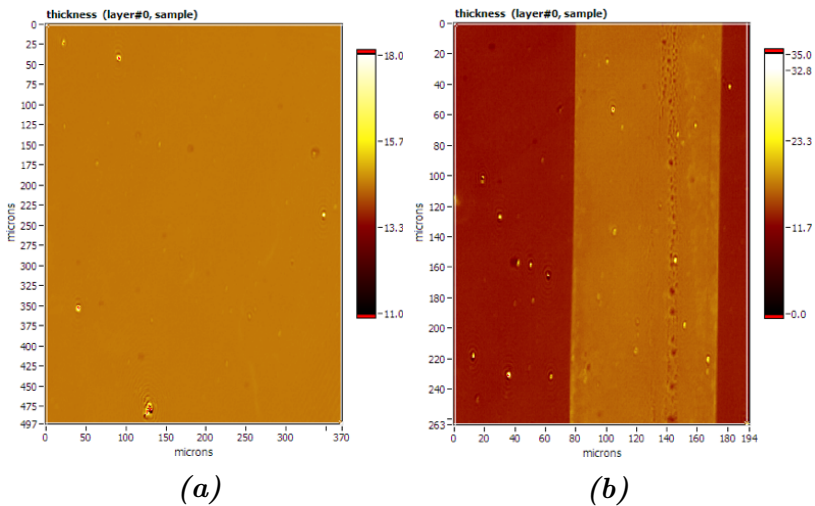
CA125 nustatymui buvo naudojamas specifinis receptorių antikūnas (anti-CA125). Siekiant užtikrinti gerą anti-CA125 immo-

bilizavimą, pirmiausia ant Au buvo suformuotas karboksi SAM. -COOH grupės buvo aktyvuotos naudojant NHS/EDC. Vėliau, anti-CA125 buvo immobilizuotas naudojant  $\mu$ CP. Buvo tiriami keli antikūno ant PDMS spaudos inkubavimo laikai 5, 10, 20 ir 40 min. Po 5 ar 10 minučių inkubacijos, spaudas vis dar buvo hidrofobinis, o po 20 minučių - PDMS spaudas tapo hidrofilinis, reiškiantis, kad antikūnas fiziškai sėda ant PDMS spaudos. Ilgesnė inkubacija - 40 min. nedavė jokių pokyčių, o optimizuotas buvo pasirinktas trumpesnis 20 min laikas. Anti-CA125 rašalu buvo naudojamas keletai kartų  $\mu$ CP procedūrai. Po inkubavimo, PDMS spaudas švelniai nudžiovintas  $N_2$  ir priglaustas ant NHS/EDC aktyvuoto SAM paviršiaus. Kontaktinis spaudos ir substrato laikas varijuotas 5, 10, 20 ir 40 min. Pastebėta, kad per trumpą sąlyčio laiką 5 - 10 min. baltymų sluoksnis nebuvo vienalytis, o po 20 min  $\mu$ CP raštas su siektinomis 50  $\mu$ m linijomis buvo gautas ir ilgesni kontakto laikai nereikalingi. Pagrindinis privalumas naudojant  $\mu$ CP buvo gebėjimas struktūrizuoti anti-CA125 kaip vizualiai atpažinamą raštą, neprarandant didelio rašalo kiekio. Anti-CA125 pasidengimas buvo tiriamas, naudojant vaizdinantį elipsometrą.

### 2.6.1 Antikūno pasidengimo ant paviršiaus tyrimas

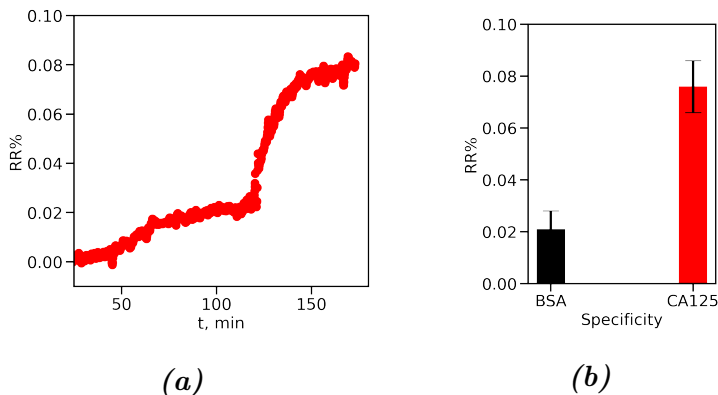
Antikūnų padengimui ant substrato buvo naudojamas elipsometrinis vaizdavimas. Pav. 2.11 pavaizduotas raštuoto anti-CA125 aukščio žemėlapis. Vidutinis paviršiaus padengimas anti-CA125 buvo  $3.79 \pm 0.54$  nm (apskaičiuota iš 7 skirtingų zonų), panašus į anksčiau literatūroje pateiktus baltymų ant paviršiaus pasidengimo duomenis [14, 15].

Au substratas po anti-CA125  $\mu$ CP buvo blokuojamas 2% jaučio albumino serumu (BSA). Pav. 2.12, pavaizduota nespecifinio BSA ir specifinio CA125 sąveikos su anti-CA125 dekoruotu paviršiumi. Palygintos dvi zonos viena: su antikūnais ir be antikūnų. Tam tikras nespecifinis CA125 surišimas galėjo atsirasti dėl neigiamai įkrauto substrato. Santykinis atsakas specifiniam CA125 ( $RR\% = 100\% \times (\delta - \delta_0) / \delta_0$ , kur  $\delta$ - atsako vertė po analitės injekcijos,  $\delta_0$ - atsako vertė po analitės injekcijos) buvo 40 % didesnis zonoje



**2.11 Pav.** Aukščių žemėlapis gautas naudojant vaizdinantį elipsometrą prieš (a) ir po anti-CA125 padengimo ant paviršiaus, naudojant mikrokontakcinį antspaudavimą (b), aukščių skalė nm.

kur anti-CA125 imobilizuotas, nei kur tik blokuotas BSA.



**2.12 Pav.** SPR signalo kitimas laike, kai 0.5 % BSA užleistas nuo 40 iki 120 min. ir  $50\mu\text{gmL}^{-1}$  CA125 nuo 120 iki 170 min, 7.3 pH PB (a) antikūno specifiškumas CA125 (b)

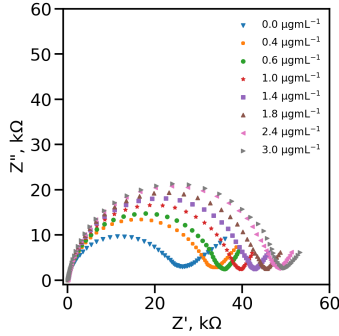
Specifinio CA125 signalas buvo 3.5 karto didesnis nei nespecifinio BSA, kas rodo, jog anti-CA125 yra specifinis antigenui ir paruoštas paviršius pakankamai atrankus nespecifiniai kitų baltymų (BSA) adsorbicijai.

## 2.7 Vėžio antigeno 125 nustatymas naudojant šukų tipo elektrodus

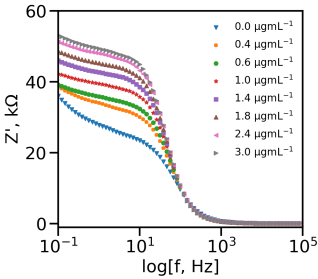
Jutiklis CA125 nustatymui ant IDA Au elektrodų buvo formuotas panašiai kaip ant SPR lusto. Pirmiausiai, SAM -COOH sluoksniu buvo padengtas ant SPR lusto ir aktyvuotas NHS/EDC. Vėliau naudotas  $\mu$ CP antikūno antspaudavimui. CV, registruota Au IDA elektrodai 1 mM FcMeOH prieš ir po SAM padengimo. Po SAM padengimo, anodinė smailė buvo suspausta 40 % ir smailės padėtis pasislinko į didesnių potencialų sritį, i.e. 300 mV. Tuo tarpu, katodinė smailė buvo pilnai suspausta, kas rodo jog Au paviršius yra blokuojamas. Taip pat, skirtumas tarp smailių maksimumų padidėjo, vaizduojantis sulėtėjusią elektrono pernašą, kaip panašiai aptarta literatūroje [16].

Kadangi CV nebuvo jautri antigeno koncentracijos pokyčiams, CA125 jutimui buvo naudojama elektrocheminė impedanso spektroskopija (EIS). EIS spektrai buvo pateikti taip vadinama 'Nyquist' forma, kurios analizuojamos modeliuojant pusapskritimį pritaikant Randles ekvivalentinę grandinę. Kadangi kartais sunku rasti lygiavertę grandinę, užtikrinančią priimtina tyrimo duomenų atitikimą, naudotos dviejų tipų duomenų analizės metodikos: puslankio skersmens supaprastinta analizė, iš skersmens nustatant  $R_{ct}$  išskyrimas ir immitancijos funkcijos analizė. Atitinkamai, skaičiuotos ir palygintos nuolinkio vertės, LOD ir  $R^2$ .

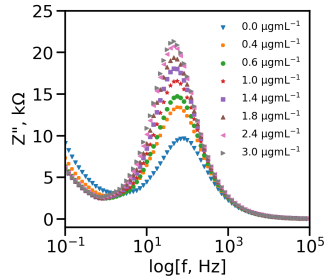
CA125 aptiktas, naudojant EIS, esant koncentracijų diapazonui nuo  $0.4 \mu\text{g mL}^{-1}$  iki  $3 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Pav 2.13 (a) pateiktos Nyquist spektrai, kur gautas beveik idealus puslankis. Puslankio skersmuo didėjo, didėjant CA125 koncentracijai, kaip pavaizduota, rodant lėtesnį krūvio pernešimą CA125 adsorbicijos metu.  $R_{ct}$ , pagal puslankio skersmenį, vertės didėjo nuo  $26.3 \text{ k}\Omega$  iki  $49.9 \text{ k}\Omega$ , didėjant



(a)



(b)

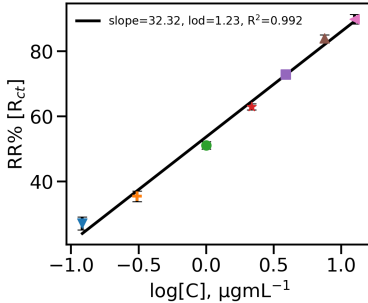


(c)

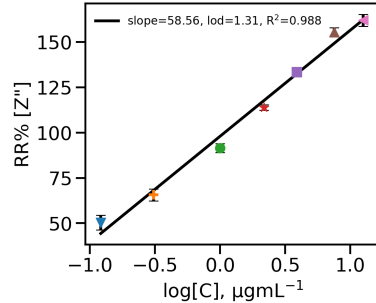
**2.13 Pav.** EIS signalo didėjimas po to kai jutiklis buvo inkubuotas didinant CA125 koncentraciją, Nyquist spektrai (a),  $Z'$  priklausomybė nuo dažnio (b),  $Z''$  priklausomybė nuo dažnio (c), dažnis skleistas nuo 100 000 Hz iki 0.1 Hz, esant 10 mV amplitudei, pastovi srovė (DC) nustatyta, esant atviros grandinės potencialui (OCP).

CA125 koncentracijai nuo 0 iki 3  $\mu\text{g/mL}^{-1}$ . Pav 2.13 (b) pavaizduotoje  $Z'$  priklausomybėje nuo dažnio,  $Z'$  vertės esant mažiems dažniams (0.1 Hz) didėjo nuo 35.2 iki 53.5 k $\Omega$ , didėjant CA125 koncentracijai, kurios yra panašios į varžos vertes, gautas iš  $R_{ct}$ .  $Z'$  nuo dažnio gali būti susieta su  $R_{ct}$  verte, jei pasiekiamos pastovios būsenos vertės žemų dažnių intervale [17]. Pav 2.13 (c) pavai-

zuota  $Z''$  priklausomybė nuo dažnio, rodo maksimalią didžiausios vertės padidėjimą padidėjus CA125 koncentracijai. Gautos smailės maksimalus dažnis ( $23.82 \pm 2.2$  Hz) susijęs su sistemos laiko konstanta. Kadangi laiko konstanta nesikeičia didėjant CA125 koncentracijai, todėl gali būti taikoma pavienių dažnių analizė.



(a)



(b)

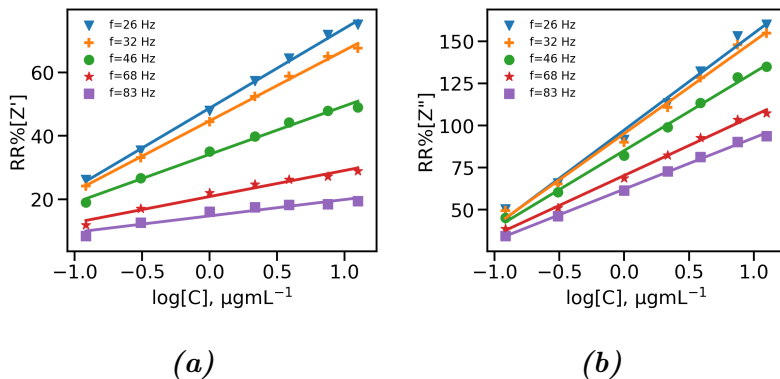
**2.14 Pav.** Kalibracinės, gautos iš  $R_{ct}$  verčių (a) ir smailės  $Z'$  maksimalių verčių (b) CA125 atpažinimui.

Pav 2.13 (b), (c) pateiktos  $Z'$  ir  $Z''$  priklausomybės nuo dažnio, analizuotos keliais metodais, įskaitant  $R_{ct}$  išskyrimą iš Nyquist ir immitancijos funkcijos analizę. Pav 2.14 (a), (b), pavaizduota  $RR\%$  ( $RR\% = 100 \times (\text{Signalas-blankas})/\text{blankas}$ ) priklausomybė nuo CA125 koncentracijos, rodanti sistemos jautrį.  $RR\%$  siekė 90 % vertę, kai duomenys analizuoti iš  $R_{ct}$ .  $RR\%$  siekė 160 %, kai skaičiavimams naudota maksimali  $Z''$  vertė. Analizė, remianti  $Z''$  maksimumu, davė 2 kartus didesnę nuolinio vertę 58.56  $RR\%/\mu\text{gmL}^{-1}$ , lyginant su verte 32.32  $RR\%/\mu\text{gmL}^{-1}$ , skaičiuota naudojant  $R_{ct}$ . LOD buvo palygintas naudojant keletą duomenų analizės metodikų ir apskaičiuotas naudojant formulę 2.5, kur  $\sigma$  - standartinis tiesinės regresijos nuokrypis [18]. Kai  $RR\%$  vertės analizuotos pagal  $R_{ct}$  LOD vertė buvo 1.23  $\mu\text{gmL}^{-1}$ .

$$LOD = \frac{3 \times \sigma}{Slope} \quad (2.5)$$



LOD vertė gauta iš  $Z''$  smailės maksimumų buvo  $1.31 \mu\text{g mL}^{-1}$ , kas yra 6 % didesnė, nei analizuota naudojant  $R_{ct}$ . Papildomai, LOD buvo skaičiuotas iš  $Z'$  ir  $Z''$  priklausomybių nuo dažnio spektro. Dažniai buvo parinkti nuo 0 iki 100 Hz, tie kurie turėjo tik geriausią tiesinį atsaką ( $R^2 > 0.900$ ). Pav 2.15 (a) ir (b) pavaizduotos RR% vertės gautos iš  $Z'$  ir  $Z''$ .



**2.15 Pav.** Kalibracinės CA125 atpažinimui, gautos ties pasirinktais dažniais iš grafiko nuo dažnio  $Z'$  (a) ir  $Z''$  (b).

**2.3 Lent.** Jutiklio CA125 parametrai gauti analizuojant duomenis iš  $Z'$  parinktiems dažniams.

f, Hz	Slope, RR%/µg mL <sup>-1</sup>	LOD, µg mL <sup>-1</sup>	R <sup>2</sup>
26.1	25.1 ± 0.6	1.13	0.998
31.6	22.2 ± 0.5	1.14	0.997
46.4	15.2 ± 0.7	1.28	0.990
68.1	8.2 ± 0.6	1.52	0.971
82.5	5.1 ± 0.7	2.03	0.927

Lent 2.3 pateikti nuolinkis, LOD ir R<sup>2</sup> gauti parinktiems dažniams 26.1, 31.6, 46.4, 68.1, 82.5 Hz - analizuojant  $Z'$  pateikti, su gautu jautriu nuo  $5.1 \pm 0.7$  iki  $25.1 \pm 0.6$  RR%/µg mL<sup>-1</sup> ir LOD nuo 2.03 (82.5 Hz) iki 1.13 (26.1 Hz) µg mL<sup>-1</sup>.

Lent 2.4 pateikti nuolinkis, LOD ir  $R^2$  gauti tiems patiems dažniams, analizuojant  $Z''$ , su gautu jautriu nuo  $30.5 \pm 0.7$  (82.5 Hz) iki  $57.4 \pm 2.6$  RR%/μgmL<sup>-1</sup> (26.1 Hz) ir LOD nuo  $1.25$  μgmL<sup>-1</sup> (esant 31.2 Hz) iki  $1.13$  μgmL<sup>-1</sup> (82.5 Hz). Šis duomenų anali-

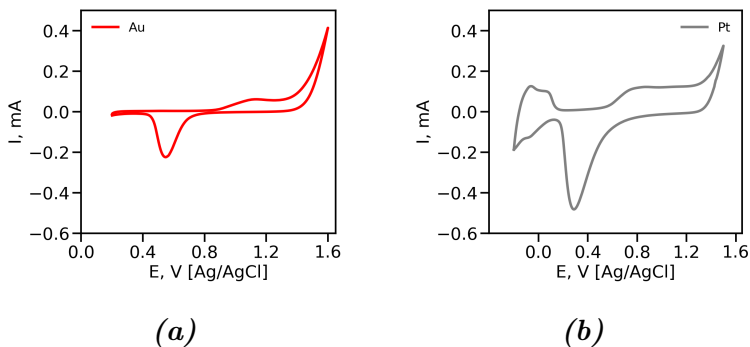
**2.4 Lent.** *Jutiklio CA125 parametrai gauti analizuojant duomenis iš  $Z''$  parinktiems dažniams.*

f, Hz	Slope, RR%/μgmL <sup>-1</sup>	LOD, μgmL <sup>-1</sup>	R <sup>2</sup>
26.1	$57.4 \pm 2.6$	1.24	0.989
31.2	$54.8 \pm 2.3$	1.25	0.992
46.4	$46.3 \pm 1.3$	1.17	0.996
68.1	$35.5 \pm 0.9$	1.16	0.996
82.5	$30.5 \pm 0.7$	1.13	0.997

zės metodas, vadinamas immittancine elektroanalizė, literatūroje buvo aptartas naudojant faradėjaus (kai naudojamos redoks molekulės) ir nefaradėjaus procesams, kai nereikia atlikti lygiaverčio kontūro analizės [19]. Atliekant elektromagnetinę analizę, galima supaprastinti metodiką, nereikalaujant papildomų, daug laiko reikalaujančių duomenų analizės metodų. Be to, kai kurių sąsajų puslankis Nyquist siužete ne visada yra idealus, todėl kyla sunkumų renkant ir modeliuojant ekvivalentinę gririnę. Plotai ir dažnis gali būti geriau išreikšti, suteikiant aukštą jautrį ir galimai mažesnę LOD [20, 19]. Pagrindinis šios strategijos bruožas buvo naudoti EIS kaip pereinamąjį analizės metodą, norint sekti sąsajų veiklą, nepasikliaunant išankstiniu modeliavimu ( $R_{ct}$  paieška).

## 2.8 Vėžio antigeno 125 nustatymas ant Au ir Pt nanostruktūrų

Padidėjęs darbinio elektrodo šurkštumo koeficientas gali padidinti elektrocheminio atsako dydį, nes padidintame elektrodo paviršiaus plote galima imobilizuoti daugiau antikūnų [21, 22, 23]. Siekiant palyginti elektrocheminio jautrio rezultatus, elektrodai buvo elektrochemiškai padengti Au arba Pt nanostruktūromis.

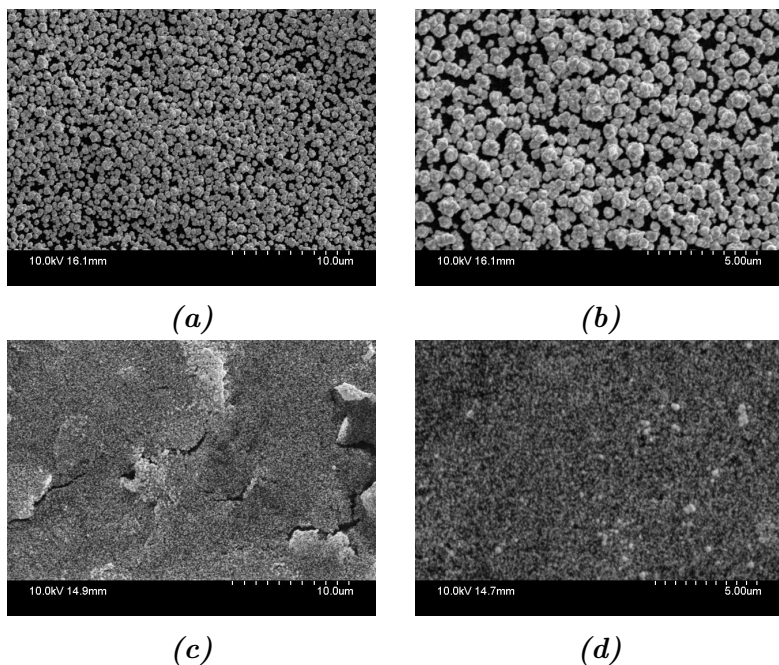


**2.16 Pav.** CV po Au elektrocheminio nusodinimo (a), Pt nusodinimo (b) 10 mM  $H_2SO_4$ , esant  $100\text{ mVs}^{-1}$  potencialų skleidimo greičiui.

Pav 2.16 rodo CV 10 mM  $H_2SO_4$  vandeniniame tirpale po padengimo su Au ir Pt nanostruktūromis. Pav 2.16 (a) pavaizduota Au nanostruktūrinių elektrodų tipinės smailės buvo stebimos atitinkamai esant 0.6 ir 1.1 V. Pav 2.16 (b) pavaizduotos Pt elektrodų vandenilio adsorbcijos ir desorbcijos smailės stebimos potencialų diapazone nuo -0.1 iki 0.25 V. Be to, tiek Au, tiek Pt elektrodų smailės, atitinkančios metalo oksido sluoksnių susidarymą ir vėlesnį redukciją, stebimos potencialų diapazone nuo -0.2 iki 1.6 V. EASA abiejų Au ir Pt elektrochemiškai padengtų nanostruktūrų atžvilgiu buvo įvertinta pagal krūvį, redukcijos smailės integruotą plotą, ties 0.6 V ir 0.4 V Au ir Pt. Krūvio vertės  $Au_2O_3$  ir  $PtO_2$  monosluoksniams buvo atitinkamai  $440\text{ mCcm}^{-2}$  ir  $390\text{ mCcm}^{-2}$ .

Pav 2.17 (a), (b) rodo elektrodo paviršių po Au nusėdimo ir atskleidžia mikro-nano dalelių susidarymą, kurių dydis siekė  $566 \pm 19\text{ nm}$ . Pav 2.17 (c), (d) vaizduoja suformuotas Pt nanodaleles, kurių skersmuo siekė  $141 \pm 27\text{ nm}$ . Mažesnės Pt nanodalelės buvo gautos galbūt todėl, kad Pt yra daug mažiau oksiduotas ir turi didesnę paviršiaus energiją nei Au [24].

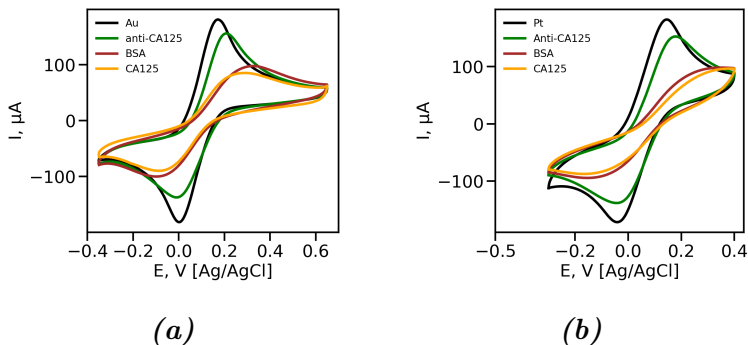
Esant  $100\text{ mV s}^{-1}$  potencialų skleidimo greičiui, skirtumas tarp smailių buvo 165 mV, žymiai didesnis nei 57 mV (tikimasi idealiai grįžtamos poros atveju).



**2.17 Pav.** SEM vaizdai po Au struktūrų nusodinimo (a), (b) potencialų intervale nuo  $-0.8$  V iki  $0.9$  V,  $100 \text{ mVs}^{-1}$ , 10 ciklų ir po Pt nusodinto potencialų intervale nuo  $0.65$  iki  $0.9$  V,  $100 \text{ mVs}^{-1}$  (c), (d).

Pusinės bangos potencialas ( $E_0'$ ) po metalų padengimo buvo atitinkamai  $0.086 \pm 0.004$  ir  $0.092 \pm 0.005$  V Au ir Pt nanostruktūroms. Ši vertė buvo mažesnė nei vertės nemodifikuotam elektrodai ( $0.128 \pm 0.002$  V). Potencialų skirtumas tarp oksidacijos ir redukcijos smailių ( $\Delta E_p$ ) po elektrocheminio nusodinimo buvo  $0.155 \pm 0.007$  V ir  $0.172 \pm 0.003$  V atitinkamai Au ir Pt. Ši vertė buvo žengliai mažesnė nemodifikuotui elektrodai ( $0.263 \pm 0.004$  V), reiškianti kad nanostruktūrų padengimas pagreitina elektrono pernašą. Anti-CA125 imobilizacija sumažino srovę ir padidino  $\Delta E_p$ . Toks elgesys gali atsirasti dėl kelių priežasčių. Pirmiausia, imobilizuotų antikūnų buvimas gali sumažinti nevienalyčio elektronų perdavimo į tirpalą greitį. Antra, elektronų perkėlimo greitis ga-

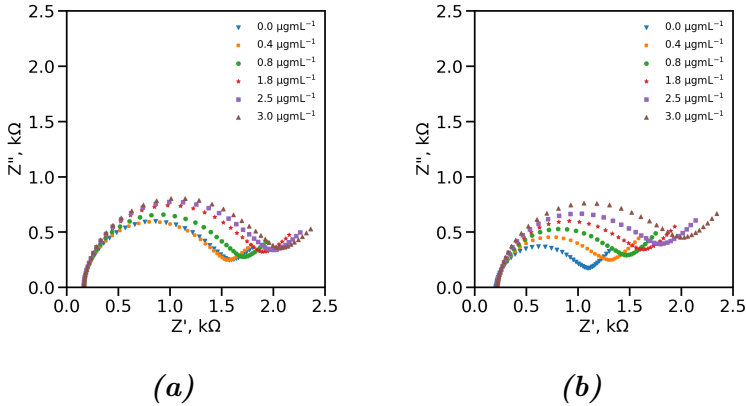
li būti pristabdytas, kai paviršius padengtas antikūnais dėl kurio sumažėja turimas plotas. Šios dvi galimybės įtakoja CV atsaką skirtingai. Tikėtasi, kad buvęs mechanizmas pakeis akivaizdžiai elektronų perkėlimo greičio konstantos ( $k^o$ ) vertę. Norint išgauti  $k^o$ , CV buvo modeliuojama.



**2.18 Pav.** CV gautos ant Au nanostruktūrinių (a) ir Pt nanostruktūrinių elektrodų (b) po anti-CA125 imobilizavimo, blokavimo BSA, ir CA125 atpažinimo, 5 mM  $[Fe(CN_6)]^{3-/4-}$ , 0.1 M PB (pH 7.4), 100  $mVs^{-1}$ .

Pav 2.18 pavaizduota,  $k^o$  Au nanostruktūroms po anti-CA125 imobilizavimo sumažėjo 2 kartus nuo  $1.6 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$  iki  $8.1 \times 10^{-4} \text{ cm s}^{-1}$ . Pt nanostruktūroms,  $k^o$  sumažėjo nuo  $1.3 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$  iki  $6.5 \times 10^{-4} \text{ cm s}^{-1}$ . Blokuojančio baltymo BSA imobilizavimas dar labiau sumažino srovę. Po BSA blokavimo ant Au,  $k^o$  sumažėjo iki  $6.2 \times 10^{-5} \text{ cm s}^{-1}$ . Kai buvo blokuotas Pt,  $k^o$  sumažėjo daugiau nei 13-kartų iki  $5.1 \times 10^{-5} \text{ cm s}^{-1}$ .  $k^o$  pokytis po BSA blokavimo buvo didesnis nei pokytis po anti-CA125, dėl to kad paviršiaus pasidengimas BSA buvo didesnis nei paviršiaus pasidengimas antikūnu. Galiausiai, kai antigenas CA125 buvo atpažintas, srovės stipris sumažėjo dar labiau. Tačiau,  $k^o$  pokytis buvo neženklaus po antigeno atpažinimo ant antikūnu modifikuoto Au paviršiaus. Palyginimui,  $k^o$  sumažėjo iki  $2.5 \times 10^{-5} \text{ cm s}^{-1}$  po antigeno prisijungimo ant Pt nanostruktūrinto jutiklio. Nors CV smailių formos gerai atitiko teorinį modelį, metalais dengtų

elektrodų tyrimo smailių srovės stipris buvo žymiai mažesnis nei numatytas modeliavimo metu. Teorijos ir matavimo sutapatinimą galima pasiekti nepakeitus difuzijos koeficiento, kas rodo, kad mažesnės srovės neatsanda dėl difuzijos profilio pokyčių po anti-kūnų/baltymų adsorbcijos.

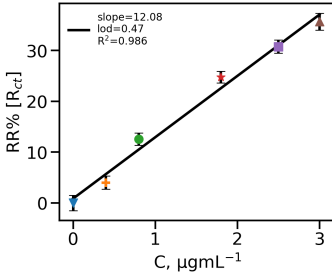


**2.19 Pav.** Nyquist spektrai po to kai jutiklis buvo inkubuojamas su didėjančiomis CA125 koncentracijomis ant Au nanostruktūrinto (a) ir Pt nanostruktūrinto (b) paviršių, nuo 100 000 Hz iki 0.1 Hz, esant 10 mV amplitudei, pastovi srovė (DC) nustatyta, esant atviros grandinės potencialui (OCP).

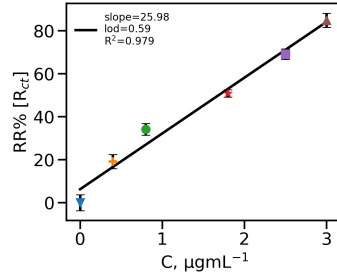
Svarbus veiksnys, galintis paveikti CV atsaką, buvo redokso molekulių tarpfazinė koncentracija, kuri gali nukrypti nuo bendrosios vertės, jei tarp adsorbuotų baltymų ir redoks molekulių būtų buvę elektrostatinė sąveika. Kadangi monokloninio anti-CA125 izoelektrinis taškas (IP) yra 6.5–7.0; naudojamomis CV sąlygomis jis nėra įkrautas. Tačiau, BSA yra neigiamai įkrautas (pH 7.4). CA125 antigeno IP yra tarp 6.2 ir 7.3, tai rodo, kad antigenas taip pat neigiamai įkraunamas esant 7.4 pH. Visas antigeną fiksuojantis paviršius, susidedantis iš anti-CA125 ir BSA, greičiausiai atstumia  $[\text{Fe}(\text{CN}_6)]^{3-/4-}$ , elektrostatiiniu būdu sumažinant jo paviršinę koncentraciją.

Pav. 2.19 Nyquist spektro puslankio vertės didėja su didėjančia

CA125 koncentracija. Tos pačios koncentracijos antigeno CA125 buvo naudotos Au ir Pt nanostruktūrintiems paviršiams. Puslančio skersmens vertės didėjo, didėjant CA125 analizės koncentracijai nuo  $0.4 \mu\text{g mL}^{-1}$  iki  $3 \mu\text{g mL}^{-1}$  Au (a) ir Pt (b) nanostruktūrintiems paviršiams.



(a)

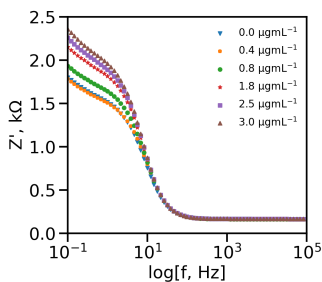


(b)

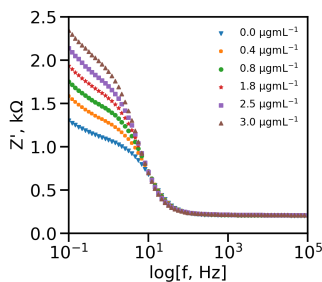
**2.20 Pav.** Kalibracinės spektrai gautos iš  $R_{ct}$  verčių Au nanostruktūrintam (a) ir Pt nanostruktūrintam paviršiui (b), nuo 100 000 Hz iki 0.1 Hz, esant 10 mV amplitudei, pastovi srovė (DC) nustatyta, esant atviros grandinės potencialui (OCP).

Gautos nuolinkio vertės buvo:  $12.08 \text{ RR}\%/\mu\text{g mL}^{-1}$  ir  $25.98 \text{ RR}\%/\mu\text{g mL}^{-1}$  atitinkamai Au ir Pt nanostruktūrintiems paviršiams. Daugiau nei dvigubai didesnę Pt nanostruktūrų jautrį gali sukelti mažesnis Pt dalelių dydis, palyginti su Au nanostruktūromis. Mažesnės nanodalelės gali pagelbėti didesniai antikūnų kiekiui pasidengimui, o tai pagerina jutiklio veikimą. Be to, didesnę jautrį gali sukelti didesnis paties Pt elektrinis aktyvumas. Tačiau Au nanostruktūrintam jutikliui LOD vertė buvo aukštesnė ( $0.473 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) nei Pt atveju ( $0.589 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Tokį LOD kitimą galima paaiškinti mažesne  $R^2$  verte Pt atveju ( $R^2 = 0.979$ ) nei Au ( $R^2 = 0.986$ ) atveju.

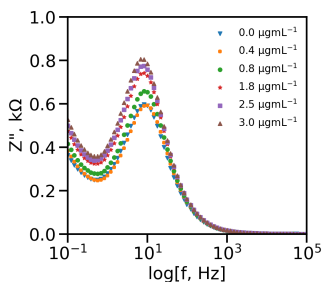
Kadangi  $Z''$  nuo dažnio priklausomybė turėjo aiškiai išreikštą smailę, maksimalios  $Z''$  smailės vertės buvo naudojamos antigeno kalibracinei linijai nubrėžti. Gautas jautris buvo  $15.6 \text{ RR}\%/\mu\text{g mL}^{-1}$  (Au) ir  $58.67 \text{ RR}\%/\mu\text{g mL}^{-1}$  (Pt), su LOD vertėmis  $0.35$



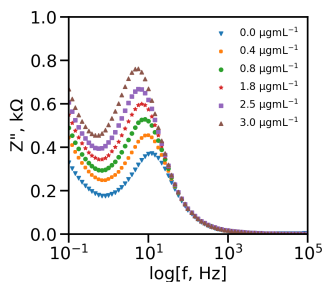
(a)



(b)



(c)



(d)

**2.21 Pav.**  $Z'$  ir  $Z''$  priklausomybės nuo dažnio kitimas, didinant CA125 koncentraciją ant Au ((a), (c)) ir Pt ((b), (d)) nanostruktūrinių paviršių, nuo 100 000 Hz iki 0.1 Hz, esant 10 mV amplitudei, pastovi srovė (DC) nustatyta, esant atviros grandinės potencialui (OCP).

$\mu\text{g mL}^{-1}$  ir  $0.68 \mu\text{g mL}^{-1}$  atitinkamai ant Au ir Pt paviršių.

Be to, LOD vertės CA125 nustatymui, buvo analizuojamos ties parinktais dažniais ant Au arba Pt nanostruktūrinių paviršių iš  $Z'$  ir  $Z''$  nuo dažnių priklausomybių. Pagal  $Z'$  skaičiuotas jautris, pasirinktiems dažniams 0.1, 2.61, 4.64, 6.81, 8.25, 38.31 Hz, svyravo nuo  $0.73 \pm 0.52 \text{ RR\%}/\mu\text{g mL}^{-1}$  (38.31 Hz) iki  $11.16 \pm 0.79 \text{ RR\%}/\mu\text{g mL}^{-1}$  (0.1 Hz) ir LOD nuo  $5.78 \mu\text{g mL}^{-1}$  (esant 38.31 Hz) iki  $0.57 \mu\text{g mL}^{-1}$  (0.1 Hz). Tuo atveju, kai naudotas  $Z''$  (Au), jautrio vertės svyravo nuo  $6.85 \pm 0.91 \text{ RR\%}/\mu\text{g mL}^{-1}$  (esant 38.31 Hz)



iki  $15.2 \pm 0.72 \text{ RR\%/}\mu\text{g mL}^{-1}$  (esant 0.1 Hz), o LOD nuo  $1.08 \mu\text{g mL}^{-1}$  nuo 38.31 Hz iki  $0.38 \mu\text{g mL}^{-1}$  (0.1 Hz).

Pt atveju, pagal  $Z'$  jautris svyravo nuo  $2.07 \pm 0.13 \text{ RR\%/}\mu\text{g mL}^{-1}$  (38.31 Hz) iki  $23.69 \pm 2.32 \text{ RR\%/}\mu\text{g mL}^{-1}$  (0.1 Hz) ir LOD nuo  $3.60 \mu\text{g mL}^{-1}$  (8.25 Hz) iki  $0.50 \mu\text{g mL}^{-1}$  (38.31 Hz). Kai duomenys buvo analizuoti iš  $Z''$  (Pt), jautris svyravo nuo  $3.95 \pm 0.91 \text{ RR\%/}\mu\text{g mL}^{-1}$  (38.31 Hz) iki  $29.63 \pm 3.76 \text{ RR\%/}\mu\text{g mL}^{-1}$  (0.1 Hz) ir LOD nuo  $1.87 \mu\text{g mL}^{-1}$  (38.31 Hz) iki  $0.67 \mu\text{g mL}^{-1}$  (2.61 Hz).

Papildomai nuolinkis,  $R^2$  ir LOD analizuoti pilname dažnių intervale (nuo 100 000 Hz iki 0.1 Hz) lyginant Au ir Pt nanostruktūras CA125 atpažinimui iš  $Z'$  ir  $Z''$  nuo dažnio priklausomybių. Au atveju,  $R^2$ , kuris atspindi tiesinės priklausomybės stiprumą tarp signalo ir pasiringto analizei dažnio buvo artimas 1, dažnių intervale nuo 0.1 iki 5.623 Hz. Nuolinkio vertės ir LOD išliko geriausios tam pačiam dažnių intervale. Palyginimui, Pt atveju,  $R^2$  ir nuolinkio vertės buvo optimalios siauresniame dažnių intervale nuo 0.1 iki 1.212 Hz, taip pat ir LOD šiame intervale išlieka mažiausiais. Au atveju, LOD vertės buvo mažesnės nei Pt atveju, kas koreliuoja su šiek tiek mažesne  $R^2$  verte Pt atveju ( $R^2 = 0.972$ ) lyginant su Au atveju ( $R^2 = 0.993$ ). Kai analitiniai parametrai skaičiuoti iš  $Z''$  nuo dažnio priklausomybės Au atveju  $R^2$  buvo optimalus siaurame dažnių intervale nuo 0.1 iki 0.215 Hz ir nuolinkio vertė buvo didžiausia ties 1.468 Hz, kas buvo už intervalo ribų. Mažiausio LOD vertė, Au atveju, buvo ties 0.1 Hz, kas rodo jog šiuo atveju LOD vertė labiau priklauso nuo  $R^2$ . Palyginimui, Pt atveju,  $R^2$  buvo optimaliausiais ties 2.61 Hz, ir nuolinkis pasiekė aukščiausią vertę ties 1.778 Hz. Rezultate, LOD vertė, naudojant Pt nanostruktūras LOD buvo mažiausia ties 2.61 Hz, kas panašiai kaip ir Au atveju rodo didesnę  $R^2$  įtaką LOD nei nuolinkio vertėms. Apibendrinant, naudojant Au ar Pt nanostruktūras CA125 atpažinimui pasiektos geresnės LOD vertės nei naudojant IDA elektrodus. Lyginant Au ir Pt nanostruktūras, žemesnės LOD vertės pasiektos naudojant Au nanostruktūrintą paviršių, nei Pt nanostruktūrintą paviršių.

# Išvados

1. Pirmą kartą šukų tipo persidengiantys Au elektrodai buvo paruošti naudojant minkštąją litografiją ir cheminį ėsdinimą. Sukurtas ir optimizuotas specialus elektrodo dizainas pagal mikroskopinio ir elektrocheminio tyrimo rezultatus, rodančius gerą atsikartojamumą, elektrocheminio signalo variacija buvo 5 %.
2. Šukų tipo persidengiantys Au elektrodai buvo padengti Pt struktūromis, naudojant elektrocheminį nusodinimą, kur Pt šiurkštumas buvo kontroliuojamas, keičiant potencialo skleidimo greitį ciklinėje voltamperometrijoje; suformuotas jautrus metabolitui  $\text{H}_2\text{O}_2$ , jautris  $2662 \mu\text{Acm}^{-2}\text{mM}^{-1}$  ir LOD vertė 21.7 nM.
3. Šukų tipo persidengiantys Au elektrodų geometrija buvo modeliuota naudojant baigtinių elementų metodą, sumodeliuota Fc/Fc+ redoks poros CV ir persiklojantys difuzijos sluoksniai. Sukurtas modelis parodė, kad srovės vertės padidėja 30 %, esant mažiems potencialo skleidimo greičiams t.y.  $5 \text{ mVs}^{-1}$ , kai darbinis ir pagalbinis šukų tipo elektrodai persidengia.
4. Lyginant Ag/AgCl ir Au miniatiūrizuotą palyginamuosius elektrodus, potencialų langas CV pasislinko -100 mV, dėl Ag/AgCl ir Au skirtingų paviršiaus potencialų; Kai naudotas miniatiūrizuotas Au palyginamasis (5  $\mu\text{L}$  celėje), jokių reikšmingų pokyčių CV anodinėms ir katodinėms srovėms nepastebėta, signalas išlieka stabilus (1 % variacija).
5. Elektrochemiškai aktyvios redokso molekulės FcMeOH buvo detektuotos, naudojant CV 5  $\mu\text{L}$  tūryje, koncentracijų diapozone nuo 0.5  $\mu\text{M}$  iki 1000  $\mu\text{M}$ , su jautriais 0.718 ir 0.283  $\text{nA}\mu\text{M}^{-1}$ , LOD lygiu 32  $\mu\text{M}$  ir 74  $\mu\text{M}$ , gautu skleidžiant potencialus esant  $50 \text{ mVs}^{-1}$ , jautriu 0.851 ir 0.498  $\text{nA}\mu\text{M}^{-1}$ , LOD lygiu 24 ir 51  $\mu\text{M}$ , esant  $5 \text{ mVs}^{-1}$  potencialų skleidimo greičiui, skaičiuojant atitinkamai iš anodinių ir katodinių nusistovėjusių srovės stiprio verčių.

6. Prieš ruošiant elektrocheminį jutiklį vėžio antigenui 125 ant persidengiančių šukų tipo elektrodų, antikūnas, kaip bioreceptorius, buvo imobilizuotas ant plokščio pagrindo ir tiriamas antikūnų padengimas naudojant vaizdinę elipsometriją, kur vidutinis bioreceptoriaus (antikūno) pasidengimo aukštis buvo  $3.79 \pm 0.54$  nm; naudojant paviršiaus plazmoninį rezonansą nustatyta, kad imobilizuotas antikūnas yra tinkamas specifiniam vėžio antigeno 125 atpažinimui.
7. Antikūnų imobilizacijos, naudotos ant plokščio substrato, procedūra buvo sėkmingai pritaikyta ant persiklojančių šukų tipo mikroelektrodų ir vėžio antigenas 125 buvo aptiktas, naudojant elektrocheminio impedanso spektroskopiją, koncentracijų intervale nuo 0.2 iki  $3 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Duomenų analizė, naudojant įvairius elektrocheminės varžos spektroskopijos duomenis, buvo atlikta naudojant Nyquist,  $Z'$  ir  $Z''$  nuo dažnio priklausomybes. Mažiausias LOD gautas  $1.20 \mu\text{g mL}^{-1}$ , kai analizuotos  $Z''$  nuo dažnio priklausomybė, ties 10 Hz naudojant vieno dažnio analizę.
8. Au ir Pt nanostruktūrizuoti elektrodai dėl didesnio paviršiaus šiurkštumo ir elektrochemiškai aktyvaus ploto lyginant su nemodifikuotais elektrodais pademonstravo geresnį LOD. Geriausia LOD vertė gauta  $0.37 \mu\text{g mL}^{-1}$  ir  $0.58 \mu\text{g mL}^{-1}$  atitinkamai Au ir Pt nanostruktūrizuotiems elektrodams.

# Literatūra

- [1] José M. Doña Rodríguez, José Alberto Herrera Melián, and Jesús Pérez Peña. Determination of the Real Surface Area of Pt Electrodes by Hydrogen Adsorption Using Cyclic Voltammetry. *J. Chem. Educ.*, 77(9):1195–1197, 2000.
- [2] Shuang Xiao, Fei Xiao, Yuan Hu, Songliu Yuan, Shuai Wang, Lihua Qian, and Yunqi Liu. Hierarchical nanoporous gold-platinum with heterogeneous interfaces for methanol electrooxidation. *Sci. Rep.*, 4(1):4370, 2014.
- [3] Simon B. Hall, Emad A. Khudaish, and Alan L. Hart. Electrochemical oxidation of hydrogen peroxide at platinum electrodes. Part II: Effect of potential. *Electrochim. Acta*, 43(14-15):2015–2024, 1998.
- [4] Yun Li, Catherine Sella, Frédéric Lemaître, Manon GuilleColignon, Laurent Thouin, and Christian Amatore. Highly Sensitive Platinum-Black Coated Platinum Electrodes for Electrochemical Detection of Hydrogen Peroxide and Nitrite in Microchannel. *Electroanalysis*, 25(4):895–902, 2013.
- [5] Stuart A.G. Evans, Joanne M. Elliott, Lynn M. Andrews, Philip N. Bartlett, Peter J. Doyle, and Guy Denuault. Detection of hydrogen peroxide at mesoporous platinum microelectrodes. *Anal. Chem.*, 74(6):1322–1326, 2002.
- [6] M. A. Raso, I. Carrillo, E. Navarro, M. A. Garcia, E. Mora, and T. J. Leo. Fuel cell electrodes prepared by e-beam evaporation of Pt compared with commercial cathodes: Electrochemical and DMFC behaviour. *Int. J. Hydrogen Energy*, 40(34):11315–11321, 2015.
- [7] Sri Ramulu Torati, Krishna C.S.B. Kasturi, Byeonghwa Lim, and Cheol Gi Kim. Hierarchical gold nanostructures modified electrode for electrochemical detection of cancer antigen CA125. *Sensors Actuators, B Chem.*, 243:64–71, 2017.

- [8] M. Paula Longinotti and Horacio R. Corti. Diffusion of ferrocene methanol in super-cooled aqueous solutions using cylindrical microelectrodes. *Electrochem. commun.*, 9(7):1444–1450, 2007.
- [9] Brian Eggins. Chemical Sensors and Biosensors. *Chem. Sensors Biosens.*, pages 1–273, 2007.
- [10] Vincent Gau, Shu Ching Ma, Hua Wang, Joni Tsukuda, John Kibler, and David A. Haake. Electrochemical molecular analysis without nucleic acid amplification. *Methods*, 37(1):73–83, 2005.
- [11] Joseph C. Liao, Mitra Mastali, Vincent Gau, Marc A. Suchard, Annette K. Møller, David A. Bruckner, Jane T. Babbitt, Yang Li, Jeffrey Gornbein, Elliot M. Landaw, Edward R.B. McCabe, Bernard M. Churchill, and David A. Haake. Use of electrochemical DNA biosensors for rapid molecular identification of uropathogens in clinical urine specimens. *J. Clin. Microbiol.*, 44(2):561–570, 2006.
- [12] Fang Wei, Wei Liao, Zheng Xu, Yang Yang, David T. Wong, and Chih Ming Ho. Bio/abiotic interface constructed from nanoscale DNA dendrimer and conducting polymer for ultrasensitive biomolecular diagnosis. *Small*, 5(15):1784–1790, 2009.
- [13] Yuhua Yu, Jianfeng Chen, and Jia Zhou. Parallel plate lab on a chip based on digital microfluidics for on-chip electrochemical analysis. *J. Micromechanics Microengineering*, 24(1):015020, 2014.
- [14] Hai Xu, Jian R. Lu, and David E. Williams. Effect of surface packing density of interfacially adsorbed monoclonal antibody on the binding of hormonal antigen human chorionic gonadotrophin. *J. Phys. Chem. B*, 110(4):1907–1914, 2006.
- [15] Bedabrata Saha, Toon H. Evers, and Menno W.J. Prins. How antibody surface coverage on nanoparticles determines the

activity and kinetics of antigen capturing for biosensing. *Anal. Chem.*, 86(16):8158–8166, aug 2014.

- [16] Liana Anicai, Cristina Stoica, Cristina Vladut, Andrada Ne-gru, Jean Marie Teulon, Michael Odorico, Jean Luc Pellequer, Pierre Parot, and Marius Enachescu. Synthesis and characterization of a novel screen-printed modified gold electrode with applications in uranyl ions detection. *Rev. Chim.*, 66(10):1639–1644, 2015.
- [17] Paulo R. Bueno, Gustavo T. Feliciano, and Jason J. Davis. Capacitance spectroscopy and density functional theory. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 17(14):9375–9382, 2015.
- [18] Elio Desimoni, Barbara Brunetti, and Raffaella Cattaneo. Comparing some operational approaches to the limit of detection. *Ann. Chim.*, 94(7-8):555–569, 2004.
- [19] Amol V. Patil, Flávio C. Bedatty Fernandes, Paulo R. Bueno, and Jason J. Davis. Immittance electroanalysis in diagnostics. *Anal. Chem.*, 87(2):944–950, jan 2015.
- [20] Amol V. Patil, Flavio B. Fernandes, Paulo R. Bueno, and Jason J. Davis. Graphene-based protein biomarker detection. *Bioanalysis*, 7(6):725–742, 2015.
- [21] Zahra Taleat, Cecilia Cristea, Giovanna Marrazza, M. Mazloun-Ardakani, and Robert Săndulescu. Electrochemical immunoassay based on aptamer–protein interaction and functionalized polymer for cancer biomarker detection. *J. Electroanal. Chem.*, 717-718:119–124, mar 2014.
- [22] Pratima R. Solanki, Ajeet Kaushik, Ved V. Agrawal, and Bansi D. Malhotra. Nanostructured metal oxide-based biosensors. *NPG Asia Mater.*, 3(1):17–24, jan 2011.
- [23] Jiao Ma, Shifang Luan, Lingjie Song, Shuaishuai Yuan, Shunjie Yan, Jing Jin, and Jinghua Yin. Facile fabrication of microsphere-polymer brush hierarchically three-

dimensional (3D) substrates for immunoassays. *Chem. Commun.*, 51(31):6749–6752, 2015.

- [24] Feng Tao, Michael E. Grass, Yawen Zhang, Derek R. Butcher, James R. Renzas, Zhi Liu, Jen Y. Chung, Bongjin S. Mun, Miquel Salmeron, and Gabor A. Somorjai. Reaction-Driven Restructuring of Rh-Pd and Pt-Pd Core-Shell Nanoparticles. *Science*, 322(5903):932–934, 2008.
- [25] Alexandre Detappe, Mairead Reidy, Yingjie Yu, Clelia Mathieu, Hung V.T. Nguyen, Thibaud P. Coroller, Fred Lam, Petr Jarolim, Peter Harvey, Andrea Protti, Quang De Nguyen, Jeremiah A. Johnson, Yannick Cremillieux, Olivier Tillement, Irene M. Ghobrial, and P. Peter Ghoroghchian. Antibody-targeting of ultra-small nanoparticles enhances imaging sensitivity and enables longitudinal tracking of multiple myeloma. *Nanoscale*, 11(43):20485–20496, 2019.

# Publikacijų ir pranešimų konferencijose sąrašas

## Moksliniai straipsniai CA WoS žurnaluose

1. Ausra Baradoke, Jurga Juodkazyte, Ignas Masilionis, Algirdas Selskis, Rasa Pauliukaite, Ramūnas Valiokas. Combined Soft Lithographic and Electrochemical Fabrication of Nanostructured Platinum Microelectrode Arrays for Miniaturized Sensor Applications. *Microelectronics and Engineering*, 206 (2019) 39-46,  
DOI: 10.1016/j.mee.2019.02.003
2. Ausra Baradoke, Isabel Pastorisa-Santos, Elisa Gonzalez-Romero, Screen printed GPH electrode modified with Ru nanoplates and PoPD polymer film for NADH Sensor Platform: Design and Characterization. *Electrochimica Acta*, 300 (2019) 316-323,  
DOI:10.1016/j.electacta.2019.01.128
3. Ausra Baradoke, Bincy Jose, Rasa Pauliukaite, Robert J. Forster. Properties of Anti-CA125 Antibody Layers on Screen-Printed Carbon Electrodes Modified by Gold and Platinum Nanostructures. *Electrochimica Acta*, 306 (2019) 299-306 Contents,  
DOI:10.1016/j.electacta.2019.03.081

## Pranešimų konferencijose sąrašas

1. Ausra Baradoke, Aneta Radzevič, Raimonda Celiešiūtė, Ramūnas Valiokas, Rasa Pauliukaite, Graphene for Electrochemical Detection of Biomarkers, Lithuanian National Physics Conference, Vilnius, Lietuva, 2015, June 17-19 (Stendinis pranešimas).



2. Ausra Baradoke, Gintarė Garbenčiūtė, Vytautas Cėpla, Tomas Rakickas, Ramūnas Valiokas, PEG Methacrylate Hydrogels for Imaging Ellipsometry, The Optical Society IONS konferencija, Nanjing, China, 2015, July 9-12. (Stendinis pranešimas).
3. Ausra Baradoke, Aneta Radzevic, Raimonda Celiesiute, Ramūnas Valiokas, Rasa Pauliukaite, Graphene Electrodes for Electrochemical Detection of Biomarkers. 66th ISE Conference, Taipei, Taiwan, 2016 October 4-9 (Stendinis pranešimas).
4. Ausra Baradoke, I. Pastorisa-Santos, E. Gonzalez Romero, Ruthenium Nanocomposites for Electrochemical Detection: Design and Modification of Graphene Electrodes for Biosensors. 66th ISE Conference, Taipei, Taiwan, 2016 October 4-9 (Stendinis pranešimas).
5. Ausra Baradoke, Jurga Juodkazytė, Ignas Masilionis, Airina Mazėtytė, Vytautas Navikas, Martynas Gavutis, Ramūnas Valiokas, Rasa Pauliukaite, Soft Lithographic Fabrication of Electrodes for Detection of Hydrogen Peroxide. Chemistry and Chemistry Technology 2016, Vilnius, Lietuva, 2016 April 28-29 (Stendinis pranešimas).
6. Ausra Baradoke, Jurga Juodkazytė, Ignas Masilionis, Airina Mazėtytė, Vytautas Navikas, Martynas Gavutis, Ramūnas Valiokas, Rasa Pauliukaite, Platinum Electrode Platform for Detection of Hydrogen Peroxide, Baltic Electrochemistry Conference, Helsinki, Finland, 2016 June 15-17 (Žodinis pranešimas).
7. Ausra Baradoke, Jurga Juodkazytė, Ignas Masilionis, Airina Mazėtytė, Vytautas Navikas, Martynas Gavutis, Ramūnas Valiokas, Rasa Pauliukaite, Formation of Electrodes for Detection of Hydrogen Peroxide, 67th Conference of International Electrochemistry Society, Haga, Netherlands, 2016 August 21-26 (Žodinis pranešimas).

8. Ausra Baradoke, Jurga Juodkazytė, Ignas Masilionis, Airina Mazėtytė, Vytautas Navikas, Martynas Gavutis, Ramūnas Valiokas, Rasa Pauliukaite, Formation of Electrodes for Detection of Hydrogen Peroxide. 67th Conference of International Electrochemistry Society, Haga, Netherlands, 2016 August 21-26 (Stendinis pranešimas).
9. Eliza Gonzalez-Romero, L. Bounab, Ausra Baradoke, J. M. Gonzalez, Rui Gusmao, From Creativity to Industrialization: Design and Modification of SPEs for (Bio)sensors. First Workshop on electrochemistry devices (Bio)Sensors, Porto, Portugal, 2016 October 1-2 (Žodinis pranešimas).
10. Ausra Baradoke, Samantha Douman, Bincy Jose, Rasa Pauliukaite, Ramūnas Valiokas, Robert Forster, Development of an Electrochemical Biosensor Based on Nanomodified IDA Biochip for High Sensitivity Non-Labeled Biomarker Detection, 24th International Bioelectrochemistry Society Conference for Bioelectrochemistry and Bioenergetic. Lyon, France, 2017 July 3-7 (Žodinis pranešimas).
11. Ausra Baradoke, Jurga Juodkazytė, Ignas Masilionis, Rasa Pauliukaite, Ramūnas Valiokas, Nanostruktūrizuoti platinos elektrodai- vandenilio peroksido detekcijai, 42-oji Lithuanian National Physics Conference, Vilnius, Lietuva, 2017 October 4-6 (Stendinis pranešimas).
12. Ausra Baradoke, Bincy Jose, Rasa Pauliukaite, Robert Forster, Label Free Impedimetric Detection of CA125 based on Gold and Platinum nanostructures, NALS 2017, Oviedo, Spain, 2017 December 13-15 (Žodinis pranešimas).
13. Ausra Baradoke, Bincy Jose, Ramūnas Valiokas, Rasa Pauliukaite, Robert Forster, 3D Nanolithography for cells studies, Conference on Optics Atoms and Laser Applications, Okinawa, Japan, 2017 October 25-27 (Stendinis pranešimas).
14. Ausra Baradoke Technical University of Denmark (DTU), PhD Summer School: Micro and Nano Sensors 2018, pro-

jektas: Real Time Electrochemical Detection of Drugs from Microcontainers on a Disk, Lyngby, Denmark, 2018 August 19-30 (Stendinis pranešimas).

15. Ausra Baradoke, Kim McKelvey, Rasa Pauliukaite, Ramūnas Valiokas, Mike Lyons, Robert Forster. Cyclic Voltammetry of Interdigitated Working/Counter Microelectrode Array, 18th IEEE Nano, Cork, Ireland, 2018 July 23-26 (Stendinis pranešimas).
16. Ausra Baradoke, Bincy Jose, Lukas Laurinavicius, Rasa Pauliukaite, Robert Forster, Impedimetric Immunosensors Based on Crosslinked Antibodies to Poly-L-Lysine, 23rd Topical Meeting of ISE, Vilnius, Lietuva, 2018 June 8-11 (Žodinis pranešimas).
17. Ausra Baradoke, Isabel Pastorisa-Santos, Elisa Gonzales-Romero, Catalytic Activity of Ruthenium Nanoparticles for NADH Sensing, 23rd Topical Meeting of ISE, Vilnius, Lietuva, 2018 June 8-11 (Stendinis pranešimas).

# Informacija apie autorių

**Vardas, pavardė:** Aušra Baradokė

**El. paštas:** ausra.baradoke@nanolab.lt

**Išsilavinimas:**

- **2014–2019** Chemijos doktorantūros studijos, Fizinių ir technologijos mokslų centras, Vilniaus universitetas, Vilnius, Lietuva, Tezė: Fabrication of miniaturised electrochemical sensor for cancerogenic biomarker detection  
Vadovas: Prof. R. Pauliukaite
- **2018–2019** Dalinės doktorantūros studijos, Trinity College Dublin, The University of Dublin, Dublinas, Airija projektas: Finite element model simulations for interdigitated microarray electrodes  
Vadovas: Prof. K. McKelvey
- **2016–2019** Dalinės doktorantūros studijos, National Centre for Sensor Research, Dublin City UniversityDublinas, Airija projektas: Sensor platform design based on IDA electrodes for biomarker detection  
Vadovas: Prof. R. J. Forster
- **2012–2014** Fizikos magistro studijos, Lithuanian University of Educational Sciences, Vilnius, Lietuva, Tezė: Stability of silver nanoparticles in dendrimer matrix  
Vadovas: Prof. R. Vaisnoras
- **2013–2014** Dalinės magistro studijos, University of VigoVigo, Ispanija Tezė: Sensor platform design based on ruthenium and graphene nanostructures  
Supervisors: Prof. E. Gonzalez-Romero and Prof. Isabel Pastoriza-Santos
- **2008–2012** Bakalauro fizikos studijos, Lithuanian University of Educational Sciences, Vilnius, Lietuva, Tezė: Optical and structural study of hybrid system of dendrimer-silver nanoparticles  
Vadovas: Dr. Loreta Rasteniene

## Darbo patirtis:

- **2014.04–2016.09** Mokslo darbuotojas, ERUMPO Ltd, Vilnius, Lietuva, Sample preparation, Antibody immobilisation on hydrogel and SAM, characterisation based on Ellipsometry Imaging, biomarker detection using Au nanoparticles (enhanced with Ag ions)projektas: Biochip technology for detection of cancer biomarkers "Intelektas LT" 2013.11-2015.09 VP2-1.3-uM-02-K-04-122
- **2016.04–2016.12** Jaunesnysis mokslo darbuotojas, VMTI, Fizinių ir technologijos mokslų centras, Vilnius, Lietuva, projektas: Graphene supercapacitor powered FET all carbon circuit for sensing applications, G-SUPERCAP, 3200-P325, LAT-16002
- **2015.10–2016.05** Jaunesnysis mokslo darbuotojas, VMTI, Fizinių ir technologijos mokslų centras, Vilnius, Lietuva, Fabrication of interdigitated microelectrodes arrays, modification with electroplating of Au or Pt, micro-contact printing of fibronectin for cell adhesion and hydrogen peroxide studiesprojektas: Single Cell on a Chip Platform for Metabolite Sensing and Integrated Analysis (METASENS), CH-3-SMM-01-11
- **2014.07–2014.09** Jaunesnysis mokslo darbuotojas, Department of Molecular Compound Physics, VMTI, Fizinių ir technologijos mokslų centras, Vilnius, Lietuva, Synthesis of triangular silver nanoparticles for enhancement of fluorescence in dyes for solar cell application
- **2014.02–2014.06** Inžinierius, Department of Molecular Compound Physics, VMTI, Fizinių ir technologijos mokslų centras, Vilnius, Lietuva, , Synthesis of Ag nanoparticles and preparation of thin films using spin coating technique
- **2012.09–2013.09** Inžinierius, Department of Molecular Compound Physics, VMTI, Fizinių ir technologijos mokslų centras, Vilnius, Lietuva,

- **2010.09–2013.09** Inžinierė, Liquid Crystals Laboratory, Lithuanian University of Educational Sciences, Vilnius, Lietuva

### **Padėka**

Nuoširdžiai dėkoju darbo vadovei Prof. Rasai Pauliukaitei, konsultantams Ramūnui Valiokui, Robert J. Fortser, Kim McKelvey ir visiems kolegoms, su kuriais teko garbė dirbti. Ši disertacija buvo parengta naudojant atvirojo kodo programinę įrangą:  $T_{E}X$  studijos integruota rašymo aplinka  $L_{A}T_{E}X$  dokumento kūrimui, Python - grafikams; Inkscape ir Blender vizualizacijai.

# Notes

Vilniaus universiteto leidykla  
Saulėtekio al. 9, III rūmai, LT-10222 Vilnius  
El. p.: [info@leidykla.vu.lt](mailto:info@leidykla.vu.lt), [www.leidykla.vu.lt](http://www.leidykla.vu.lt)  
Tiražas: 20 egz.