



(51) МПК  
*G01N 33/53* (2006.01)  
*C12Q 1/00* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК  
*G01N 33/53* (2021.02); *C12Q 1/00* (2021.02)

(21)(22) Заявка: 2019145358, 31.12.2019

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
 31.12.2019

Дата регистрации:  
 30.03.2021

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 31.12.2019

(45) Опубликовано: 30.03.2021 Бюл. № 10

Адрес для переписки:

105005, Москва, ул. Бауманская 2-я, 5, стр. 1,  
 ООО "МИЦ МГТУ ИМ. Н.Э. БАУМАНА",  
 Комарову И.А.

(72) Автор(ы):

Нелюб Владимир Александрович (RU),  
 Орлов Максим Андреевич (RU),  
 Калинников Александр Николаевич (RU),  
 Бородулин Алексей Сергеевич (RU),  
 Комаров Иван Александрович (RU),  
 Антилова Ольга Михайловна (RU),  
 Стручков Николай Сергеевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное  
 образовательное учреждение высшего  
 образования "Московский государственный  
 технический университет имени Н.Э.  
 Баумана (национальный исследовательский  
 университет)" (МГТУ им. Н.Э. Баумана) (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
 о поиске: RU 2658557 С2, 21.06.2018. RU  
 2527699 С1, 19.08.2019. KR 1020160097639 A,  
 18.08.2016. WO 2019102217 A1, 31.05.2019. KR  
 101437289 B1, 02.09.2014.

(54) Способ изготовления матричного биосенсора на основе восстановленного оксида графена и матричный биосенсор на полимерной подложке

(57) Реферат:

Использование: для проведения исследований в области биотехнологий. Сущность изобретения заключается в том, что изготовление матричного биологического сенсора на основе восстановленного оксида графена включает формирование на полимерной подложке пленки оксида графена, локальную модификацию оксид-графеновой пленки по заданному рисунку с образованием нескольких проводящих каналов и иммобилизацию на модифицированной оксид-графеновой пленке биомолекул, обеспечивающих избирательное взаимодействие с другими биологическими агентами. При этом формирование пленки оксида графена проводится с помощью жидкостных методов нанесения. Локальную модификацию оксид-графеновой

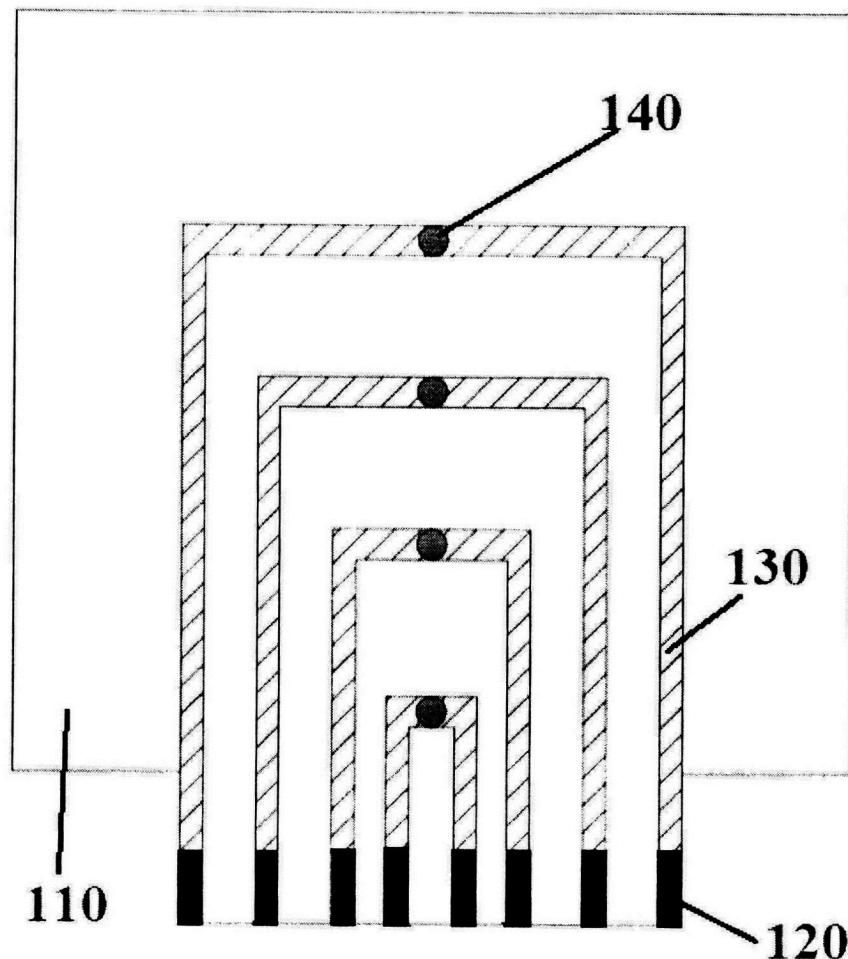
пленки с заданным топологическим рисунком осуществляют путем неполного восстановления области с данным рисунком с дальнейшим удалением невосстановленной пленки с целью улучшения адгезии защитной полимерной пленки. Полученную заготовку биологического сенсора покрывают защитной полимерной пленкой за исключением областей контактов и отверстий, находящихся над областями иммобилизации биомолекул. Иммобилизацию биомолекул проводят методом жидкостного нанесения из растворов независимо на разные области за счет взаимодействия биомолекул с кислородсодержащими функциональными группами в восстановленном оксиде графена. При этом на разные биочувствительные области

R U 2 7 4 5 6 6 3 C 1

R U 2 7 4 5 6 6 3 C 1

производится иммобилизация биомолекул, чувствительных к отличным друг от друга биологическим агентам. Технический результат: обеспечение возможности создания высокочувствительного и высокоселективного биологического сенсора, позволяющего получать

информацию о присутствии нескольких биологических агентов в одной пробе и позволяющего обеспечить многократные измерения и интеграцию в персональные устройства мониторинга состояния здоровья человека. 2 н. и 11 з.п. ф-лы, 2 ил.



Фиг.1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC  
*G01N 33/53* (2021.02); *C12Q 1/00* (2021.02)

(21)(22) Application: 2019145358, 31.12.2019

(24) Effective date for property rights:  
31.12.2019

Registration date:  
30.03.2021

Priority:

(22) Date of filing: 31.12.2019

(45) Date of publication: 30.03.2021 Bull. № 10

Mail address:  
105005, Moskva, ul. Baumanskaya 2-ya, 5, str. 1,  
OOO "MITS MGTU IM. N.E. BAUMANA",  
Komarovu I.A.

(72) Inventor(s):

Nelyub Vladimir Aleksandrovich (RU),  
Orlov Maksim Andreevich (RU),  
Kalinikov Aleksandr Nikolaevich (RU),  
Borodulin Aleksej Sergeevich (RU),  
Komarov Ivan Aleksandrovich (RU),  
Antipova Olga Mikhajlovna (RU),  
Struchkov Nikolaj Sergeevich (RU)

(73) Proprietor(s):

Federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe  
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego  
obrazovaniya "Moskovskij gosudarstvennyj  
tekhnicheskij universitet imeni N.E. Baumana  
(natsionalnyj issledovatelskij universitet)"  
(MGTU im. N.E. Baumana) (RU)

R U 2 7 4 5 6 6 3 C 1

(54) METHOD OF ANUFACTURING A MATRIX BIOSENSOR BASED ON REDUCED GRAPHENE OXIDE AND A MATRIX BIOSENSOR ON A POLYMER SUBSTRATE

(57) Abstract:

FIELD: biotech.

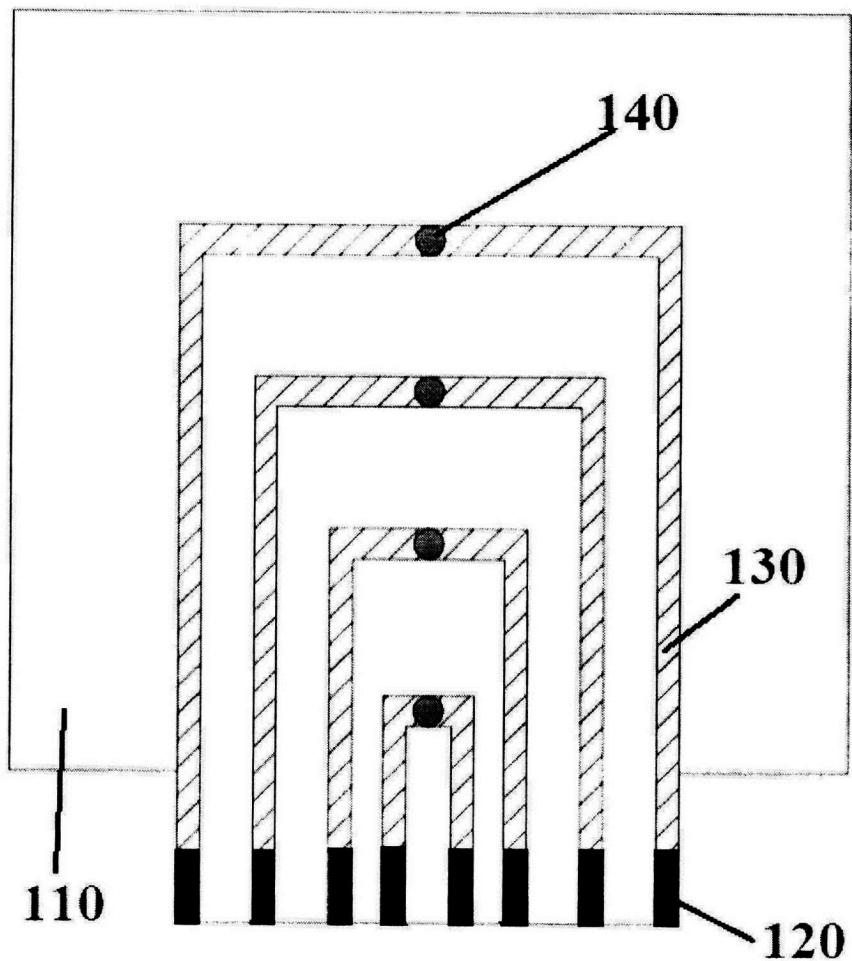
SUBSTANCE: essence of the invention lies in the fact that the manufacture of a matrix biological sensor based on reduced graphene oxide includes the formation of a graphene oxide film on a polymer substrate, local modification of an oxide-graphene film according to a given pattern with the formation of several conducting channels and immobilization of biomolecules on a modified oxide-graphene film providing selective interaction with other biological agents. Moreover, the formation of a graphene oxide film is carried out using liquid deposition methods. Local modification of the oxide-graphene film with a given topological pattern is carried out by incomplete restoration of the region with this pattern with further removal of the unreduced film in order to improve the adhesion of the protective polymer film. The resulting blank of the biological sensor is covered with a protective polymer film, with

the exception of the areas of contacts and holes located above the areas of immobilization of biomolecules. Immobilization of biomolecules is carried out by the method of liquid deposition from solutions independently on different areas due to the interaction of biomolecules with oxygen-containing functional groups in reduced graphene oxide. Also, biomolecules sensitive to different biological agents are immobilized on different biosensitive areas.

EFFECT: provision of the possibility of creating a highly sensitive and highly selective biological sensor, which makes it possible to obtain information about the presence of several biological agents in one sample and which makes it possible to ensure multiple measurements and integration into personal devices for monitoring the human health state.

13 cl, 2 dwg

R U 2 7 4 5 6 6 3 C 1



Фиг.1

R U 2 7 4 5 6 6 3 C 1

Изобретение относится к биотехнологии, а именно к созданию устройств с несколькими биочувствительными областями на основе восстановленного оксида графена. Способ изготовления матричного биологического сенсора на основе восстановленного оксида графена включает формирование на полимерной подложке пленки оксида графена, локальную модификацию оксид-графеновой пленки по заданному рисунку с образованием нескольких проводящих каналов и иммобилизацию на модифицированной оксид-графеновой пленке биомолекул, обеспечивающих избирательное взаимодействие с другими биологическими агентами. При этом формирование пленки оксида графена проводится с помощью жидкостных методов нанесения. Локальную модификацию оксид графеновой пленки с заданным топологическим рисунком осуществляют путем неполного восстановления области с данным рисунком с дальнейшим удалением невосстановленной пленки с целью улучшения адгезии защитной полимерной пленки. Полученную заготовку биологического сенсора покрывают защитной полимерной пленкой за исключением областей контактов и отверстий, находящихся над областями иммобилизации биомолекул. Иммобилизацию биомолекул проводят методом жидкостного нанесения из растворов независимо на разные области за счет взаимодействия биомолекул с кислородсодержащими функциональными группами в восстановленном оксиде графена. При этом на разные биочувствительные области производится иммобилизация биомолекул, чувствительных к отличным друг от друга биологическим агентам. Изобретение позволяет создать высокочувствительный и высокоселективный биологический сенсор, позволяющий получать информацию о присутствии нескольких биологических агентов в одной пробе и позволяет обеспечить многократные измерения и интеграцию в персональные устройства мониторинга состояния здоровья человека.

## 25 Описание изобретения

Изобретение относится к биотехнологии, а именно к созданию устройств с несколькими биочувствительными областями на основе восстановленного оксида графена, конкретно к созданию на его основе матричного биосенсора на гибкой подложке, который может быть использован в диагностической медицине для одновременного обнаружения нескольких разнотипных биологических агентов.

Известны способы получения биологических сенсоров на основе оксида графена, восстановленного оксида графена и углеродных нанотрубок, которые включают в себя формирование пленки ОГ/ВОГ, путем нанесения из водной или органической суспензии капельным, струйным, аэрозольным, центрифужным методом, методом Лэнгмюр-Блоджетт или иным на поверхности диэлектрической подложки (стеклянной, кварцевой или полимерной) с дальнейшим ковалентным связыванием с ОГ/ВОГ химических соединений, обладающих биологической чувствительностью.

Из уровня техники в патенте НР 2848929 А1 [Г] описан биологический сенсор на основе графенового полевого транзистора, являющийся чувствительным к биомолекулам - переносчикам запахов. Согласно приведенным данным изобретение относится к биомолекулярному сенсорному устройству, содержащему по меньшей мере один графеновый слой в качестве полупроводникового материала, причем к слою графена привязан слой лигандосвязывающих белков. Принцип работы устройства заключается в том, что белок при связывании за счет своего электрического заряда влияет на такие характеристики устройства как полевой эффект или импеданс. Недостатком данного сенсора является относительная сложность конструкции графенового полевого транзистора, а также невозможность использования гибких

подложек, что с учетом ориентации на носимые устройства персонализированного мониторинга здоровья представляется существенным ограничением в практическом применении.

В патенте RU 2527699 C1 [2] описан способ получения биологического сенсора,

5 который включает в себя стадии нанесения металлической пленки, промежуточного связующего слоя и биоспецифического слоя. При этом достигается высокая чувствительность биосенсора в сочетании с высокой биоспецифичностью, появляется возможность детектирования крупных биологических объектов. Заявленный 10 биологический сенсор работает на эффекте поверхностного плазмонного резонанса, где в качестве основы сенсора выступают тонкие пленки графена, оксида графена или углеродных нанотрубок. Конструкция данного сенсора включает подложку, на 15 поверхность которой нанесена тонкая металлическая пленка, на которую, в свою очередь нанесен слой графена, оксида графена или углеродных нанотрубок, использующийся в качестве связывающего или промежуточного для нанесения биоспецифического слоя. Данный слой также выполняет как функцию адсорбата 20 биоспецифических молекул и веществ, так и защищает металлическую пленку от внешних воздействий и позволяет использовать в процессе биодетектирования реагенты, которые могли бы повредить поверхность металла, а также использовать такие плазменные материалы, как серебро. В качестве биоспецифического слоя могут выступать молекулы 25 авидина, стрептавидина, дегликозилированного авидина, пары рецептор-лиганд, антиген-антитело, ферментсубстрат. Связывающим партнером анализируемого вещества может являться антитело, кроме того, связывающим партнером анализируемого вещества может являться связывающий партнер протеинов, липидов, ДНК, РНК, вирусов, клеток, бактерий или токсинов, а также химических модификаций приведенных веществ. К недостаткам 30 данного устройства можно отнести необходимость в использовании только твердых подложек, а также необходимость в подключении к системе формирования электромагнитных волн (обычно световых, т.е. обычно фотоизлучатель и фотоприемник), что ограничивает интегрируемость данной конструкции сенсора в носимые устройства персонализированного мониторинга состояния здоровья.

В публикации заявки US 2017/0059507 A1 [3] описан сенсор чувствительный к формальдегиду электрохимический сенсор на основе графена с иммобилизованной на его поверхности формальдегиддегидрогеназы. Кроме того, конструкция сенсора предполагает наличие флюидной системы, с помощью которой происходит подача формальдегид содержащего раствора к чувствительной области, а также чувствительной 35 области, находящейся между рабочим и противоэлектродом. Конструкция данного сенсора также предполагает использование твердотельной подложки, а также использование традиционных методов формирования паттернов контактов и чувствительных областей, таких как фотолитография. Эти особенности конструкции определяют относительную дороговизну и сложность приборного оснащения 40 производства подобных сенсоров, а также ограниченные возможности по использованию сенсоров такой конструкции в носимых устройствах мониторинга.

В публикации заявки WO 2011004136 A1 [4], которую предлагается взять в качестве прототипа для заявляемых объектов, описан биосенсор на основе графена, включающий в себя паттернированную графеновую область, два электрических контакта, 45 расположенных в контакте с паттернированной графеновой областью и предназначенных для определения проводимости графеновой области. В конструкции сенсора также предусмотрен как минимум один линкер, требующийся для связи с биологической молекулой. В качестве линкера предлагается использовать анилин,

диазониевый ион или диазониевая соль. Также в патенте описан способ функционализации графена за счет нанесения на его поверхность нитробензола с восстановлением его до анилина. Однако, конструкция сенсора, описанная в данном техническом решении опять же предполагает использование твердых кристаллических подложек (в частности, карбида кремния), что ограничивает возможности интеграции сенсора в персонализированные носимые устройства мониторинга состояния здоровья.

Особенностями способов создания биосенсоров в описанных выше работах 1-4 является использование графена в качестве слоя проводящего материала, к которому в дальнейшем идет привязка биочувствительного слоя. Во всех известных устройствах 10 используются различные линкеры, которые позволяют формировать поверх графенового слоя слой биочувствительного компонента. При этом формирование биочувствительного слоя предполагает связывание биочувствительного агента через какой-либо линкер.

Раскрытие изобретении.

Технической задачей предлагаемого изобретения является повышение селективности

15 и чувствительности, а также возможности проводить одновременную детекцию нескольких различных биологических агентов за счет способа его получения, включающего формирование нескольких каналов проводимости из слабовосстановленного оксида графена и последующей иммобилизации биомолекул - аптамеров на поверхность восстановленного оксида графена без применения 20 промежуточного звена - линкеров. Сформированный сенсор является устройством резистивного типа (большая часть аналогов из уровня техники созданы на основе полевого транзистора), что позволяет формировать сенсор на гибких полимерных подложках, а также упрощать и удешевлять технологию его производства.

Техническим результатом является создание высокочувствительного матричного

25 биосенсора на основе восстановленного оксида графена с несколькими чувствительными областями на единой подложке, имеющего возможность многократных независимых измерений на присутствие нескольких различных биологических агентов и интеграции в персонализированные устройства мониторинга состояния здоровья человека

Сущность технического решения состоит в следующем.

30 Пленка оксида графена на гибкой или твердой подложке могут использоваться такие методы нанесения растворов как капельное или центрифужное нанесение. С помощью указанных методов формируется пленка толщиной 0,005-2 мкм.

В качестве материала подложки используются полимеры с температурой плавления не менее 240°C, выдерживающие сушку при температуре более 100°C с помощью 35 термошкафа, электроплитки, паяльного фена и других подобных устройств, с целью удаления растворителя. К подобным полимерам, в частности, относятся полиэтилентерефталат и полиэтиленнафталат.

Для обеспечения ковалентной иммобилизации биологически-чувствительного вещества (аптамера) необходимо, чтобы в области топологического рисунка 40 происходило неполное восстановление оксида графена, что обеспечивает наличие карбоксильных функциональных групп, которые являются сайтами ковалентного связывания восстановленного оксида графена с аминомодифицированным аптамером.

Неполное восстановление оксида графена можно проводить как химическими, так и термическими методами. Однако для обеспечения возможности формирования требуемого топологического рисунка с несколькими чувствительными областями 45 предпочтительно использовать метод лазерного-индуцированного восстановления. При использовании метода лазерно-индуцированного восстановления достигается локализация областей восстановления ОГ и обеспечивается высокая точность

воспроизведения параметров. Техническая реализация восстановления оксида графена может быть произведена как импульсными лазерными установками, так и установками непрерывного действия.

Для обеспечения биодетекции на топологический рисунок областей восстановленного

оксида графена производится ковалентная иммобилизация аптамеров, при этом для 5 каждой области используется отдельный тип аптамеров, что позволяет создавать матрицу из биочувствительных областей на единой подложке. Для ковалентной иммобилизации аптамеров на функциональных группах -COOH чаще всего применяется связка 1-Этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид (EDC) и N-Гидроксисукциниимид 10 (NHS), при этом иммобилизация происходит в несколько стадий. Для создания предлагаемого матричного биосенсора, в отличие от вышеуказанных источников 15 уровня техники, используется одностадийный процесс иммобилизации аптамеров на восстановленный оксид графена с помощью раствора EDC в дистиллированной воде с добавлением этанола.

Для электрической изоляции областей экспонирования используется изоляционный 15 слой в виде нанесенной полимерной пленки полиэтилентерефталата толщиной до 60 мкм.

Для ограничения областей экспонирования и исключения возможности замыкания 20 подводящих электродов в заданных местах изоляции формируются окна с подобранным размером, соответствующим ширине топологического рисунка области восстановленного оксида графена в данном месте.

Для обеспечения высокой адгезии защитной пленки к поверхности подложки со 25 сформированным топологическим рисунком требуется удаление слоя невосстановленного оксида графена, т.к. в противном случае из-за крайне низкой адгезии клеевого состава к оксиду графена происходит деламинация пленки и возможны 30 короткие замыкания между токопроводящими дорожками, а также неспецифичные взаимодействия биологических агентов с поверхностью токопроводящих дорожек вис чувствительной области. В целом, каждое из указанных негативных последствий деламинации ведет к невозможности дальнейшего использования всей сенсорной структуры.

Для обеспечения качественного электрического контакта и простой интеграции в 35 устройства персонального мониторинга состояния здоровья или в другие электронные устройства геометрия подводящих электродов и подложки выполнена таким образом, чтобы обеспечивать электрический контакт со стандартными разъемами для гибких шлейфов.

Изобретение иллюстрируется графическими материалами:

Фигура 1. Схема матричного биологического сенсора, где:

110 - полимерная подложка. 120 - контактные области электродов, 130 - электроды 40 чувствительных областей, 140 область восстановленного оксида графена с иммобилизованными аптамерами.,

Фигура 2 - отклик сенсора на белки тромбин, который является таргетным белком и альбумин, который является референсным белком.

Пример конкретного исполнения.

Первоначально определялась зависимость толщины пленки оксида графена на 45 полимерной подложке от числа итераций нанесения. Полимерная подложка полиэтилентерефталата (ПЭГ) размером 40×40 мм толщиной порядка 150 мкм подвергалась предварительной очистке с помощью 2-пропанола. Для нанесения использовалась водная суспензия оксида графена с концентрацией 4,72 мг/мл. Суспензия

объемом 200 мкл наносилась на подложку методом капельного нанесения (drop-casting), после чего производился нагрев подложки до температуры 110°С. Атомно-силовая микроскопия (АСМ) выявила формирование пленок оксида графена с регулированной толщиной порядка 1 мкм.

- 5 Далее сформированная пленка была локально восстановлена с помощью лазерного излучения (445 им, мпкроскуидные импульсы) с формированием нескольких П-образных проводящих областей с шириной дорожки 2 мм и различными длинами по принципу «матрешки». При этом происходит неполное восстановление ОГ, т.к. в этом случае в материале остаются функциональные группы, требующиеся для обеспечения 10 ковалентного связывания биочувствительного агента (аптамера) с восстановленным оксидом графена. Площадь области восстановленного оксида графена составляет 27 мм<sup>2</sup>.

15 Измерения сопротивления и исследования свойств полученных областей восстановленного оксида графена показали, что степень восстановления пленки оксида графена, при которой в материале еще присутствуют функциональные карбоксильные группы, однако проводимость уже достаточна для измерения неспециализированными 20 приборами, достигается при флюенсе лазера порядка 15 Дж/см<sup>2</sup>.

25 После формирования П-образной проводящей области подложка покрывалась ламинирующей пленкой толщиной около 60 мкм с отверстиями диаметром 2 мм. Отверстия формируется таким образом, чтобы они находились над перемычками П-образных областей над центром перемычки и выполняют функцию «окон», которые ограничивают чувствительную область сенсорной структуры и служат для исключения возможности замыкания проводящих областей экспонируемым раствором. Кроме того, перед нанесением ламинации невосстановленный оксид графена удаляется со всем 30 площади подложки для исключения явления деламинации из-за плохой адгезии клеевого состава к поверхности восстановленного оксида графена.

На следующем шаге проводилась резка сенсоров на отдельные структуры и подгон 35 размеров контактной области для установки в коннекторы для гибких шлейфов (конкретная модель коннектора выбирается в зависимости от числа чувствительных областей). Как правило требуется отрезать порядка 0,1-0,2 мм с каждой стороны сенсора для точной беззазорной установки в коннектор.

40 Далее производилась процедура ковалентной иммобилизации аптамеров на поверхности. Процедура иммобилизации аптамера включает в себя подготовку наносимого раствора, включающего в себя активатор EDC (1-этил-3-(3-диметиламинопропил) карбодиимид, буферный раствор на основе MES (2- (N-морфолино) этансульфоновой кислоты. Реакцию проводили в буферном растворе 100 моль/л MES, рι 1=6.0, с добавлением 50% этанола при комнатной температуре в атмосфере инертного газа. Конечная концентрация аптамера при реакции конъюгации 45 составляла 50 мкМ. Далее в окно для экспонирования наносится указанный раствор объемом 2 мкл и выдерживается 24 часа во влажной атмосфере.

Далее проводятся измерения отклика матрицы сенсоров на тагретные белки в зависимости от типа иммобилизованного в каждую чувствительную область аптамера.

50 Схематически созданный биосенсор изображен на фиг. 1  
Созданный биологический сенсор имеет гибкую подложку из термостойкого полиэтилентерефталата толщиной 150 мкм, на которую нанесен слой оксида графена толщиной порядка 1000 им, с областью локально восстановленного до проводящего состояния оксида графена (ВОГ). Области ВОГ представлены в виде топологического рисунка (паттерна), имеющих П-образную форму, с не менее чем двумя чувствительными

областями и соответствующими им электродами для подключения к коннектору гибких шлейфов. Слой оксида графена, в том числе паттернированная область, покрыт ламинирующей пленкой толщиной 60 мкм по всей площади сенсора, за исключением 5 электрических контактов и специальных окон, открывающих область иммобилизации чувствительного вещества - аптамера, предназначенного для экспонирования молекул биологических агентов.

Биосенсор работает следующим образом: сенсор с помощью контактов 120, сформированных па гибкой подложке 110, подключается к измерительному прибору, 10 после чего производятся необходимые калибровки измерительной системы. Далее в область окна для экспонирования 140, производится экспонирование раствора, в котором предположительно содержаться белки-маркеры детектируемого заболевания. За счет наличия в области 140 ковалентно иммобилизованных через функциональную 15 группу аптамеров происходит перераспределение заряда на восстановленном оксиде графена 140, что выражается в изменении сопротивления всей токопроводящей области 120, 130 и 140. В итоге изменение сопротивления будет иметь вид, представленный на фиг. 3, где приведены графики изменения сопротивления биосенсора при экспонировании таргетным белком тромбином и рсфсрснсным белком - альбумином.

Предложенная конструкция устройства обеспечивает ковалентную иммобилизацию аптамера при сохранении чувствительности по сравнению с прототипом, что 20 обеспечивает решение поставленной технической задачи. Кроме того, создается набор чувствительных структур на гибкой основе, что расширяет возможности применения матричных биосенсоров.

#### (57) Формула изобретения

1. Способ изготовления биологического сенсора на основе оксида графена, 25 включающий формирование на подложке пленки графенсодержащего материала, паттернирование полученной пленки с образованием проводящего канала, сигнал которого измеряется за счет формирования подводящих электрических контактов, и модификацию поверхности пленки химическими соединениями, обеспечивающими 30 селективную связываемость с биологическими молекулами, отличающийся тем, что

формирование пленки оксида графена заданной толщины проводят на гибкой полимерной подложке методом капельного нанесения из высококонцентрированной 35 жидкой среды,

паттернирование пленки проводят путем контролируемого неполного восстановления 40 пленки оксида графена до образования проводящей области с помощью лазерного излучения, при этом проводящую область формируют в виде заданного топологического рисунка,

затем полученную заготовку со сформированным паттерном покрывают 45 ламинирующей полимерной пленкой за исключением областей электрических контактов, предназначенных для съема сигнала, и отверстий, которые находятся над проводящими областями и выполняют функцию «окон» для экспонирования сенсора,

модификацию открытой поверхности пленки проводят путем иммобилизации 50 аптамеров на функциональных кислородсодержащих, например, карбоксильных группах, оставшихся в области частичного восстановления оксида графена, путем 45 нанесения водно-спиртового раствора реактива 1-Этил-3-(3-диметиламинопропил) карбодиимида в «окно» для экспонирования в изоляционной пленке и последующей выдержки во влажной атмосфере до окончания реакции,

затем проводят контрольные измерения работоспособности иммобилизованных по

площади «окна» аптамеров на отклик биологическим маркерам.

2. Способ изготовления биосенсора по п. 1, отличающийся тем, что толщина пленки оксида графена составляет до 1 мкм.

5 3. Способ изготовления биосенсора по п. 1, отличающийся тем, что в качестве жидкой среды для нанесения используют высококонцентрированную водную дисперсию оксида графена.

4. Способ изготовления биосенсора по п. 1, отличающийся тем, что топологический рисунок (паттерн) электродов и чувствительной области имеет в плоскости несколько непересекающихся П-образных областей.

10 5. Способ изготовления биосенсора по п. 4, отличающийся тем, что в П-образной форме топологического рисунка над фрагментами «перекладина» располагаются «окна» для экспонирования, а «стойки» выполняют функции подводящих электродов, обеспечивающих электрический контакт со стандартными разъемами электронных устройств для снятия сигнала.

15 6. Способ изготовления биосенсора по п. 5, отличающийся тем, что на область электрического контакта подводящих электродов наносят тонкую пленку золота путем вакуумного напыления через сформированную маску, обеспечивающую заданный рисунок контактов.

7. Способ изготовления биосенсора по п. 1, отличающийся тем, что 20 параметры лазерного излучения подбирают таким образом, что в области неполного восстановления оксида графена остаются функциональные группы, обеспечивающие безлинкерную ковалентную конъюгацию аптамера с восстановленными частицами оксида графена.

8. Способ изготовления биосенсора по п. 1, отличающийся тем, что флюенс лазерного 25 излучения составляет величину порядка 15 Дж/см<sup>2</sup>.

9. Способ изготовления биосенсора по п. 1, отличающийся тем, что в каждой чувствительной области используется свой тип аптамера.

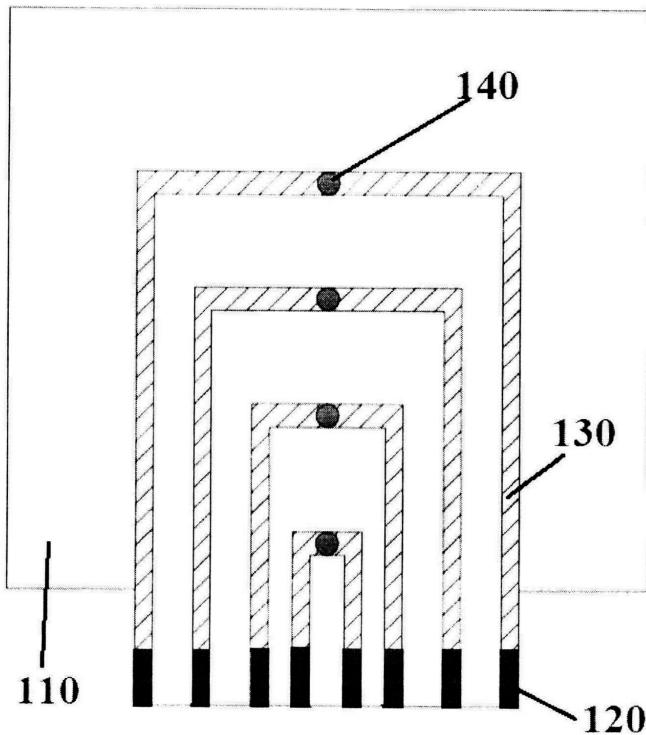
10. Способ изготовления биосенсора по п. 1, отличающийся тем, что в качестве гибкой полимерной подложки используют пленку полиэтилентерефталата толщиной 30 от 150 мкм.

11. Способ изготовления биосенсора по п. 1, отличающийся тем, что толщина ламинирующей полимерной пленки составляет до 60 мкм.

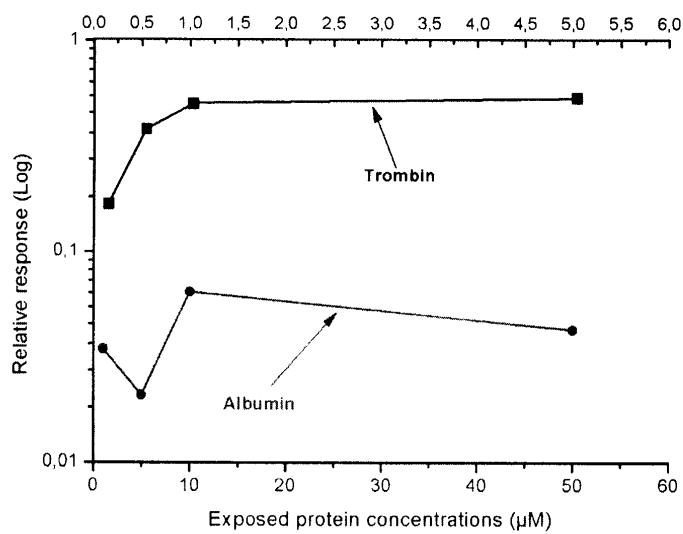
12. Способ изготовления биосенсора по п. 1, отличающийся тем, что отверстия «окон» для экспонирования чувствительных областей матричного биосенсора в ламинирующей 35 пленке делают круглой формы.

13. Биосенсор по способу по пп. 1-12, на гибкой полимерной подложке, на которую нанесен слой оксида графена толщиной порядка 1 мкм, с паттернизованными областями локально восстановленного до проводящего состояния оксида графена в виде топологического рисунка, имеющего П-образную форму, с не менее чем двумя 40 чувствительными областями и 4 областями для подключения коннекторов, при этом сенсор покрыт ламинирующей пленкой толщиной 60 мкм по всей своей площади, за исключением электрических контактов и специальных окон, открывающих области для иммобилизации биочувствительного вещества - аптамера, предназначенного для детектирования молекул таргентных биологических агентов.

45



Фиг.1



Фиг. 2