

07.2;09.1;14.1

Использование микродисковых лазеров с квантовыми точками InAs/InGaAs для биодетектирования

© М.В. Фетисова¹, А.А. Корнев¹, А.С. Букатин¹, Н.А. Филатов¹, И.Е. Елисеев¹, Н.В. Крыжановская^{1,2}, И.В. Редуто^{1,2,4}, Э.И. Моисеев¹, М.В. Максимов^{1,3}, А.Е. Жуков^{1,2}

¹ Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет РАН, Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

³ Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Университет Восточной Финляндии, Йозенсу, Финляндия

E-mail: fetmarina57@gmail.com

Поступило в Редакцию 19 июля 2019 г.

В окончательной редакции 19 июля 2019 г.

Принято к публикации 19 августа 2019 г.

Показана возможность использования для биодетектирования микродисковых лазеров диаметром $\sim 10 \mu\text{m}$ с активной областью на основе квантовых точек InAs/InGaAs, синтезированных на подложках GaAs. В качестве детектируемого объекта использовались химерные моноклональные антитела к белку CD20, ковалентно прикрепляемые к поверхности микродисковых лазеров, работающих при оптической накачке и комнатной температуре в водной среде. Показано, что присоединение вторичных антител приводит к увеличению пороговой мощности лазерной генерации, а также к увеличению полуширины резонансной лазерной линии.

Ключевые слова: биосенсор, полупроводниковый лазер, микродисковый лазер, квантовые точки, фотолюминесценция.

DOI: 10.21883/PJTF.2019.23.48711.17994n

Моды шепчущей галереи (МШГ) в микрорезонаторах названы по аналогии с акустическими волнами, которые распространяются вдоль стены одноименной галереи собора Св. Павла в Лондоне. Использование оптических микрорезонаторов с МШГ позволяет реализовать сверхмалый модовый объем и чрезвычайно высокую добротность [1]. Резонаторы с МШГ перспективны для множества практических приложений, среди которых низкопороговые лазеры [2,3], интегральные фотонные устройства [4,5], оптические сенсоры [6–9]. Также резонаторы с МШГ нашли применение в приборах оптомеханики [10,11] и нелинейной оптики [12–14]. Основной механизм детектирования одиночной биомолекулы МШГ-биосенсором [2] основан на изменениях резонансной длины волны и/или полуширины резонансной линии, что вызвано возмущением, которое оказывает частица на моду микрорезонатора.

В настоящее время для детектирования биомолекул в основном используются диэлектрические микросферы, являющиеся пассивными МШГ-резонаторами [15]. В непосредственной близости от микросферы располагается оптическое волокно, по которому распространяется излучение перестраиваемого лазера. Расстояние между микросферой и волокном должно быть очень малым ($\sim 100 \text{ nm}$) для обеспечения взаимодействия быстроспадающего электромагнитного поля МШГ с волокном. Распространяющееся по оптоволокну излучение перестраиваемого лазера поглощается микрорезонатором на частотах, соответствующих МШГ.

Сдвиг частот МШГ и уменьшение их добротности преобразуется в измеряемый сигнал, который свидетельствует о присутствии биомолекул на поверхности МШГ. Положение микросферы и волокна относительно друг друга должно быть точно отрегулировано с помощью устройства нанопозиционирования, что приводит к усложнению конструкции и росту ее стоимости.

Существенное упрощение конструкции биосенсора возможно за счет применения активного элемента — микролазера, чувствительного к изменению параметров окружающей среды [9]. Использование в качестве активной области микролазеров квантовых точек InAs/InGaAs, синтезированных на подложках GaAs [16], обеспечивает сильную локализацию электронов и дырок и подавление латеральной диффузии носителей заряда к боковым поверхностям, тем самым предотвращается их безызлучательная рекомбинация. В таких микролазерах диаметром $6 \mu\text{m}$, погруженных в водную среду, была реализована лазерная генерация при оптической накачке и комнатной температуре [17], что открывает перспективы для создания компактных высокочувствительных устройств для биодетектирования.

В настоящей работе исследована возможность биодетектирования путем анализа характеристик лазерной генерации в таких микродисковых резонаторах при осаждении на их поверхность вторичных антител. Полупроводниковая гетероструктура была выращена методом молекулярно-пучковой эпитаксии на нелегиро-

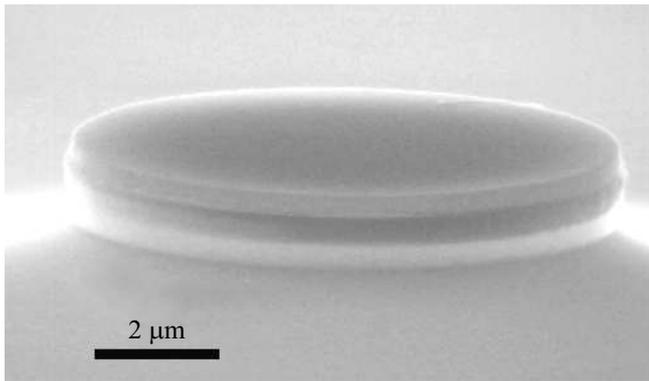


Рис. 1. Изображение исходного микролазера диаметром $10.4 \mu\text{m}$, полученное с помощью сканирующего электронного микроскопа.

ванной подложке GaAs (100). После осаждения буферного слоя GaAs выращивался слой $\text{Al}_{0.98}\text{Ga}_{0.02}\text{As}$ толщиной 400 nm . Активная область помещалась в волновод GaAs шириной 220 nm и представляла собой пять слоев квантовых точек InAs/In_{0.15}Ga_{0.85}As, разделенных спейсерами GaAs толщиной 30 nm . Спектральное положение основного перехода квантовых точек располагается вблизи $1.3 \mu\text{m}$ при комнатной температуре. Микродисковые резонаторы были сформированы методом фотолитографии и ионно-лучевого травления (Ar^+). Диаметр (D) резонаторов составил $10.4 \mu\text{m}$. Слой $\text{Al}_{0.98}\text{Ga}_{0.02}\text{As}$ был преобразован в оксид $(\text{AlGa})_x\text{O}_y$ методом селективного окисления для реализации оптического ограничения со стороны подложки, препятствующего утеканию моды в подложку (рис. 1). После этого методом атомно-слоевого осаждения микродисковые резонаторы были покрыты слоем диоксида кремния толщиной 5 nm , который требовался для ковалентной пришивки антител к поверхности микролазера. Процесс ковалентного связывания первичных антител с поверхностью микродискового лазера осуществлялся в несколько этапов. Сначала образец покрывался поверхностно-активным веществом цетилтриметиламмония бромидом (СТАВ) [18]. Затем на поверхности пленки СТАВ активировались COOH-группы, к которым присоединялись химерные моноклональные антитела к белку CD20 путем образования ковалентной связи между карбоксильной группой на поверхности микролазера и аминогруппой на поверхности антитела с помощью реакции EDC/NHS [19].

Далее образец размещался в прозрачной ячейке, реализованной из полидиметилсилоксана (PDMS) и обеспечивающей смену жидкостей в ходе эксперимента. На вставке к рис. 2 представлено схематическое изображение полученной после выполнения перечисленных этапов структуры, представляющей собой покрытый слоем SiO_2 микродисковый резонатор в ячейке PDMS, заполненной фосфатно-солевым буферным раствором

(PBS, показатель преломления $n_{\text{PBS}} \sim 1.34$ [20]) с осажденными на поверхность микролазера первичными антителами.

Исследование спектров излучения микролазеров выполнялось при накачке лазером YLF:Nd (527 nm), работающим в непрерывном режиме, с использованием оптического конфокального микроскопа (Ntegra Spectra, NT-MDT) при комнатной температуре. Для фокусировки лазерного пятна диаметром $\sim 1 \mu\text{m}$ на поверхности микродискового лазера в ячейке PDMS использовался объектив $\times 100$ Mitutoyo, $NA = 0.5$. Этот же объектив использовался для сбора излучения микролазера, которое детектировалось с помощью моно-

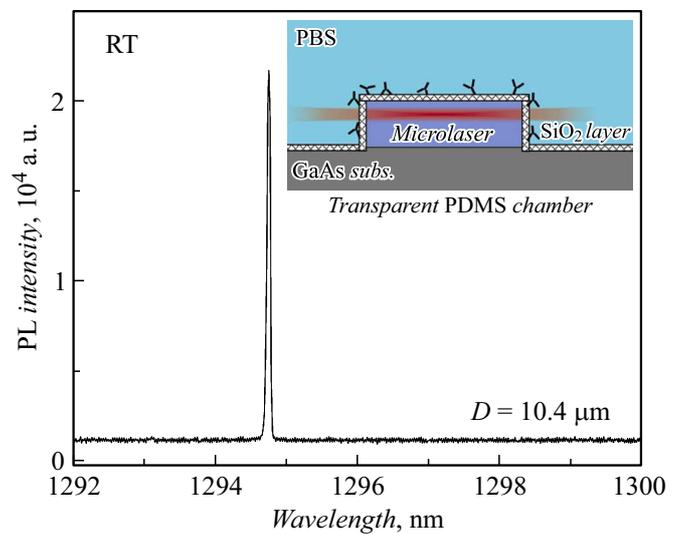


Рис. 2. Спектр лазерной генерации микродискового лазера, полученный при комнатной температуре. На вставке — схематическое изображение микродискового лазера, помещенного в среду PBS с прикрепленными первичными антителами.

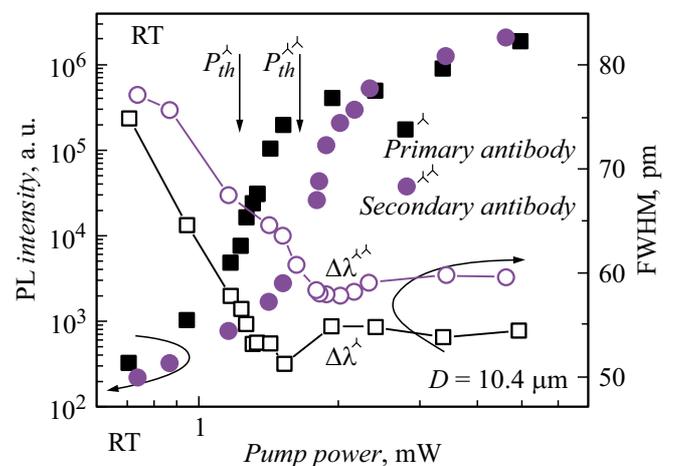


Рис. 3. Зависимость интенсивности линии и полуширины лазерной генерации от мощности оптической накачки микролазера с первичными и вторичными антителами. Пороговые мощности лазерной генерации отмечены стрелками.

хроматора MS5204i (Sol Instruments) и многоканального охлаждаемого InGaAs-детектора iDUS (Andor). Спектральное разрешение установки составило 30 pm. Спектры излучения микролазеров исследовались при различной мощности оптической накачки с целью определения пороговых характеристик лазерной генерации: пороговой мощности оптической накачки и ширины резонансной линии вблизи порога генерации. Типичный спектр лазерной генерации микродискового лазера, покрытого первичными антителами, представлен на рис. 2. После исследования излучения микролазера с первичными антителами выполнялся процесс прикрепления вторичных антител. Для этого в ячейку PDMS с микролазерами вводился раствор вторичных моноклональных антител к легким цепям каппа ($\mu 5$) и тяжелым цепям ($\mu 4$) человеческих антител IgG1 в PBS в концентрации $0.1 \mu\text{g/ml}$. После выполнения процедуры связывания вторичных антител исследование спектров фотолуминесценции микродисковых лазеров повторялось. Для контроля связывания вторичных антител с первичными антителами, иммобилизованными на поверхности микролазеров, вторичные антитела были конъюгированы с пероксидазой хрена, визуализация которой выполнялась с помощью реакции хемилуминесценции на приборе ChemiDocTM MP Imaging System BIO-RAD.

На рис. 3 приведены зависимости интенсивности и ширины на полувысоте лазерной линии от мощности оптической накачки для микродиска с первичными и вторичными антителами. Для обоих случаев наблюдается характерная для лазерной генерации пороговая зависимость интенсивности резонансной линии от мощности оптической накачки с одновременным уменьшением ширины линии. После покрытия исследуемого микролазера вторичными антителами наблюдается увеличение пороговой мощности с 1.36 до 1.8 mW и ширины резонансной линии на полувысоте с 53 до 60 pm, что, как мы полагаем, обусловлено дополнительными потерями, привносимыми вторичными антителами.

Таким образом, в работе показана возможность детектирования белков с помощью микродискового лазера с квантовыми точками InAs/InGaAs в активной области, погруженного в раствор PBS и работающего при оптической накачке. Обнаруженное существенное изменение пороговых условий генерации в микродисковом лазере (изменение пороговой накачки $> 25\%$, ширины линии генерации $> 10\%$) после связывания вторичных антител открывает широкие возможности применения таких лазеров для надежного детектирования различных биологических объектов. Дальнейшие исследования чувствительности пороговых характеристик микролазеров к различным условиям позволят повысить надежность и селективность биодетектирования.

Финансирование работы

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ 18-02-00895) и Программы фундаментальных исследований Президиума РАН.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

- [1] Городецкий М.Л. Оптические микрорезонаторы с гигантской добротностью. М.: Физматлит, 2011. 416 с.
- [2] He L., Özdemir S., Yang L. // *Laser Photon. Rev.* 2013. V. 7. P. 60–82. DOI: 10.1002/lpor.201100032
- [3] Jiang X.F., Zou C.L., Wang L., Gong Q., Xiao Y.F. // *Laser Photon. Rev.* 2016. V. 10. P. 40–61. DOI: 10.1002/lpor.201500163
- [4] Yang K.Y., Dong Y.O., Lee S.H., Yang Q.F., Yi X., Shen B., Wang H., Vahala K. // *Nature Photon.* 2018. V. 12. P. 297–302. DOI: 10.1038/s41566-018-0132-5
- [5] Levy J.S., Gondarenko A., Foster M.A., Turner-Foster A.C., Gaeta A.L., Lipson M. // *Nature Photon.* 2010. V. 4. P. 37–40. DOI: 10.1038/nphoton.2009.259
- [6] Foreman M.R., Swaim J.D., Vollmer F. // *Adv. Opt. Photon.* 2015. V. 7. P. 168–240. DOI: 10.1364/AOP.7.000168
- [7] Fan X., White I.M., Shopova S.I., Zhu H., Suter J.D., Sun Y. // *Anal. Chim. Acta.* 2008. V. 620. P. 8–26. DOI: 10.1016/j.aca.2008.05.022
- [8] Yang J., Guo L.J. // *IEEE J. Sel. Top. Quant. Electron.* 2006. V. 12. P. 143–147. DOI: 10.1109/JSTQE.2005.862953
- [9] Lu Q., Chen X., Fu L., Xie S., Wu X. // *Nanomaterials.* 2019. V. 9. P. 479 (1–11). DOI: 10.3390/nano9030479
- [10] Kippenberg T.J., Vahala K.J. // *Opt. Express.* 2007. V. 15. P. 17172–17205. DOI: 10.1364/OE.15.017172
- [11] Dong C., Fiore V., Kuzyk M.C., Wang H. // *Science.* 2012. V. 338. P. 1609–1613. DOI: 10.1126/science.1228370
- [12] Armani D., Kippenberg T., Spillane S., Vahala K. // *Nature.* 2003. V. 421. P. 925–928. DOI: 10.1038/nature01371
- [13] Jiang X., Shao L., Zhang S.X., Yi X., Wiersig J., Wang L., Gong Q., Loncar M., Yang L., Xiao Y.F. // *Science.* 2017. V. 358. P. 344–347. DOI: 10.1126/science.aao0763
- [14] Lu Q., Liu S., Wu X., Liu L., Xu L. // *Opt. Lett.* 2016. V. 41. P. 1736–1739. DOI: 10.1364/OL.41.001736
- [15] Ward J., Benson O. // *Laser Photon. Rev.* 2011. V. 5. P. 553–570. DOI: 10.1002/lpor.201000025
- [16] Kryzhanovskaya N.V., Moiseev E.I., Polubavkina Y.S., Maximov M.V., Mokhov D.V., Morozov I.A., Kulagina M.M., Zadiranov Y.M., Lipovskii A.A., Tang M., Liao M., Wu J., Chen S., Liu H., Zhukov A.E. // *Laser Phys. Lett.* 2018. V. 15. P. 015802. DOI: 10.1088/1612-202X/aa9306
- [17] Fetisova M., Kryzhanovskaya N., Reduto I., Moiseev E., Blokhin S., Kotlyar K., Scherbak S., Lipovskii A., Kornev A., Bukatin A., Maximov M., Zhukov A. // *J. Phys. Conf. Ser.* 2018. V. 1124. P. 051007 (1–4). DOI: 10.1088/1742-6596/1124/5/051007

- [18] *Yu Q., Hui J., Wang P., Wang X.* // *Inorgan. Chem.* 2012. V. 51. P. 9539–9543. DOI: 10.1021/ic301371q
- [19] *Qu W., Meng B., Yu Y., Wang S.* // *Mater. Sci. Eng. C.* 2017. V. 76. P. 646–651. DOI: 10.1016/j.msec.2017.03.036
- [20] *Diéguez L., Darwish N., Mir M., Martínez E., Moreno M., Samitier J.* // *Sens. Lett.* 2009. V. 7. P. 851–855. DOI: 10.1166/sl.2009.1161