

Copyright © 2017 by Academic Publishing House Researcher s.r.o.



Published in the Slovak Republic
European Journal of Medicine. Series B
Has been issued since 2014.
ISSN: 2409-6296
E-ISSN: 2413-7464
2017, 4(2): 77-99

DOI: 10.13187/ejm.s.b.2017.2.77
www.ejournal27.com



UDC 681.785 + 539.12 + 537.534.3

Basic Optical and Corpuscular Physical Principles for Lab-on-a-Chip Constructions with Multiple Non-Optical Physical Signal Conversions into OAS (Optical Analytical Signals) in Multiparametric Experimental Biomedical Engineering Customizations

Oleg V. Gradov ^{a,*}^aInstitute of Energy Problems of Chemical Physics RAS, Russian Federation

Abstract

A simplified theory of the optical signal registration using lab-on-a-chip with CMOS/CCD detectors is described. The difference between the contact active and passive chips with optically different possible registration schemes is outlined. For passive chips a possibility of their introduction into a sandwich-like structure with photoelectronic multipliers is also considered (a design of a so-called lab-on-a-PEM similar to the earlier proposed lab-on-a-tube technique where it is possible to integrate the glass surface of the vacuum tube with a microfluidic chip. It is also indicated the possibility of a multiparametric contrastimetry on a chip with a system converting arbitrary physical signals to an optical one. This technique allows to measure contrast, gradient and colocalization of the primary variables (converted signal) distribution in 2D mode with spatial resolution. Either a photoinjection or a photoemission method of estimation of the parameters related to the primary analytical signal for PEM-combined labs-on-a-chip is also proposed. For the simplest “boundary calibration” of the optical CMOS-/CCD-based chip it is suggested to use either white or black balance/level, which after recalculation within a single COBAC system can be applied for estimation of the primary non-optical signal parameters together with contrastimetry. Also an “energy calibration” method is described combining calibration with the photocell and a thermoelement (the parameter measured in this case is specific thermodynamic irradiance). A simple simulation of the light transmission through a biological sample located on a chip to the chip surface was performed using Geant4 software developed by CERN (Scientific Linux OS). The following topology of the on-chip experiment is proposed: a sandwich-type chip system including a light source (LED), emitting photons from the point («World initStep»), a biological cell with cytoplasm («World») and an osmotic vacuole («Tank»), which is a part of the optical path from the light source to the detector of CCD or CMOS chip, which is considered as a target («OutOfWorld») and serves as a substrate for the biological sample. The possibility of the polarization parameter registration at the given experimental scheme and the path geometry is also mentioned. Due to the possibility and the initial application of the Monte-Carlo methods in Geant4 for the nuclear physics, the above model can be extrapolated towards the lab-on-a-chip with either a scintillation primary converter or without it (the operation principle of such a chip is based on the SEU – Single Event Upsets upon the single particle interaction with the pixels). It is also shown that Haar transforms and Fourier registrograms of the line scans from the CCD/CMOS can be

* Corresponding author

E-mail addresses: gradov@chph.ras.ru (O.V. Gradov)

considered as one of the sources of visualizable descriptors (both of the optical and primary non-optical signals).

Keywords: lab-on-a-chip, CCD, CMOS, signal converters, stochastic simulations.

1. Введение

В настоящей статье, написанной для пользования студентами на экспериментальных биофизических практикумах с использованием лабораторий на чипе, описываются простые базовые исходные положения для конструирования подобных чипов и аналитических DIY-систем, а именно:

- элементарная упрощенная оптическая теория регистрации оптического сигнала лабораториями на чипе с оптическим (КМОП- или ПЗС-) детектором;
- различие между контактными активными и пассивными чипами как чипами с детектором, не пригодными для измерений на отражение, и чипами без КМОП-/ПЗС-матрицы, способными, в силу прозрачности или полупрозрачности, быть считываемыми внешним устройством как в трансмиссионном режиме, так и на преломлении/отражении (в рефракционном/рефлексном режиме);
- для случая пассивных чипов рассматривается также возможность внедрения их в спарку/сэндвич с фотоэлектронным умножителем (создание лаборатории на умножителе, аналогично предложенным ранее коллективом автора принципом лаборатории на радиолампах некоторых типов, в которых при «рефабришинге» возможно интегрировать стеклянную поверхность с микрофлюидным чипом);
- указывается на возможность мультипараметрической контрастиметрии на чипе с системой преобразования произвольных физических сигналов в оптический сигнал; в итоге внедрения контрастиметрии оптического сигнала формируется также возможность измерения контраста, градиента и разницы распределений первичных преобразованных переменных в 2D/плоскости с пространственным разрешением;
- предложен фотоинжекционный/фотоэмиссионный метод оценки параметров, относящихся к первичному аналитическому сигналу, для ФЭУ-ЛНЧ;
- для простейшей граничной калибровки оптического КМОП-чипа или ПЗС-чипа предложено использовать фотометрические величины, интегрируемые сейчас в большинство встраиваемых процессоров цифровых фотоустройств, как высокой автоматизации, так и низкой (включая камерофоны) – уровень/баланс белого, уровень/баланс черного; при пересчете в рамках единой системы СОВАС этот принцип может быть, также как и контрастиметрия, применен для оценивания неоптического сигнала, преобразованного в оптический;
- энергетический метод калибровки, совмещающий в себе калибровку по фото- и термо- элементам (удельная термодинамическая облученность);
- наиболее элементарное моделирование прохождения излучения на чипы через биологический объект, находящийся на чипе, с использованием программного пакета Geant4 (разработка ЦЕРН) в ОС Scientific Linux; предложена следующая топология эксперимента на чипе: сэндвич-система чипа из генератора частиц (лазерный диод, LED), излучающего фотоны из точки («World initStep»), клетки с цитоплазмой («World») и осмотической вакуолью («Tank»), через которую осуществляется проекция потока фотонов на детектор ПЗС- или КМОП- чипа/мишень («OutOfWorld»), являющийся подложкой по отношению к клеточному препарату;
- указывается на возможность регистрации поляризационных характеристик при такой схеме эксперимента;
- вследствие возможности и исходной предназначенности использования Geant4 в физике элементарных частиц, данная модель экстраполируема на случай чипа с сцинтилляционным первичным преобразователем (или без такового: принцип работы такого чипа основан на SEU – Single Event Upsets – при взаимодействии одиночных частиц с пикселями);
- указывается, что в качестве одних из источников графически-визуализируемых дескрипторов можно использовать преобразования Хаара и Фурье.

2. Результаты

2.1. Элементарная упрощенная теория регистрации

В процессе оптической регистрации излучения, прошедшего через тканевый образец, расположенный на чипе в непосредственном контакте с детектором, детектор-регистратор, функцию которого выполняет ПЗС- или КМОП-матрица, поглощает излучение входящего оптического сигнала. При этом, что очевидно, следует использовать именно контакт матриц с образцом, а не дистанционную регистрацию, так как (помимо необходимости фокусировки с использованием вводимого в систему оптического тракта, усложняющего регистрацию на чипе по геометрии эксперимента) функция чувствительности детектора представляет собой средние потери энергии на единице длины пути. Фотохимический закон Ламберта-Бугера, связывающий количество излучения, прошедшего через объект, с толщиной поглощающего слоя и показателем поглощения, имеет вид:

$$-\frac{\Delta\Phi}{\Phi} = k \Delta x \quad (2.1)$$

Здесь $\Delta\Phi$ – изменение потока, прошедшего через объект, Φ – падающий поток излучения, Δx – толщина поглощающего слоя, а k – показатель поглощения данного вещества. Закон Ламберта-Бугера действителен для процессов регистрации на ПЗС- и КМОП- чипе, так как модуляция излучения при прохождении через образец толщиной Δx изменяет падающий поток на $\Delta\Phi$, поскольку происходит поглощение потока Φ средой. Абсорбция излучения в ткани определяется характеристиками биологического объекта. В интегральной форме:

$$\Phi = \Phi_0 e^{-kx} \quad (2.2)$$

$$k = \frac{1}{x} \ln \frac{\Phi_0}{\Phi} \quad (2.3)$$

где Φ – световой поток, Φ_0 – падающий световой поток, k – показатель поглощения, а x – толщина поглощающего слоя. Спектр пропускания и комбинационного рассеяния клеток ткани должен быть согласован с возможностями регистрации на ПЗС- или КМОП-матрице. Случай измерений на отражение не реализуем в случае активных чипов с ПЗС-матрицами/КМОП-матрицами, но возможен при использовании пассивных стеклянных/полимерных чипов:

$$k = \frac{1}{x} \ln \frac{\Phi_0(1-r)^2}{\Phi} \quad (2.4)$$

Вышеприведенный закон и его вариации справедливы для монохроматического излучения. В спектрально-обобщенной форме для случая полихроматического пучка на выходе ткани/культуры клеток на чипе закон имеет вид:

$$\Phi_0 = \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} \Phi_{0\lambda} d\lambda \quad (2.5)$$

$$\Phi = \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} \Phi_{0\lambda} e^{-k(\lambda)x} d\lambda \quad (2.6)$$

В данной нотации $\Phi_{0\lambda}$ – монохроматический поток, λ_1 и λ_2 – границы диапазона на выходе из биологической ткани. В связи с соотношением $k=\chi c$, хорошо известным как закон Бера, где χ – удельный показатель поглощения, а c – концентрация вещества, можно сформулировать следующее утверждение: возможно измерение концентрации вещества в точках на чипе при использовании оптических детекторов (ПЗС- и КМОП-матриц); возможно кинетическое или цейтраферное динамическое регистрирование этой

параметрики для сред с переменной как по времени, так и по пространственному аргументу (клеток, тканей), оптической плотностью/экстинкцией:

$$\Phi = \frac{1}{S_0} \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} \Phi_{0\lambda} \iint_{S_0} e^{-\chi(\lambda) \frac{dM}{dS(x,y)}} dS d\lambda \quad (2.7)$$

Формируя структуру пучка, эта модуляция по пространственному аргументу формирует само поле изображение, причем псевдоспектры образцов, адекватные молекулярным процессам в биологической матрице, являются составными дескрипторами измерений.

2.2. S/N-определение и калибровка чипа и комплементарных ридеров

Для регистрирования на чипе необходимо оптимальное соотношение сигнал-шум. Для позиционно-чувствительных лабораторий на чипе это существенно в аспекте контраста. При этом для случая ФЭУ-ЛНЧ-считывания, возможна внешняя контрастметрическая оценка в системе мультипараметрической контрастметрии. Т.к. фототок пропорционален световому потоку Φ_1 и чувствительности сенсорной среды $\eta \sim D$, верно утверждение, что $I = \eta \Phi_1$. Уровень сигнала U на выходе ткани или культуры пропорционален фототоку и контрастности ткани или культуры δ или $U = k \delta I$, где k – коэффициент пропорциональности.

$$\delta = \left| \frac{\Phi_1 - \Phi_2}{\Phi_1} \right| \quad (3.1)$$

Здесь Φ_1, Φ_2 – величины потока в двух пикселях на выходе контрастных компарментов или клеток в составе образца. Тогда $U = k \Delta \Phi \eta$, где $\Delta \Phi$ – разность потоков ($|\Phi_1 - \Phi_2|$). Поскольку световой поток $\Phi_1 = SE$, где E – энергетическая освещенность участка препарата, а S – его размеры, а коэффициент его использования (упрощенно) $\nu = \Phi / \Phi_1$, то величина сигнала на выходе и дельта-функция потока, завися от яркости B , апертуры лучей A и коэффициента пропускания α , объединены системой:

$$\begin{cases} \Delta \Phi = \pi B A^2 \alpha S \nu \\ U = k \pi B A^2 \alpha S \nu \eta \end{cases} \quad (3.2)$$

Здесь $\alpha = p_1^l p_2^N$, где p_1 – коэффициент поглощения образца, l – длина пути пробега (в см), p_2 – коэффициент пропускания поверхности преломления луча, а N – число преломляющих поверхностей по ходу пучка сквозь ткань или культуру клеток. Изменение же преломления пучка, сопровождающееся изменением скорости фотонов в среде на границе раздела фаз и контрастных сред, влияет на уровень сигнала, изменяя параметры процессов фотоэмиссии (фотоинжекции) электронов. Уровень сигнала U в простейшем случае, по сути, представляет собой напряжение фотоЭДС, возникающего в детекторе излучения под действием лазерного или диодного облучения ткани на чипе. Допустим, что U_c – мгновенное значение импульса, а U_0 – фотоЭДС шума, регистрируемого при отключенном излучателе. Тогда:

$$\frac{U_c}{U_0} = 1 - e^{-kx} \quad (3.3)$$

«Уровень черного» отвечает максимальному (в пределе – абсолютному) поглощению. Таким образом, фоновые параметры (без облучения) могут быть использованы для калибровки, по прошествии которой параметры фонового сигнала U_0 вычисляются путем привязки уровня шума к нулю. Данный метод позволяет получать малозумные плато при работе с сигналом малой импульсной мощности. U_0 может быть использован при вычислении поглощающего объема ткани на чипе:

$$V = \sum_s s x = \frac{s}{k} \sum_s \ln \left(1 - \frac{U_c}{U_0} \right) \quad (3.4)$$

Чтобы определить объём поглощающего вещества (клеточной среды или ткани) V , следует просуммировать элементарные поглощающие объёмы sx , где s – площадь их поверхности, по всей (условно планарной) поверхности S . Как таковое термодинамическое поглощение каждого элемента, как хорошо известно, не зависит от его концентрации, но коэффициент поглощения среды a' пропорционален концентрации n_a этих элементов:

$$a = a' n_a, \quad (3.5)$$

что действительно и для рассеяния

$$\beta = \beta' n_s, \quad (3.6)$$

где n_s – концентрация рассеивающих элементов, а β' – коэффициент рассеяния на единицу концентрации. Так как a' и β' имеют размерность площади, они, по определению, являются поглощающими и рассеивающими поперечными сечениями компонентов среды (клеток, компартментов), взаимодействующих с излучением (этот факт можно использовать в целях сравнительной морфометрии). Можно утверждать, что для потока облученностью \mathcal{H} с длиной волны λ , проходящего через слой толщиной x :

$$\frac{d\mathcal{H}(\lambda)}{\mathcal{H}(\lambda)} = -(a' n_a + \beta' n_s) dx. \quad (3.7)$$

Согласно закону Ламберта-Бера, после интегрирования:

$$\mathcal{H}_\tau(\lambda) = \mathcal{H}_i(\lambda) \exp[-(a' n_a + \beta' n_s) x], \quad (3.8)$$

где $\mathcal{H}_i(\lambda)$ – спектральная облученность на фронтальной поверхности. Если пренебречь эффектами рассеяния, то

$$\frac{\mathcal{H}_\tau(\lambda)}{\mathcal{H}_i(\lambda)} = \exp\{-ax\} \equiv \tau_a, \quad (3.9)$$

где $\mathcal{H}_\tau(\lambda)$ – спектральное лучеиспускание источника, а τ_a – коэффициент пропускания, определяемый постоянной поглощения k :

$$\tau_a = \left| \frac{E_y}{E_{yi}} \right|^2 = \exp\left\{ -\frac{4\pi\nu kx}{c_0} \right\}. \quad (3.10)$$

Коэффициент поглощения a связан с постоянной поглощения k соотношением

$$a = \frac{4\pi\lambda k}{c_0} = \frac{4\pi\nu}{c} \left[\frac{k}{n} \right] = \frac{4\pi}{\lambda} \left[\frac{k}{n} \right]. \quad (3.11)$$

Коэффициент затухания K , определяемый как отношения постоянной поглощения k индексу рефракции вычисляется как:

$$K = \frac{a\lambda}{4\pi}. \quad (3.12)$$

Затухание можно рассматривать как электродинамический эффект в среде. Каждая частица состоит из зарядов, смещаемых внешним электромагнитным полем излучения. Существуют силы, пропорциональные мгновенной скорости, тормозящие движение носителей заряда. Дифференциальное уравнение, соответствующее данной ситуации, записывается в виде:

$$m \frac{d^2x}{dt^2} = qE(t) - k_1x - k_2 \frac{dx}{dt}, \quad (3.13)$$

где m – масса заряженной частицы (или иона), k_1 – коэффициент возвращающей силы, k_2 – коэффициент вязкого демпфирования, $E(t)$ – значение вектора электрического поля. Если поле изменяется во времени синусоидально (любая модуляция в ряду Фурье), то

$$\frac{d^2x}{dt^2} = \frac{q}{m} E_0 \exp(j\omega t) - \omega_0^2 x - \frac{k^2}{m} - \frac{dx}{dt}, \quad (3.14)$$

$$\text{где } \omega_0 \equiv \left[\frac{k_1}{m} \right]^{\frac{1}{2}}. \quad (3.15)$$

Решение записывается в виде

$$x = \frac{\frac{q}{m} E_0 \exp(j\omega t)}{\omega_0^2 - \omega^2 + \frac{j\omega k_2}{m}}. \quad (3.16)$$

Заряженная частица колеблется с частотой приложенного поля и, как следствие, формирует фронт столкновений, совпадающий по масштабам с длиной волны приложенного поля. За счет этого разрешение пропорционально ему по размерам, а не только размеру пикселя.

Допустим, существует детектор с спектральной чувствительностью S , подвергающийся облучению в ходе регистрации. Относительная спектральная облученность характеризуется величиной B_λ . Клеточный образец на чипе выполняет функцию фильтра с пропусканием D_λ . Коэффициент фильтра b характеризует его «эффективность» (при отсутствии фильтра $b=1$). В таком случае аддитивная облученность на выходе из биологического объекта будет равна $b \cdot B_\lambda \cdot D_\lambda$, а фототок детектирования, инициируемый $b \cdot B_\lambda \cdot D_\lambda$, будет определяться выражением:

$$i_\lambda = b \cdot \bar{B}_\lambda \cdot D_\lambda \cdot S_\lambda \cdot \beta. \quad (3.17)$$

Здесь коэффициент β - значение фототока при облученности $B = 1$ Вт/см. В случае, если просуммировать данное выражение по всем длинам волн внутри диапазона пропускания биологического объекта, то величина фототока:

$$i^* = \sum i_\lambda = \sum b \cdot \bar{B}_\lambda \cdot D_\lambda \cdot S_\lambda \cdot \beta = b \cdot \beta \sum \bar{B}_\lambda \cdot D_\lambda \cdot S_\lambda. \quad (3.18)$$

Чтобы измерить эффективность спектральной модуляции контраста при взаимодействии с биологическим транспарантом, косвенно оцениваемую через показатель фильтрации b , необходимо оценить термодинамику процесса. Так, термодинамическое отклонение α_λ для излучения с длиной волны λ и детектора с сенсбилизацией c (указывающей какое значение имеет облученность на единицу α , удельная термодинамическая облученность) вычисляется как:

$$c \cdot \alpha_\lambda = b \cdot \bar{B}_\lambda \cdot D_\lambda. \quad (3.19)$$

Величина $\alpha_\lambda \cdot c$ представляет собой абсолютное значение облученности для данной λ . Если просуммировать, то

$$c \cdot \alpha^* = \sum c \cdot \alpha_\lambda = \sum b \cdot \bar{B}_\lambda \cdot D_\lambda = b \cdot \sum \bar{B}_\lambda \cdot D_\lambda. \quad (3.20)$$

Так как аддитивный коэффициент фильтра b и удельная облученность детектора c не зависят от длины волны, их можно вынести за знак суммирования. Тогда, сократив b :

$$\frac{i^*}{c \cdot \alpha^*} = \frac{\beta \sum \bar{B}_\lambda \cdot D_\lambda \cdot S_\lambda}{\sum \bar{B}_\lambda \cdot D_\lambda}. \quad (3.21)$$

Тогда величина β находится следующим образом:

$$\beta = \frac{i^* \sum \bar{B}_\lambda \cdot D_\lambda}{c \cdot \alpha^* \sum \bar{B}_\lambda \cdot D_\lambda \cdot S_\lambda}. \quad (3.22)$$

В модельном случае $\beta \text{ см}^2/\text{Вт}$ вычисляется сопоставлением показаний фотоэлемента и термоэлемента при заданных параметрах пучка или потока. С другой стороны, можно вывести коэффициент γ , не зависящий от длины волны, представляющий собой фототок светочувствительного элемента при облученности $B = 1 \text{ Вт/см}$ и имеющий размерность а/Вт .

$$\gamma = \frac{i^* \sum B_{\lambda} \cdot D_{\lambda}}{c \cdot \alpha \cdot O \cdot \sum B_{\lambda} \cdot D_{\lambda} \cdot S_{\lambda}} \quad (3.23)$$

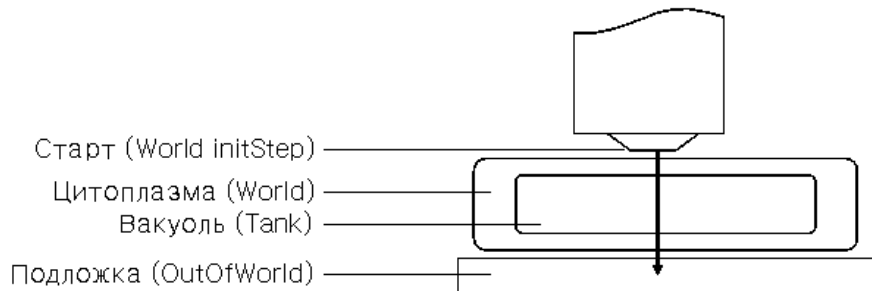


Рис. 1. Сэндвич-система, имитирующая топологию эксперимента

2.3. Моделирование

Было проведено моделирование прохождения излучения через биологический объект, находящийся на чипе, с использованием программного пакета Geant4 (разработка ЦЕРН) в операционной системе Scientific Linux. Предложена следующая топология эксперимента на чипе: сэндвич-система контактного чипа, состоящая из генератора частиц (лазерный диод, LED), излучающего фотоны из точки («World initStep»), клетки с цитоплазмой («World») и осмотической вакуолью («Tank»), через которую осуществляется проекция потока фотонов на собственный детектор чипа («OutOfWorld»), являющийся подложкой – по отношению к клеточному препарату. Генератором частиц испускаются фотоны с заданными величинами энергии, которые взаимодействуют с веществом клетки («World» & «Tank»), регистрируются при попадании в мишень (терминология ядерного эксперимента – стандартная для базового применения Geant4) – подложку. При этом происходит регистрация поляризационных и энергетических параметров частиц в различных точках системы. Методами стохастического моделирования Монте-Карло моделируется процесс взаимодействия излучения с веществом детектора. Пример этого показан на [рис. 1](#).

Вакуоль моделирование с использованием гидратированной среды, а цитоплазма – на базе смеси элементов-органогенов, т.е. содержала углерод. В имитационном моделировании использовались следующие параметры абстрактной цитологической структуры (абстракция состоит в игнорировании цитоплазматических органелл, кроме осмотической вакуоли):

- пробег от старта (World initStep) до границы между цитоплазматическим матриксом (World) и вакуолью (Tank) – до мембраны тонопласта – 15 мкм,
- пробег в высоководной вакуолярной среде – 80 микрон,
- пробег от нижней границы вакуоли (Tank) до подложки включительно – 20 мкм,
- длина пробега фотонов до поглощения в подложке (включительно) – 115 мкм.

Результаты вычислительного эксперимента автоматически импортировались в файл исходящих данных. Модель детектирования данной элементарной клеточной структуры на чипе апробировалась на 10-фотонных циклах, иначе говоря – измерения энергетических и поляризационных характеристик производились для выборки в 10 частиц. Как следует из данных имитационного моделирования (см. листинг ниже), для фотонов с энергией 6.09 эВ (дальний ультрафиолетовый диапазон) имели место процессы поляризации в пучке, но при этом процессы взаимодействия, естественно, не привели к возникновению новых частиц (Number of optical photons produces in this event: 0) и затратам энергии в слоях сэндвича на чипе (dEStep = const = 0 – вследствие малой толщины слоя).

| №1 | Step# | X | Y | Z | KineE | dEStep | StepLeng | TrakLeng | |
|----|-------|--------|------|------|---------|--------|----------|----------|---------------------------|
| | 0 | -55 um | 0 fm | 0 fm | 6.09 eV | 0 eV | 0 fm | 0 fm | |
| | 1 | -40 um | 0 fm | 0 fm | 6.09 eV | 0 eV | 15 um | 15 um | World Transportation |
| | 2 | 40 um | 0 fm | 0 fm | 6.09 eV | 0 eV | 80 um | 95 um | Tank Transportation |
| | 3 | 60 um | 0 fm | 0 fm | 6.09 eV | 0 eV | 20 um | 115 um | OutOfWorld Transportation |

| №10 | Step# | X | Y | Z | KineE | dEStep | StepLeng | TrakLeng | |
|-----|-------|--------|------|------|---------|--------|----------|----------|---------------------------|
| | 0 | -55 um | 0 fm | 0 fm | 6.09 eV | 0 eV | 0 fm | 0 fm | |
| | 1 | -40 um | 0 fm | 0 fm | 6.09 eV | 0 eV | 15 um | 15 um | World Transportation |
| | 2 | 40 um | 0 fm | 0 fm | 6.09 eV | 0 eV | 80 um | 95 um | Tank Transportation |
| | 3 | 60 um | 0 fm | 0 fm | 6.09 eV | 0 eV | 20 um | 115 um | OutOfWorld Transportation |

Number of optical photons produces in this event : 0

Old Polarization - New Polarization:
 (0,0.420139,-0.90746), (0,0.70234325,0.71183844), (0,-0.94852969,-0.31668822),
 (0,-0.54338696,-0.83948235), (0,-0.033489645,0.99943906), (0,0.30225799,-0.95322616),
 (0,0.93340691,0.35881966), (0,0.70010471,0.71404019), (0,-0.83855458,0.54481759),
 (0,-0.59402523,-0.80444641)

По результатам вычислительного эксперимента при 6.09 эВ были построены изолинейные номограммы изменения поляризации в оптическом тракте (илл. 2) в осевом формате «Old Polarization (A, B)» & «New Polarization (A, B)». Как видно из рис. 2, оба значения углов поляризации изменяются в процессе трансляции транспаранта. При этом, как следует из чередования знаков вращения плоскости поляризации (*L* и *D* – вращение), на регистратор действует поляризационно-модулированный поток ультрафиолетового излучения. Между тем, известно, что биологические структуры обладают оптической активностью, поэтому ряд вероятных экспериментальных случаев хорошо описывается в этой симуляции.

2.4. Вариант для корпускулярного случая

Поскольку методы вычислительного моделирования, как было показано, позволяют рассмотреть процесс, логично привести аналог математического аппарата, приведенного в начальном разделе, но в корпускулярном приближении. Очевидно, что наиболее развитым методом для подобного описания и моделирования как раз является метод Монте-Карло. Итак: модулируясь в гетерогенной среде, скорости света в которой различаются, завися от координат, претерпевая рассеяние и рефракцию, исходно однородный по скоростям поток фотонов приобретает зависимость от координаты. Для плотности $u(t, x, v)$ числа фотонов, в момент t проходящих в точке x со скоростью v , верно интегро-дифференциальное уравнение переноса следующего рода:

$$\begin{aligned}
 & \frac{\partial u(t, x, v)}{\partial t} + (v \text{grad} u(t, x, v)) = \\
 & = \Phi(t, x, v) - |v| \cdot \Sigma(x, |v|) \cdot u(t, x, v) + \\
 & + \int_{(v')} |v'| \cdot \Sigma_{pac}(x, v') K(v', v, x) u(t, x, v') dv' + \\
 & + \int_{(v')} \bar{v}(x, v') \cdot |v'| \cdot \Sigma_{asa}(x, v') \Lambda(v', v, x) u(t, x, v') dv'
 \end{aligned}
 \tag{5.1}$$

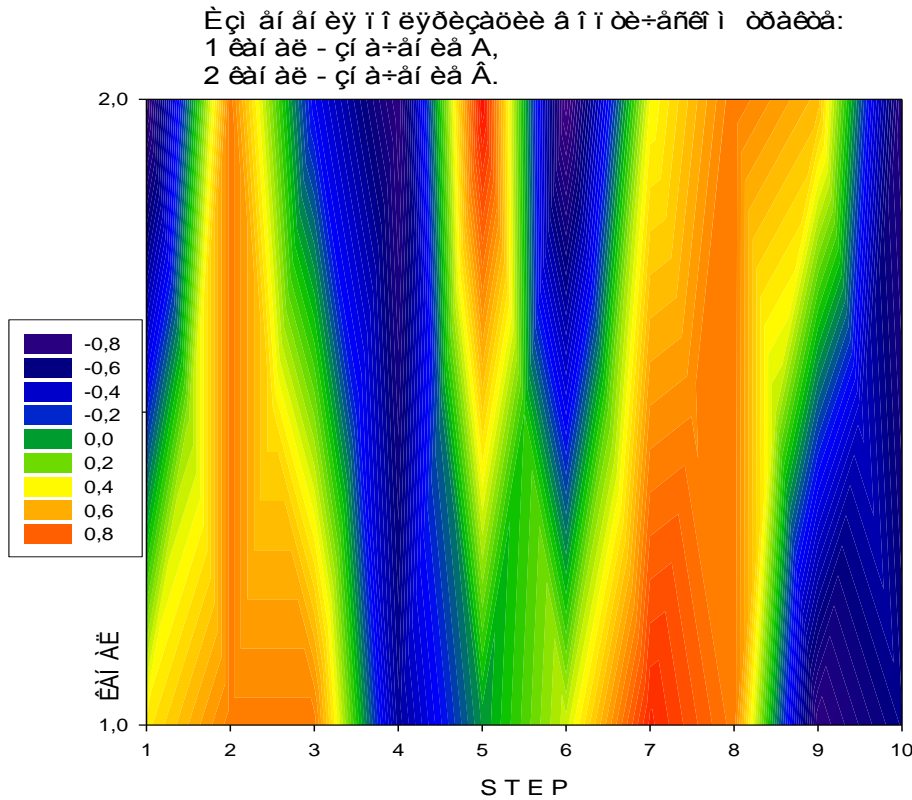


Рис. 2. Изменение поляризации в процессе эксперимента

Движение частицы состоит из изменений пространственных координат x и скорости в среде v . Если $q(t, x, v)$ – плотность числа частиц, вступивших в точку (x, v) в момент t во взаимодействие с веществом, $p(t, x, v)$ – плотность потока рассеянных частиц в точке (x, v) , а $r(t, x, v)$ – плотность эмитированных частиц (фотоэффект или фотоэлектронная эмиссия, люминесценция), то в стационарном случае корректна система интегральных уравнений:

$$(II) \begin{cases} q = A (p + r + \varphi) \\ p = Bq \\ r = Cq \end{cases} \quad (5.2)$$

с интегральными операторами A, B, C .

$$A [f(x)] = \int_{(x')} R_1(x, x', v) f(x') dx' = \quad (5.3)$$

$$\Sigma(x, |v|) \int_0^{\infty} \rho(x'(s); x, |v|) f(x'(s)) ds$$

Согласно нотации:

$$x'(s) = x - \frac{v}{|v|} s \quad (5.4)$$

$$\rho(x'(s); x, |v|) = \exp \left\{ - \int_0^s \Sigma(x'(\theta), |v|) d\theta \right\} \quad (5.5)$$

, где Θ – линейный оператор, соответствующий правым частям системы II .

$$B [f(v)] = \int_{(v')} R_2(v', v, x) f(v') dv' \quad (5.6)$$

В данном случае:

$$R_2(v', v, x) = \frac{\sum_{pac}(x, v')}{\sum(x, |v'|)} K(v', v, x) \quad (5.7)$$

Оператор B имеет корреляцию с R_2 , равно как оператор C к R_3 :

$$C[f(v)] = \int_{(v')} R_3(v', v, x) f(v') dv' \quad (5.8)$$

причем

$$R_3(v', v, x) = \bar{v}(x, v') \frac{\sum(x, v')}{\sum(x, |v'|)} \Lambda(v', v, x) \quad (5.9)$$

Индикатрисы рассеяния K и Λ имеют различный вид в зависимости от параметров излучения и состава среды, в которой происходит перенос. Вычисление распределений частиц в данном составе исследуется стохастическим методом. Исключая q , можно получить единое уравнение для $p + r$. Таким образом, модуляция излучения при трансмиссии через биологическую среду происходит с участием рассеянных и эмитированных частиц в соответствии с вероятностями попадания частиц потока $q(t, x, v)$ в клеточный транспарант.

$$\begin{aligned} p(x, v) + r(x, v) &= \\ &= \int_{(v')} \int_{(x')} [R_2(v', v, x) + R_3(v', v, x)] R_1(x', x, v') \times \\ &\times [p(x', v') + r(x', v') + \varphi(x', v')] dv' dx' . \end{aligned} \quad (5.10)$$

Если стационарный режим поддерживается источниками (что наблюдается в нашем случае), то решение системы интегральных уравнений Π имеет вид:

$$\begin{aligned} p_0 + r_0 &= \varphi ; \\ q_n(x, v) &= \int_{(x')} R_1(p_{n-1} + r_{n-1}) dx' ; \\ p_n(x, v) &= \int_{(v')} R_2 q_n dv' ; \\ r_n(x, v) &= \int_{(v')} R_3 q_n dv' . \end{aligned} \quad (5.11)$$

Иными словами, аддитивные потоки излучения в процессе модуляции целесообразно рассматривать как совокупности единичных потоков, претерпевших модуляцию на образце в определенных зонах клеточного препарата, ткани или культуры клеток:

$$p = \sum_{n=1}^{\infty} p_n ; \tag{5.12}$$

$$q = \sum_{n=1}^{\infty} q_n ; \tag{5.13}$$

$$r = \sum_{n=1}^{\infty} r_n . \tag{5.14}$$

Отметим, что ввиду того, что энергия излучения зависит от длины волны или, иначе говоря, от скорости частиц (в рассматриваемом случае – фотонов модулируемого потока), целесообразно рассматривать не обобщенную, а дифференциальную по углам рассеяния и энергии плотность потока $n(r, \Omega, E, t)$. Здесь r – радиус-вектор точки нахождения частицы, Ω – направление движения потока, E – энергия, t – время. Дифференциальная же плотность потока есть среднее число фотонов, находящихся в единичном фазовом объеме окрестности точки $x(r, \Omega, E)$ в момент времени t .

Ввиду рефракционных и дисперсионных эффектов путь частиц потока будет зависеть от углового распределения частиц. В связи с этим при размещении детектора относительно клеточного препарата следует иметь в виду соблюдение условий контакта между ними или минимизировать рассеивающие и рефракционные параметры материала прослойки (даже если это – ещё один преобразователь, несущий эвристически ценную информацию). Угловое распределение частиц является интегральной функцией от (r, Ω, E, t) :

$$\Phi(r, \Omega, t) = \int \Phi(r, \Omega, E, t) dE \tag{5.15}$$

Плотность потока частиц в этом случае есть полное число частиц, отнесенное к поперечному сечению некоторого потока, вычлененного из $\Sigma(q)$ в процессе модуляции:

$$\Phi(r, t) = \int \Phi(r, E, t) dE = \int \Phi(r, \Omega, t) d\Omega = \iiint \Phi(r, \Omega, E, t) d\Omega dE \tag{5.16}$$

Таким образом, формируется т.н. поле излучения, являющееся структурированным потоком излучения, проецируемого на поверхность ПЗС или КМОП детектора. В конечном итоге, кардинальное влияние на неё оказывает энергия, вкладываемая в ходе облучения, в связи с чем целесообразно выделить дифференциальную плотность потока энергии:

$$I(r, \Omega, E, t) = E\Phi(r, \Omega, E, t) ; \tag{5.17}$$

энергетический спектр излучения

$$I(r, E, t) = \int I(r, \Omega, E, t) d\Omega ; \tag{5.18}$$

и эффективную интенсивность излучения

$$I(r, t) = \int I(r, E, t) dE \tag{5.19}$$

Интерпретируя дифференциальную плотность потока частиц как вероятностный смысл макроскопического взаимодействия, получаем, что, по сути, дифференциальная плотность взаимодействий равна сумме отдельных элементов в структуре потока:

$$F(x, t) = \sum (x)\Phi(x, t) \tag{5.20}$$

Взаимодействие потока частиц с ультраструктурой клетки можно представить как возмущения поля излучения плотностью

$$\Phi = \Phi_0 + \Phi_s, \tag{5.21}$$

являющейся суммой рассеянной (S) и не рассеянной (O) компонент (излучение в процессе модуляции на транспаранте может претерпевать рассеяние, в том числе комбинационное).

Введем оператор возмущения, рассматривая процесс модуляции как введение неких возмущений в структуру потока:

$$\Delta \hat{E} = \Delta \Sigma - \Delta \hat{K}_s \tag{5.22}$$

Идентификатором ΔK_s здесь обозначена функция:

$$\Delta \hat{K}_s = \int d\Omega' \int dE' \Delta \Sigma_s (r, \Omega' \rightarrow \Omega, E' \rightarrow E) \tag{5.23}$$

Объективно существуют компоненты с непрерывным угловым распределением ΔS :

$$\begin{aligned} \Delta S (r, \Omega, E) &\approx \Delta S_0 (r, \Omega, E) = \\ &= - \Delta \Sigma (E_0) \exp [- \Sigma (E_0) z] \delta (\Omega - \Omega_0) \delta (E - E_0) \chi (r) \end{aligned} \tag{5.24}$$

Здесь S – рассеяние, E_0 – энергия частиц опорного потока, $\chi(r)$ – характеристическая функция структуры, равная 1 в её объеме или 0 вне объёма, δ – характеристика точечного векторизованного импульсного источника (т.н. δ -источника). Тогда изменение параметров отклика детектора можно записать в следующем виде:

$$\begin{aligned} \Delta J = \iint h(x, y) \Phi + (x, y, z_0, \Omega_0, E_0) \times \\ \times [- \Delta \Sigma (E_0) \exp(- \Sigma (E_0) z_0)] dx dy, \end{aligned} \tag{5.25}$$

$$h(x, y) = \int \chi(x, y, z) dz \tag{5.26}$$

длина компартмента структуры по оси, а z_0 – глубина его залегания в цитоплазматическом матриксе. Тогда:

$$\begin{aligned} \Delta J (\xi, \eta, z) = - \Delta \Sigma (E_0) \exp [- \Sigma (E_0) z] D (E_0) [h(\xi, \eta) + \\ + (1/2 \pi) \Xi_D (E_0) \varphi_h(\xi, \eta)], \end{aligned} \tag{5.27}$$

где ξ – расстояние до границы модулирующей области, коэффициент Ξ имеет размерность $см^2/г$, а

$$\varphi_h (\xi, \eta) = \iint h(x, y) dx dy / \sqrt{(x - \xi)^2 + (y - \eta)^2} \tag{5.28}$$

есть ни что иное, как интеграл, совпадающий по форме с электростатическим потенциалом в модулирующей (вводящей возмущения при трансмиссии через нее) плоскости сечения, на которой распределен заряд $\chi(x, y)$. В случае контактного расположения клеточного образца коэффициент преобразования подобия при проецировании может быть сведен к минимуму за счет снижения длины фотонного пробега. Поскольку число взаимодействий фотонов с детектором, равно как с гистологическим препаратом, определяется формулой

$$\Sigma_s (\Omega' \rightarrow \Omega, E' \rightarrow E) \Phi (r, \Omega', E', t), \tag{5.29}$$

где $\Omega \rightarrow \Omega'$ – изменение направления, $E \rightarrow E'$ – изменение энергии, аддитивный эффект детектора вычисляется по формуле

$$\begin{aligned} J = \iiint \Phi (r, \Omega, E, t) \{ \Sigma_c (r, E) qc (r, \Omega, E, t) + \\ + \int d\Omega' \int dE' \Sigma_s (r, \Omega \rightarrow \Omega', E \rightarrow E') \times \end{aligned} \tag{5.30}$$

$$\times q_s(r, \Omega \rightarrow \Omega', E \rightarrow E', t) \} dr d\Omega dE dt.$$

Функция чувствительности детектора определяется величиной D

$$\begin{aligned} D(r, \Omega, E, t) &= \Sigma_c(r, E) q_c(r, \Omega, E, t) + \\ &+ \int d\Omega' \int dE' \Sigma_s(r, \Omega \rightarrow \Omega', E \rightarrow E') \times \\ &\times q_s(r, \Omega \rightarrow \Omega', E \rightarrow E', t) \end{aligned} \quad (5.31)$$

Таким образом, как следует из функционала D , регистрация происходит под действием направленной по направлению Ω энергии E потока плотностью r за эффективное время t , что и требовалось доказать. В таком случае эффективность аддитивного детектора

$$J = \iint D(x, t) \Phi(x, t) dx dt \quad (5.32)$$

Усредненный вклад единичного взаимодействия в некоторой точке, сопоставляемой с элементом структуры биологического образца, может характеризовать эффективность его регистрирования. Средний вклад одного взаимодействия q_d равен:

$$\begin{aligned} q_d(r, \Omega, E, t) &= \frac{D(r, \Omega, E, t)}{\Sigma(r, E)} = \frac{\Sigma_c(r, E)}{\Sigma(r, E)} \times \\ &\times q_c(r, \Omega, E, t) + \frac{1}{\Sigma(r, E)} \int d\Omega' \int dE' \Sigma_s(r, \Omega \rightarrow \Omega', E \rightarrow E') \times \\ &\times q_s(r, \Omega \rightarrow \Omega', E \rightarrow E', t) \end{aligned} \quad (5.33)$$

Для зоны детектора, при взаимодействии с которой происходит потеря энергии пучка:

$$q_c(r, \Omega, E, t) = E; \quad q_s(r, \Omega \rightarrow \Omega', E \rightarrow E', t) = E - E' \quad (5.34)$$

и

$$D(r, \Omega, E, t) = \Sigma_c(r, E)E + \int \Sigma_s(r, E \rightarrow E')(E - E')dE' \quad (5.35)$$

Таким образом, модель в корпускулярном приближении не сильно отличается от следствий элементарной теории, воспроизводя потерю энергии, те же зарядовые явления, адекватное отображение в «мишени»/ПЗС- или КМОП- детекторе поля облученности.

Методы Монте-Карло, меж тем, применимы и для анализа изображений, а также для работы с полями случайной структуры. В таком случае, поля облученности, возникающие в ходе задач, решаемых методами Монте-Карло, можно обрабатывать как изображения и делать выводы об их воздействии на детектор (потенциальном).

Рассмотрим, для примера, специфический случай – детектирование сигнала флуоресцирующих микропрепаратов. Измеряя в их сечениях (в заданной строке развертки прибора с зарядовой связью) параметр сигнала, можно ориентировочно указать на максимумы возможных структур в детектирующей среде и возможный коэффициент шума (или вуали – говоря языком фотохимии).

На [рис. 9](#) приведено изображение культуры неспецифично окрашенных флуоресцирующих клеток, полученное с помощью ПЗС в режиме накопления сигнала. По центральной строке, означенной красным репером, снимали профиль сигнала, приведенный на [рис. 10](#), который впоследствии обрабатывали преобразованиями Фурье и Хаара. Результат обработок дан на [рис. 11](#) и [12](#). Как видно из иллюстраций, режим накопления (высокой экспозиции) благоприятствует накоплению динамических вариаций (причина низкой четкости изображения) и накоплению высокоамплитудного шума, обнаруженного преобразованиями Фурье и Хаара.

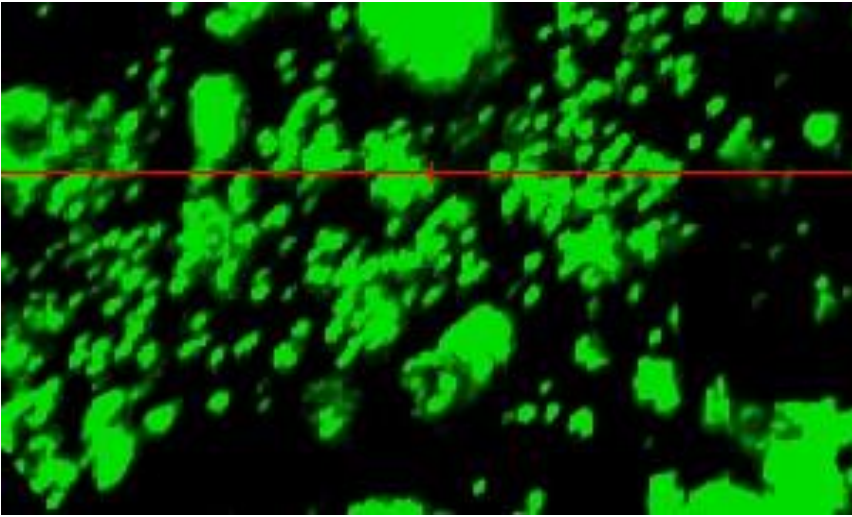


Рис. 9. Исходный препарат. ПЗС, режим накопления сигнала

Для сравнения можно привести иллюстрации, полученные аналогичным путем, но при меньшей экспозиции исходного изображения. На [рис. 13](#) дана микрофотография исходного образца. Изображение сделано при достаточно малой экспозиции, вследствие чего профиль по означенной репером строке более четок и менее зашумлен, чем на [рис. 10](#), а преобразования Фурье и Хаара ([рис. 14, 15](#)) дают значительно более четкую картину структуры изображения поля облученности, чем их аналоги в первом случае на [рис. 11, 12](#).

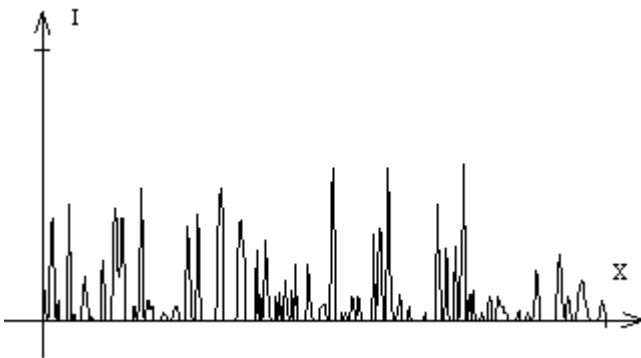


Рис. 10. Профиль сигнала по центральной строке (без преобразования)

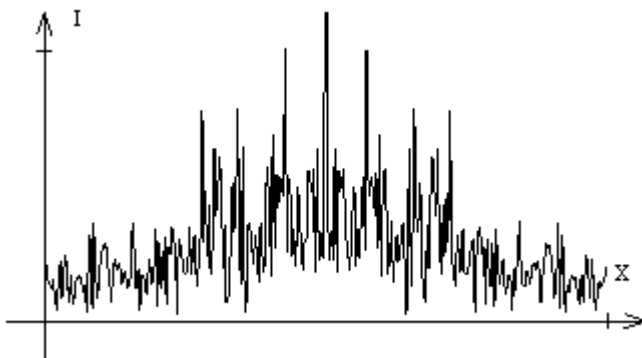


Рис. 11. Профиль сигнала по центральной строке (преобразование Фурье)

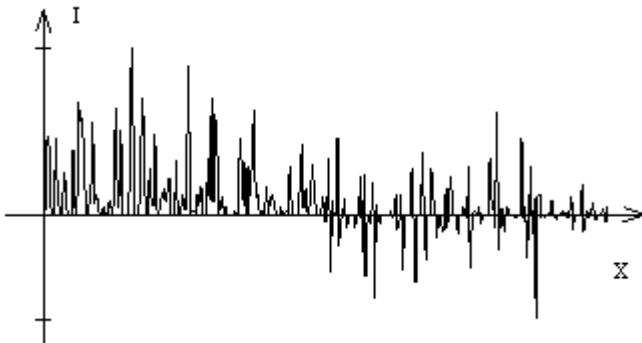


Рис. 12. Профиль сигнала по центральной строке (преобразование Хаара)

Для сравнения можно привести иллюстрации, полученные аналогичным путем, но при меньшей экспозиции исходного изображения. На [рис. 13](#) дана микрофотография исходного образца, соответствующая профилю, показанному на [рис. 14](#). Изображение сделано при достаточно малой экспозиции, вследствие чего профиль по означенной репером строке более четок и менее зашумлен, чем на [рис. 10](#), а преобразования Фурье и Хаара ([рис. 15, 16](#)) дают значительно более четкую картину структуры изображения поля облученности, чем их аналоги в первом случае на [рис. 11, 12](#).

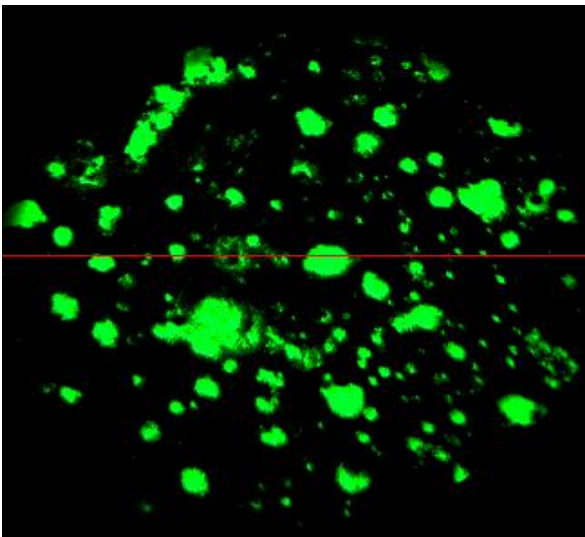


Рис. 13. Исходный препарат. ПЗС, режим накопления сигнала

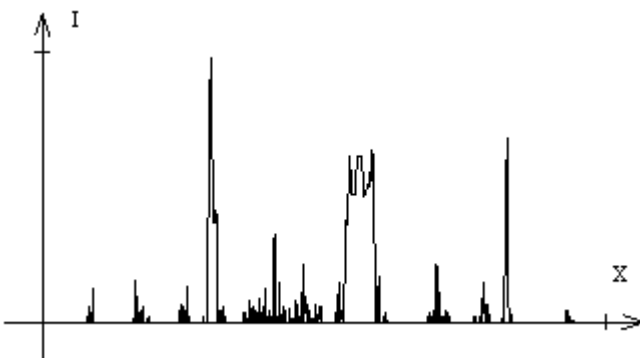


Рис. 14. Профиль сигнала по центральной строке (без преобразования)

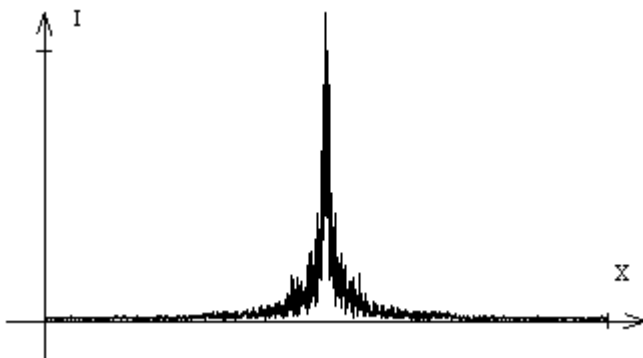


Рис. 15. Профиль сигнала по центральной строке (преобразование Фурье)

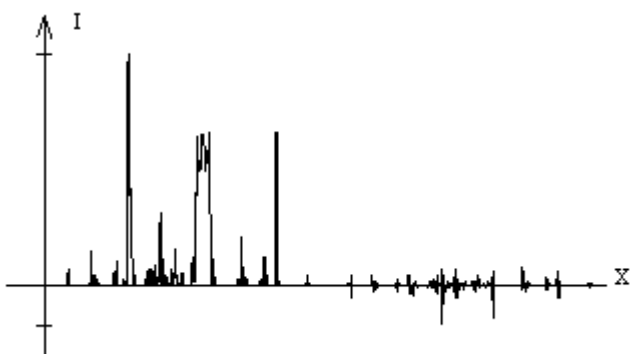


Рис. 16. Профиль сигнала по центральной строке (преобразование Хаара)

Для сравнения данных измерений по шуму с вышеприведенными изображениями по сигналу можно обратиться к Рис. 17 (а, б), где продемонстрирован структурный шум на чипе для контрольного образца и преобразование Хаара для данного «шумового» препарата.

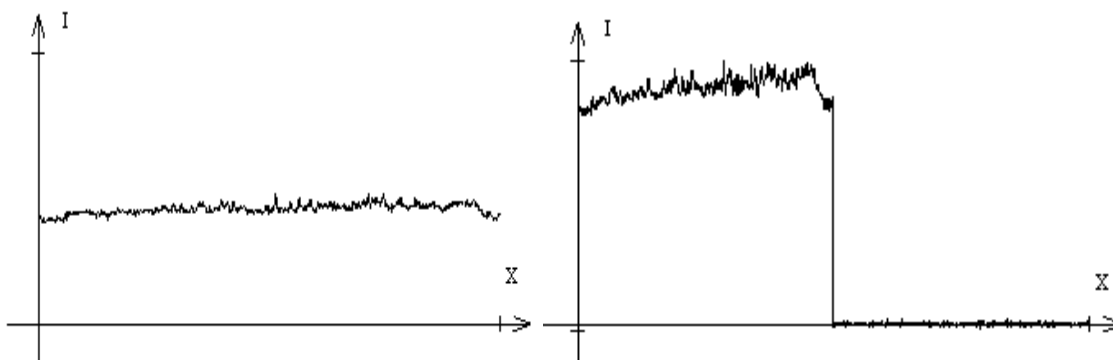


Рис. 17. Структурный шум в контрольном образце (а) и преобразование Хаара для шумового микропрепарата (б)

3. Обсуждение

Описанный (крайне элементарный) математический аппарат подходит для следующих типов чипов:

I. стандартных оптических морфометрических лабораторий на чипе на ПЗС- или КМОП- матрице (Нотченко, Градов, 2012; Notchenko and Gradov, 2013) любого биомедицинского назначения – микологического или медико-микологического (Градов и др., 2017 [a,b]), клинко-цитологического или цитопатологического анализа, в том числе – при лазерной спекл-иллюминации образца (Нотченко, Градов, 2011; Oganessian et al., 2015; Градов, Нотченко, 2017), лактохимических и экзокринологических колориметрических и нефелометрических измерений с позиционной чувствительностью (Градов, Орехов, 2014; Orekhov, Gradov, 2016), диссекционного диагностического (биопсийного) и хирургического назначения (Градов, Яблоков, 2014; Jablokov, Gradov, 2015);

II. хемилюминометрических и флуоресцентных лабораторий на чипе различного назначения – цитологического (например, для синхронизированного анализа с

позиционной чувствительностью кинетики затухания флуоресценции органелл с интеркалированным красителем после лазерного фотообесцвечивания, FRAP/FLIP (Александров, Градов, 2014; Alexandrov et al., 2015), энтомологического в случае использования флуоресцентных меток (Градов, Нотченко, 2013; Градов и др., 2014), биолого-почвенного, в том числе почвенно-паразитологического и почвенно-микробиологического (Gradov, 2012) назначения (как стандартного – счетного характера, так и с увеличенным динамическим диапазоном, дающим возможность получать регистрограммы повышенной яркости, информативной ценности и достоверности, HDRI (Градов, Нотченко, 2012), биохимического, в частности – молекулярно-генетического предназначения (Gradov, 2014; Orehov, Gradov, 2014)

III. дозиметрических, радиометрических и счетно-морфометрических лабораторий на чипе для RIA (RadioImmunoAssay) и радиобиохимических исследований при специфически подобранном квенчинг-факторе сцинтилляционного кристалла или тонкослойного преобразователя, а также рентгенометрических измерений и структурных исследований с позиционной чувствительностью (Градов, 2015a, 2015b, 2016; Gradov, 2016), в том числе с распознаванием неоптических образов для генетических задач с использованием изотопных меток и специфических, с точки зрения физического базиса обработки, методов биоинформатики на чипе (Градов, Панкратов, 2016);

IV. произвольных по регистрируемой переменной лабораторий на чипе, дающих возможность регистрации окончательного сигнала аналита в оптической форме при любом типе первичных действующих на чип с дискретным пиксельным (или, что тоже самое в данном случае, ресельным) преобразователем переменных из неоптических сигналов в оптические сигналы (Градов, 2016b; Gradov, Jablokov, 2016; Gradov, 2017); тоже самое относится не только к дискретным элементным чипам, но и к чипам, получаемым в рамках нового направления – реакционно-диффузионной оптоэлектроники на дисперсных полупроводниках или же, что коррелятивно в аспекте преобразования сигналов, оптоэлектроники частично-упорядоченных сред с функцией восприятия внешних управляющих сигналов (т.н. «soft matter» + «sensitive matter»), при котором воспринимающая среда, по агрегатному составу («консистенции») может быть не твердотельной, являясь, с точки зрения физической химии, дисперсной системой, коллоидом или гелем с иммобилизованными частицами (Gradov, Gradova, 2012, 2015).

Более конкретные и тонкие аспекты преобразования сигнала и распознавания формы неоптических образов, а также выявления ряда косвенных дескрипторов состояния аналита/образца (микропрепарата) для планарных морфометрических чипов, будут рассмотрены нами в следующих работах.

4. Благодарности

Автор благодарит А.С.Б. за разрешение на использование математических фрагментов одной из наших совместных работ и быв. сотрудников Отдела метрологии и измерительной техники (ОМСИ/БИП) ГЕОХИ РАН за предоставление возможности использования старых приборов, с помощью которых была построена калибровочная установка для первых чипов с метрологической выдачей результатов измерений.

Продолжение работ в данном направлении было поддержано ФГБУ "ФСРМФП в НТС" по биомедицинскому направлению (№ 10406ГУ/2015 – «Создание лабораторий на чипе для персонализированной клеточной диагностики»). Промежуточные результаты представлены д.с.п. в отчете (Градов, 2017). Объем финансирования по проекту составил 200 т.р./год. Ряд общедоступных открытых сведений, описанных в настоящей статье, приведены в указанном отчете по НИР. Созданные геометрии DIY-лабораторий на чипе могут быть смонтированы в студенческом практикуме студентами нефизической специализации (медики, биологи).

Литература

Александров, Градов, 2014 – Александров П.Л., Градов О.В. Конвенционные патч-кламп-автоматы с обратной связью для многофакторных лабораторий на чипе с использованием интерфейсов вычислительных машин реального времени. // Биотехносфера, 2014, 3(33): 13–17.

Градов и др., 2014 – Градов О., Нотченко А., Линь В. Этолого-энтомологические лаборатории на чипе - трассирующие лабиринтные мирмекодромы для мониторинга динамики колоний в формикариях. // *Прикладная энтомология*, 2014, 5(1): 28–36.

Градов, 2015a – Градов О.В. Граммометрические лаборатории на чипе и синхронизация граммометрии на чипе на изолированном мышечном волокне с рентгеноструктурным анализом ткани *in situ* и *mems*-опосредованной спектроскопией времен возбуждения. // *Вестник новых медицинских технологий*, 2015, 22(3): 153–160.

Градов, 2015b – Градов О.В. Радиохимические микрореакторы/лаборатории на чипе на основе скинтилляторов с разным квантинг-фактором и специфических шифтеров с отличными спектральными характеристиками переизлучения. В: «Мат. VIII Всероссийской конференции по радиохимии РАДИОХИМИЯ-2015», 2015, pp. 399–399. г. Железнодорожск, Россия.

Градов, 2016 – Градов О.В. Радиоавтографически-детектирующий локальный патч-кламп как метод онкоцитологического анализа. // *Евразийский онкологический журнал*, 2016, 4(2): 637.

Градов, 2016b – Градов О.В. Мультипараметрические лаборатории на чипе для биохимических и физико-химических измерений с привязкой к координатам картируемого препарата. *Научно-практическая конференция "Научное приборостроение – современное состояние и перспективы развития". Сборник материалов*, 2016, pp. 183–185. Богородский печатник, ФГУП ЭЗАН Москва – Черноголовка.

Градов, 2017 – Градов О.В. Отчет к договору (соглашению) № 10406ГУ/2015 о выполнении НИР «Создание лабораторий на чипе для персонализированной клеточной диагностики» (промежуточный), 2017.

Градов и др., 2017 – Градов О.В., Скрынник А.А., Яблоков А.Г. Динамическая цейтраферная морфометрия грибов-микромитозов на чипе: фиксация морфогенеза *in situ* и кинетики хронологического, клонального старения дрожжей. *Современная микология в России*, 2017, 6: 92–94.

Градов и др., 2017 – Градов О.В., Зайцев Е.В., Скрынник А.А., Яблоков А.Г. Применение лазерной видеомиллисометрии в анализе голофитного (осмотрофного) питания дрожжей на чипе. // *Современная микология в России*, 2017, 6: 94–96.

Градов, Нотченко, 2012 – Градов О.В., Нотченко А.В. Картирование градиента в NIR-NDRI-термографии в CMOS-лабораториях на чипе. В: *Сб. трудов. II Межд. конф. Современные методы и средства исследований теплофизических свойств веществ*, 2012, pp. 245–246. НИУ ИТМО – ИХиБТ СПб.

Градов, Нотченко, 2013 – Градов О.В., Нотченко А.В. Принципы создания и эксплуатации DIY-лабораторий на чипе для автоматического мониторинга этологии лесных муравьев в сравнении с математической моделью. В: *Муравьи и защита леса. Мат. XIV Всероссийского мирмекологического симпозиума, Москва, 19-23 августа 2013 года*, pages 45–50. М.: Тов-во научных изданий КМК.

Градов, Нотченко, 2017 – Градов О.В., Нотченко А.В. Индикация стадий/фаз цитотомии путем картирования изофот спеклограмм и цифрового анализа бордантности. // *Биомедицинская инженерия и электроника*, 2017, 1(15): 106–110.

Градов, Орехов, 2014 – Градов О.В., Орехов Ф.К. О разработке компаративных лабораторий на чипе для анализа молочной продукции с автоматической калибровкой по спектрофотометрической температуре и кортежной хеометрической систематизацией аналитов. // *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*, 2014, (6): 45–63.

Градов, Панкратов, 2016 – Градов О.В., Панкратов С.К. Методы "радиоизотопной биоинформатики" для мультиспектрального секвенирования на активном чипе. В: *Сб. тезисов 4-й Всероссийской научно-практической конференции по геномному секвенированию (19 мая 2016 года)*, p. 22. ИБХ РАН.

Градов, Яблоков, 2014 – Градов О.В., Яблоков А.Г. К абстрактной феноменологической модели квалитметрирующего микрохирургического инструмента. // *Биотехносфера*, 2014, 33(3): 39–41.

Нотченко, Градов, 2011 – Нотченко А.В., Градов О.В. Лазерний топологічний спекл-аналізатор проліферативної та диференціаційної активності в культуральному морфогенезі. // *Морфологія*, 2011, 5(4): 10–19.

Нотченко, Градов, 2012 – Нотченко А.В., Градов О.В. Элементарные морфометрические лаборатории на чипе на основе гемоцитометрических камер с радиочастотной идентификацией культур и трансляцией спектрозонально-гистохимического мониторинга. // *Журнал радиоэлектроники*, 2012, (2).

Alexandrov et al., 2015 – Alexandrov, P., Notchenko, A., Gradova, M., and Gradov, O. (2015). Simultaneous in situ detection of the optical fluorescence, fluorescence recovery kinetics after photobleaching & membrane ion flux on the electrophysiological lab-on-a-chip. // *American Journal of Optics and Photonics*, 3(5):118–122.

Gradov, 2012 – Gradov O.V. (2012). Digital lab-on-a-chip as analog of soil chambers and Rossi-Cholodny slides. In *VII Int. Symp. CBAFFF (7-th Fr. Progr.)*, pp. 17–18.

Gradov, 2014 – Gradov O.V. (2014). Importance, the adjoint function for selfish gene transfer and kinetic models of DNA sequencing by capillary electrophoresis. B: *"Life of Genomes" [International Seminar]*, p. 14. Kazan.

Gradov, 2016 – Gradov O.V. (2016). Grammometric labs on a chip and synchronization of the on-chip isolated muscle fiber grammometry with the in situ tissue X-ray analysis and mems-assisted excitation time spectroscopy. In: *PhysTechBio-2016*, p. 68. NORTHERN BioPharmCluster MIPT.

Gradov, 2017 – Gradov O.V. (2017). Multi-functional microprobe lab-on-a-chip based on the active-pixel sensor with the position-sensitive cassette masks assembled from discrete converters of different biophysical and biochemical parameters into the optical response signals [invited paper]. // *International Journal of Modern Physics: Advances in Theory and Applications*, 2(1):23–28.

Gradov, Gradova, 2012 – Gradov O.V., Gradova M.A. (2012). Synchronization of photochemical processes and photoinduced self-organization in dispersed semiconductors under optical pumping. In *Abstract Book of the 3rd International Symposium "Molecular Photonics"*, p. 156.

Gradov, Gradova, 2015 – Gradov O.V., Gradova M.A. (2015). Reaction-diffusion optoelectronics based on dispersed semiconductors. // *Journal of Physics: Conference Series*, 643: 012072.

Gradov, Jablov, 2016 – Gradov O.V., Jablov A.G. (2016). Novel morphometrics-on-a-chip: CCD- or CMOS-lab-on-a-chip based on discrete converters of different physical and chemical parameters of histological samples into the optical signals with positional sensitivity for morphometry of non-optical patterns. // *Journal of Biomedical Technologies*, (2): 1–29.

Jablokov, Gradov, 2015 – Jablov A.G., Gradov O.V. (2015). Multiparametric qualimetric microsurgical scanning chip-lancet model: theoretical metrological and biomedical considerations. // *MicroMedicine*, 3(2): 31–35.

Notchenko, Gradov, 2013 – Notchenko, A.V., Gradov, O.V. (2013a). Elementary morphometric labs-on-a-chip based on hemocytometric chambers with radiofrequency culture identification and relay of spectrozonal histochemical monitoring. // *Visualization, Image Processing and Computation in Biomedicine*, 2(1): 1–27.

Oganessian et al., 2015 – Oganessian, V.A., Notchenko, A.V., Gradov, O.V. (2015). Multispectral topological laser speckle analyzers of proliferation and differentiation activity during morphogenesis based on tunable laser diodes and spectrometric fingerprinting of the cell cycle stages. // *Journal of Physical Chemistry & Biophysics*, 5(3): 75.

Orehov, Gradov, 2014 – Orehov F.K., Gradov O.V. (2014). Spectral and fluorescent detection of the DNA/XNA cyclic code decoding on the selectively stained microscopic samples. B: *"Life of Genomes" [International Seminar]*, page 16. Kazan.

Orehov, Gradov, 2016. – Orehov F.K., Gradov O.V. (2016). Comparative labs-on-a-chip for dairy product analysis with automatic calibration using spectrophotometric or colorimetric temperature and tuple chemometric analyte systematization. // *J Adv Dairy Res*, 4(2 (Suppl.): 24.

References

Aleksandrov, Gradov, 2014 – Aleksandrov P. L., Gradov O. V. (2014). Konventionnye patch-klamp-avtomaty s obratnoi svyaz'yu dlya mnogofaktornykh laboratorii na chipe s ispol'zovaniem interfeisov vychislitel'nykh mashin real'nogo vremeni [Conventional patch-clamp automata with feedback for multifactor laboratories on a chip with the use of real-time machine interfaces]. *Biotekhnosfera*, 3(33): 13–17.

[Gradov i dr., 2014](#) – *Gradov O., Notchenko A., Lin' V.* (2014). Etologo-entomologicheskie laboratorii na chipe – trassiruyushchie labirintnye mirmekodromy dlya monitoringa dinamiki kolonii v formikariyakh [Etogo-entomological laboratories on a chip – tracing labyrinth mymeodromes for monitoring the dynamics of colonies in formicaria]. *Prikladnaya entomologiya*, 5(1): 28–36.

[Gradov, 2015a](#) – *Gradov O.V.* (2015). Grammometricheskie laboratorii na chipe i sinkhronizatsiya grammometrii na chipe na izolirovannom myshechnom volokne s rentgenostrukturnym analizom tkani in situ i mems-oposredovannoi spektroskopiei vremen vobuzhdeniya [Gramometric laboratories on a chip and synchronization of gramometry on a chip on an isolated muscle fiber with X-ray structural analysis of tissue in situ and mems-mediated spectroscopy of excitation times]. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologii*, 22(3): 153–160.

[Gradov, 2015b](#) – *Gradov O.V.* (2015). Radiokhimicheskie mikroreaktory/laboratorii na chipe na osnove stsintillyatorov s raznym kvenching-faktorom i spetsificheskikh shifterov s otlichnymi spektral'nymi kharakteristikami pereizlucheniya [Radiochemical microreactors/laboratories on a chip based on scintillators with different quenching factors and specific scitters with excellent spectral characteristics of reradiation]. V: «Mat. VIII Vserossiiskoi konferentsii po radiokhimi RADIOKhIMIYA-2015», ss. 399–399. g. Zheleznogorsk, Rossiya.

[Gradov, 2016](#) – *Gradov O.V.* (2016). Radioavtograficheski-detektiruyushchii lokal'nyi patch-klamp kak metod onkotsitologicheskogo analiza [Radioautographically-detecting local patch-clamp as a method of oncocytological analysis]. *Evraziiskii onkologicheskii zhurnal*, 4(2): 637.

[Gradov, 2016b](#) – *Gradov O.V.* (2016). Mul'tiparametricheskie laboratorii na chipe dlya biokhimicheskikh i fiziko-khimicheskikh izmerenii s privyazkoi k koordinatam kartiruемого preparata [Multiparameter laboratories on a chip for biochemical and physico-chemical measurements with reference to the coordinates of the charted preparation]. Nauchno-prakticheskaya konferentsiya "Nauchnoe priborostroenie – sovremennoe sostoyanie i perspektivy razvitiya". Sbornik materialov, pp. 183–185. Bogorodskii pechatnik, FGUP EZAN Moskva – Chernogolovka.

[Gradov, 2017](#) – *Gradov O.V.* (2017). Otchet k dogovoru (soglasheniyu) № 10406GU/2015 o vypolnenii NIR «Sozдание laboratorii na chipe dlya personalizirovannoi kletochnoi diagnostiki» (promezhutochnyi) [Report to the agreement (agreement) No. 10406GU / 2015 on the implementation of the R & D "Creation of laboratories on a chip for personalized cellular diagnostics" (interim)].

[Gradov i dr., 2017](#) – *Gradov O.V., Skrynnik A.A., Yablokov A.G.* (2017). Dinamicheskaya tseitrafernaya morfometriya gribov-mikromitsetov na chipe: fiksatsiya morfogeneza in situ i kinetiki khronologicheskogo, klonal'nogo stareniya drozhzhei [Dynamic time-based morphometry of fungi-micromycetes on a chip: fixation of in situ morphogenesis and kinetics of chronological, clonal aging of yeast]. *Sovremennaya mikologiya v Rossii*, 6: 92–94.

[Gradov i dr., 2017](#) – *Gradov O.V., Zaitsev E.V., Skrynnik A.A., Yablokov A.G.* (2017). Primenenie lazernoi videomillisometrii v analize golofitnogo (osmotrofnogo) pitaniya drozhzhei na chipe [Application of laser video-symmetry in the analysis of the gland (survey) nutrition of yeast on a chip]. *Sovremennaya mikologiya v Rossii*, 6: 94–96.

[Gradov, Notchenko, 2012](#) – *Gradov O.V., Notchenko A.V.* (2012). Kartirovanie gradienta v NIR-HDRI-termografii v CMOS-laboratoriyakh na chipe [Gradient mapping in NIR-HDRI thermography in CMOS laboratories on a chip]. V: Sb. trudov. II Mezhd. konf. Sovremennye metody i sredstva issledovaniya teplofizicheskikh svoystv veshchestv, pp. 245–246. NIU ITMO – IKhiBT SPb.

[Gradov, Notchenko, 2013](#) – *Gradov O.V., Notchenko A.V.* (2013). Printsipy sozdaniya i ekspluatatsii DIY-laboratorii na chipe dlya avtomaticheskogo monitoringa etologii lesnykh murav'ev v sravnenii s matematicheskoi model'yu [Principles of creation and operation of DIY-laboratories on the chip for automatic monitoring of the ethology of forest ants in comparison with the mathematical model]. B: Murav'i i zashchita lesa. Mat. XIV Vserossiiskogo mirmekologicheskogo simpoziuma, Moskva, 19-23 avgusta 2013 goda, pages 45–50. M.: Tov-vo nauchnykh izdaniy KMK.

[Gradov, Notchenko, 2017](#) – *Gradov O.V., Notchenko A.V.* (2017). Indikatsiya stadii/faz tsitotomii putem kartirovaniya izofot speklogramm i tsifrovogo analiza bordantnosti [Indication of

stages/phases of cytometry by mapping isophotograms of specograms and digital analysis of bordance]. *Biomeditsinskaya inzheneriya i elektronika*, 1(15): 106–110.

[Gradov, Orekhov, 2014](#) – *Gradov O.V., Orekhov F.K.* (2014). O razrabotke komparativnykh laboratorii na chipe dlya analiza molochnoi produktsii s avtomaticheskoi kalibrovkoi po spektrofotometricheskoi temperature i kortezhnoi khemometricheskoi sistematzatsiei analitov [On the development of comparative laboratories on a chip for analysis of dairy products with automatic calibration at the spectrophotometric temperature and tertiary chemometric systematization of the analytes]. *Veterinariya, zootekhniya i biotekhnologiya*, (6): 45–63.

[Gradov, Pankratov, 2016](#) – *Gradov O.V., Pankratov S.K.* (2016). Metody "radioizotopnoi bioinformatiki" dlya mul'tispektral'nogo sekvenirovaniya na aktivnom chipe [Methods of "radioisotope bioinformatics" for multispectral sequencing on an active chip]. V: Sb. tezisov 4-i Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii po genomnomu sekvenirovaniyu (19 maya 2016 goda), p. 22. IBKh RAN.

[Gradov, Yablokov, 2014](#) – *Gradov O.V., Yablokov A.G.* (2014). K abstraktnoi fenomenologicheskoi modeli kvalimetrirovushchego mikrokhirurgicheskogo instrumenta [To the abstract phenomenological model of a qualimetric microsurgical instrument]. *Biotekhnosfera*, 33(3): 39–41.

[Notchenko, Gradov, 2011](#) – *Notchenko A.V., Gradov O.V.* (2011). Lazernii topologichnii spekl-analizator proliferativnoi ta diferentsiatsiinoi aktivnosti v kul'tural'nomu morfogenezi [Laser topologic speckle analyzer proliferative and differential activities in cultural morphogenesis]. *Morfologiya*, 5(4): 10–19.

[Notchenko, Gradov, 2012](#) – *Notchenko A.V., Gradov O.V.* (2012). Elementarnye morfo-metricheskie laboratorii na chipe na osnove gemotsitometricheskikh kamer s radiochastotnoi identifikatsiei kul'tur i translyatsiei spektrozonal'no-gistokhimicheskogo monitoring [Elementary morphometric laboratories on a chip based on hemocytometric chambers with radio frequency identification of cultures and translation of spectrozonal-histochemical monitoring]. *Zhurnal radioelektroniki*, (2).

[Alexandrov et al., 2015](#) – *Alexandrov, P., Notchenko, A., Gradova, M., and Gradov, O.* (2015). Simultaneous in situ detection of the optical fluorescence, fluorescence recovery kinetics after photobleaching & membrane ion flux on the electrophysiological lab-on-a-chip. *American Journal of Optics and Photonics*, 3(5):118–122.

[Gradov, 2012](#) – *Gradov O.V.* (2012). Digital lab-on-a-chip as analog of soil chambers and Rossi-Cholodny slides. In *VII Int. Symp. CBAFFF (7-th Fr. Progr.)*, pp. 17–18.

[Gradov, 2014](#) – *Gradov O.V.* (2014). Importance, the adjoint function for selfish gene transfer and kinetic models of DNA sequencing by capillary electrophoresis. B: *"Life of Genomes" [International Seminar]*, p. 14. Kazan.

[Gradov, 2016](#) – *Gradov O.V.* (2016). Grammometric labs on a chip and synchronization of the on-chip isolated muscle fiber grammometry with the in situ tissue X-ray analysis and mems-assisted excitation time spectroscopy. In: *PhysTechBio-2016*, p. 68. NORTHERN BioPharmCluster MIPT.

[Gradov, 2017](#) – *Gradov O.V.* (2017). Multi-functional microprobe lab-on-a-chip based on the active-pixel sensor with the position-sensitive cassette masks assembled from discrete converters of different biophysical and biochemical parameters into the optical response signals [invited paper]. *International Journal of Modern Physics: Advances in Theory and Applications*, 2(1):23–28.

[Gradov, Gradova, 2012](#) – *Gradov O.V., Gradova M.A.* (2012). Synchronization of photochemical processes and photoinduced self-organization in dispersed semiconductors under optical pumping. In *Abstract Book of the 3rd International Symposium "Molecular Photonics"*, p. 156.

[Gradov, Gradova, 2015](#) – *Gradov O.V., Gradova M.A.* (2015). Reaction-diffusion optoelectronics based on dispersed semiconductors. *Journal of Physics: Conference Series*, 643: 012072.

[Gradov, Jablovkov, 2016](#) – *Gradov O.V., Jablovkov A.G.* (2016). Novel morphometrics-on-a-chip: CCD- or CMOS-lab-on-a-chip based on discrete converters of different physical and chemical parameters of histological samples into the optical signals with positional sensitivity for morphometry of non-optical patterns. *Journal of Biomedical Technologies*, (2): 1–29.

Jablokov, Gradov, 2015 – Jablokov A.G., Gradov O.V. (2015). Multiparametric qualimetric microsurgical scanning chip-lancet model: theoretical metrological and biomedical considerations. *MicroMedicine*, 3(2): 31–35.

Notchenko, Gradov, 2013 – Notchenko, A.V., Gradov, O.V. (2013a). Elementary morphometric labs-on-a-chip based on hemocytometric chambers with radiofrequency culture identification and relay of spectrozonal histochemical monitoring. *Visualization, Image Processing and Computation in Biomedicine*, 2(1): 1–27.

Oganessian et al., 2015 – Oganessian, V.A., Notchenko, A.V., Gradov, O.V. (2015). Multispectral topological laser speckle analyzers of proliferation and differentiation activity during morphogenesis based on tunable laser diodes and spectrometric fingerprinting of the cell cycle stages. *Journal of Physical Chemistry & Biophysics*, 5(3): 75.

Orehov, Gradov, 2014 – Orehov F.K., Gradov O.V. (2014). Spectral and fluorescent detection of the DNA/XNA cyclic code decoding on the selectively stained microscopic samples. В: "Life of Genomes" [International Seminar], page 16. Kazan.

Orehov, Gradov, 2016. – Orehov F.K., Gradov O.V. (2016). Comparative labs-on-a-chip for dairy product analysis with automatic calibration using spectrophotometric or colorimetric temperature and tuple chemometric analyte systematization. *J Adv Dairy Res*, 4(2 (Suppl.): 24.

УДК 681.785 + 539.12 + 537-534.3

Основные оптические и корпускулярно-физические принципы для разработки лабораторий на чипе с множественным или многоуровневым преобразованием неоптических физических сигналов в оптический аналитический сигнал (OAS) для целевой кастомизации чипа в экспериментальной мультипараметрической биомедицинской инженерии

О.В. Градов ^{а,*}

^а Институт энергетических проблем химической физики РАН им. В.Л. Тальрозе, Российская Федерация

Аннотация. Описывается элементарная упрощенная оптическая теория регистрации оптического сигнала лабораториями на чипе с оптическим (КМОП- или ПЗС-) детектором. Указывается на различие между контактными активными и пассивными чипами как чипами с оптически различными возможными схемами регистрации. Для пассивных чипов рассматривается также возможность внедрения их в сэндвич с фотоэлектронными умножителями (создание лаборатории на фотоэлектронном умножителе – аналогично предложенной ранее технике лаборатории на радиолампах некоторых типов, в которых при модифицировании возможно интегрировать стеклянную поверхность с микрофлюидным чипом. Указывается также на возможность мультипараметрической контрастиметрии на чипе с системой преобразования произвольных физических сигналов в оптический сигнал; в итоге внедрения технологии контрастиметрии оптического сигнала, являющегося результатом преобразования сигнала неоптического в оптический, формируется возможность измерения контраста, градиента и колокализации распределений первичных преобразованных переменных на плоскости (2D) с пространственным разрешением. Предложен фотоинжекционный или фотоэмиссионный метод оценки параметров, относящихся к первичному аналитическому сигналу, для с ФЭУ совмещенных лабораторий на чипе. Для простейшей «граничной калибровки» оптического КМОП-чипа или ПЗС-чипа предложено использовать уровень или баланс белого и уровень или баланс черного; при пересчете в рамках единой системы СОВАС этот принцип может быть, также как и контрастиметрия, применен для оценивания первичного неоптического сигнала, преобразованного в оптический. Также указан энергетический метод калибровки,

* Корреспондирующий автор
Адрес электронной почты: gradov@chph.ras.ru (О.В. Градов)

совмещающий в себе калибровку по фотоэлементу и термоэлементу (измеряемая при этом характеристика – удельная термодинамическая облученность). Простейшее моделирование прохождения излучения на чипы через биологический объект, находящийся на чипе, было проведено с использованием программного пакета Geant4 (разработка ЦЕРН) в ОС Scientific Linux. Предложена следующая топология эксперимента на чипе: сэндвич-система чипа из генератора частиц (лазерный диод, LED), излучающего фотоны из точки («World initStep»), клетки с цитоплазмой («World») и осмотической вакуолью («Tank»), через которую (как часть оптического тракта) осуществляется проекция потока фотонов на детектор ПЗС- или КМОП- чипа, рассматриваемый как мишень («OutOfWorld») и являющийся подложкой по отношению к клеточному препарату. Указывается на возможность регистрации при данной топологии эксперимента/геометрии тракта поляризационных характеристик. Вследствие возможности и исходной предназначенности использования методов Монте-Карло в Geant4 для физики элементарных частиц, данная модель экстраполируема на случай лаборатории на чипе со сцинтилляционным первичным преобразователем (или без такового: принцип работы такого чипа основан на SEU – Single Event Upsets – при взаимодействии одиночных частиц с пикселями). Указывается, что в качестве одних из источников визуализируемых дескрипторов (как оптического сигнала, так и первичных неоптических сигналов) можно использовать преобразования Хаара и Фурье регистрограммы построчного сканирования с ПЗС- или КМОП- матрицы.

Ключевые слова: lab-on-a-чип, CCD, CMOS, преобразователи сигналов, стохастические модели.