



(12) **CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. cerere: **a 2022 00208**

(22) Data de depozit: **20/04/2022**

(41) Data publicării cererii:  
**30/08/2022** BOPI nr. **8/2022**

(71) Solicitant:  
• **UNIVERSITATEA POLITEHNICA DIN  
BUCUREȘTI, SPLAIUL INDEPENDENȚEI  
NR.313, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:  
• **VOICU ȘTEFAN IOAN, STR. BODEȘTI  
NR.9, BL.29A, SC.B, ET.4, AP.64,  
SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **PALLA-PAPAVLU ALEXANDRA,  
STR.SABINELOR, NR.66-68, SC.A, ET.3,  
AP.20, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **ANTONIAȘ VASILE IULIAN, ALEEA  
MARIUS EMANOIL BUTEICA NR. 2, BL. 68,  
SC. 2, ET.2, AP. 64, SECTOR 3,  
BUCUREȘTI, B, RO;**

• **MICULESCU FLORIN,  
ALEEA MASA TĂCERII NR. 2, BL. A, SC. 2,  
ET. 3, AP. 55, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,  
RO;**  
• **SEMENESCU AUGUSTIN,  
ȘOS.BUCUREȘTI - TÎRGOVIȘTE 22T, A14,  
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **COSTOIU MIHNEA COSMIN,  
STR.LONDRA NR.18, ET.4, AP.24,  
BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **MATEȘ ILEANA MARIANA,  
STR.ECONOMUL CEZARESCU, NR.52,  
BL.3, AP.3401, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,  
RO;**  
• **PRISECARU DELIA ALEXANDRA,  
BD.ION MIHALACHE, NR.47, BL.16A, SC.A,  
ET.6, AP.19, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B,  
RO**

(54) **BIOSENZOR CU UNDE ACUSTICE DE SUPRAFAȚĂ  
PE BAZĂ DE GRAFENĂ FUNCȚIONALIZATĂ CU ANTICORP  
MONOCLONAL ANTI- $\alpha$ -FETOPROTEINĂ PENTRU  
DIAGNOSTICUL CANCERULUI HEPATIC**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unui biosenzor pentru detecția markerului tumoral  $\alpha$ -feto-proteină (AFP) utilizat pentru diagnosticarea rapidă a cancerului hepatic. Procedeu, conform invenției, constă în etapele: sinteză a grafenei funcționalizată cu grupări amino cu anticorp monoclonal anti- $\alpha$ -fetoproteină și depunerea controlată pe suprafața unui senzor cu unde acustice de suprafață (SAW) prin transfer direct indus de un fascicul laser cu KrF în UV la fluența de

100 mJ/cmp al unui pixel subțire de grafenă funcționalizată cu anticorp anti- AFP pe electrozii de aur, rezultând un biosenzor pentru determinarea cantităților mici de AFP din sânge și monitorizarea continuă a concentrațiilor AFP pentru diagnosticarea rapidă a cancerului hepatic.

Revendicări: 3  
Figuri: 3

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI	
Cerere de brevet de invenție	
Nr. ....	a 2022 00 268
Data depozit .....	2.0 -04- 2022

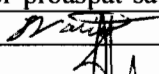
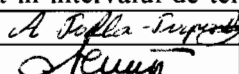

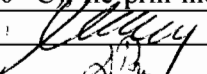
33

**BIOSENZOR CU UNDE ACUSTICE DE SUPRAFAȚA PE BAZA DE GRAFENĂ FUNCTIONALIZATĂ CU ANTICORP MONOCLONAL ANTI-ALFA-FETOPROTEINĂ, PENTRU DIAGNOSTICUL CANCERULUI HEPATIC**

VOICU Ioan Stefan, PALLA-PAPAVLU Alexandra, ANTONIAC Vasile Iulian, MICULESCU Florin, SEMENESCU Augustin, COSTOIU Mihnea Cosmin, MATES Ileana-Mariana, PRISECARU Delia -Alexandra

**Invenția se referă la** un biosenzor pentru diagnosticarea rapidă și facilă a cancerului hepatic prin determinarea calitativă și cantitativă a markerului tumoral – alfa-fetoproteină (AFP) direct din sânge (fără a fi necesară separarea serului). Partea senzitivă a sensorului este reprezentată de grafena funcționalizată cu anticorp monoclonal anti-alfa-fetoproteină care este depusă controlat pe suprafața sensorului cu unde acustice de suprafață (SAW) prin tehnica transfer direct indus de laser (LIFT). Procedul de realizare a sensorului pentru detecția AFP, conform invenției, constă în aceea că se folosește tehnica transferului direct indus de laser, în aer, pentru transferul unui pixel lichid cu grafena funcționalizată cu anticorp monoclonal anti-alfa-fetoproteină pe electrozii de aur în urma iradierii cu fasciculul laser cu KrF în UV la fluența de 100 mJ/cm<sup>2</sup>.

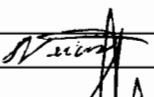
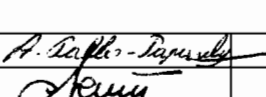

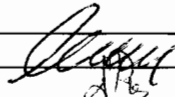
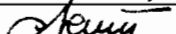


**Este cunoscut** faptul că AFP este o glicoproteină omoloagă albuminei, sintetizată în cursul perioadei fetale în tractul gastrointestinal, ficat și sacul vitelin. În funcție de vârsta gestațională, AFP ajunge pe cale transplacentară în circulația maternă, atingând un maxim de concentrație în săptămânile 32-36 de sarcină. După naștere, nivelul seric de AFP scade progresiv, dar cu fluctuații mari, astfel că valori similare cu ale adultului normal sunt atinse abia după aproximativ 10 luni. La adult se întâlnesc concentrații crescute de AFP, tranzitorii sau persistente, în afecțiuni hepatice benigne și în procese de regenerare hepatică; nivelurile foarte crescute se asociază cu dezvoltarea carcinomului primitiv hepatic și cu tumori germinative de origine testiculară, ovariană sau extragonadală. Recomandările pentru determinarea cantitativă a AFP ca marker tumoral sunt în special pentru suspiciunea de carcinom hepatocelular și, secundar, pentru tumori germinative non-seminomatoase de origine testiculară, ovariană sau extragonadală și pentru monitorizarea tratamentului la pacienții cu tumori germinative sau carcinom hepatocelular. Indicațiile relative cuprind monitorizarea pacienților cu ciroză hepatică pentru depistarea precoce a cancerului hepatic. În prezent dozarea cantitativă se efectuează din minim 0.5 ml ser (separat prin centrifugare din proba de sânge venos, de preferat pe ser proaspăt sau păstrat în intervalul de temperatura 2-8 °C sau -20 °C), fie prin metodă

			
---	---	---	---

imunochimică cu detecție prin electrochemiluminescență (ECLIA) sau metoda imunochimică cu detecție prin chemiluminescență. Limita de detecție a metodelor utilizate este 0.2 UI/ml (0.24 mg/ml). Kit-urile utilizate în prezent pot interfera cu alte componente din ser, dând rezultate neconcludente, după cum urmează: 1. Tratamentul cu biotină în doze mari (> 5 mg/zi) – de aceea se recomandă ca recoltarea de sânge să se facă după minim 8 ore de la ultima administrare; 2. Titrurile foarte crescute de anticorpi anti-streptavidină și anti-ruteniu; 3. Anticorpii monoclonali proveniți de la șoarece administrați la unii pacienți în scop diagnostic sau terapeutic.

**Problema pe care o rezolvă invenția** constă în obținerea unui biosenzor pentru detecția de cantități mici de AFP printr-o metoda facilă și ieftină în comparație cu metodele utilizate la ora actuală pentru detecția acestei proteine. De asemenea, invenția va permite monitorizarea concentrației acestei proteine și în alte medii, decât cel spitalicesc, putând conduce la monitorizarea continuă a concentrațiilor acestei proteine cu efecte majore în diagnosticarea cancerului. Partea senzitivă a senzorului este reprezentată de grafena funcționalizată cu anticorp monoclonal anti-alfa-fetoproteină care este depusă pe suprafața senzorului cu unde acustice de suprafață prin tehnica transfer direct indus de laser (LIFT). Procedul de realizare a senzorului pentru detecția AFP, conform invenției, constă în aceea că se folosește tehnica transferului direct indus de laser, în aer, pentru transferul unui pixel lichid cu grafena funcționalizată cu anticorp monoclonal anti-alfa-fetoproteină pe electrozii de aur în urma iradierii cu fasciculul laser cu KrF în UV la fluența de 100 mJ/cm<sup>2</sup>. Tehnica LIFT permite depunerea unor volume mici (femtolitri) de material de pe un substrat donor (placa de cuarț acoperit cu un film de 20 nm de titan) pe un substrat de primire (receptor). Pe substratul donor este depus un film lichid care conține un amestec de soluție cu grafene (funcționalizate sau/si nefuncționalizate) și glicerol (20% v/v). Grosimea filmului lichid este de aproximativ 10 μm, determinată prin măsurarea volumului dispersat. În timpul procesului de LIFT, un fascicul laser este focalizat la interfața dintre substratul donor și filmul lichid ce conține amestecul de soluție cu grafene și glicerol. Fiecare puls laser determină o creștere rapidă a presiunii la interfața substrat donor-film lichid ce determină formarea unui jet ce ajunge pe substratul receptor. Donorul și receptorul sunt plasați paralel la o distanță de 100 μm. Pentru a îmbunătăți eficiența procesului și pentru a proteja materialul ce trebuie transferat a fost adăugat un strat metalic (titan cu o grosime de 20 nm) intermediar. Soluția de grafene a fost depusă sub formă de film lichid prin tehnica blade coating.

**Procedul de realizarea** a senzorului pentru detecția AFP, conform invenției, constă în:

-Realizarea de soluție de grafenă dispersată prin ultrasonare (5% raportat la solvent), grafena fiind funcționalizată cu grupări amino;

-Funcționalizarea grafenei cu grupări amino immobilizate pe suprafață cu glutaraldehidă (raport masic grafenă : glutaraldehidă = 2 : 1), în același solvent (DMF), prin agitare mecanică timp de 4 ore la 600 rpm, la o temperatura de 10 °C;

-Filtrarea grafenei funcționalizate în vederea izolării acesteia pe membrane din Nylon și pentru purificarea de urmele de glutaraldehidă nereacționată;

-Spălarea grafenei cu apă deionizată pe hârtie de filtru – 5 spălări succesive;

-Prepararea unei dispersii de grafenă în apă (concentrație 1%) prin ultrasonare;

-Adăugarea de anticorp monoclonal anti-alfa-fetoproteină (5% masic față de grafenă) și menținerea la o temperatura de 5 °C timp de 72 de ore sub agitare (200 rpm);

-Filtrarea grafenei funcționalizate în vederea purificării de urmele de glutaraldehidă nereacționată;

-Fabricarea de filme subțiri donoare in stare lichida ce conțin grafena funcționalizată si glicerol ce împiedica uscarea prin tehnica centrifugării, cu grosimi de 10 μm. Ca substrat se folosește o placă de cuarț acoperita in prealabil cu un strat de titan de 20 nm.

-Pregătirea structurilor de cuarț (receptoare) cu unde acustice de suprafață, prin mascarea electrozilor cu parafină;

-Tratarea suprafeței de cuarț cu hexametildisilazan prin retroîmprăștiere la o viteză de rotație de 2000 rpm;

-Iradierarea filmului lichid cu grafene functionalizate cu un fascicul laser provenind de la un laser cu KrF ce funcționează la lungimea de undă de 248 nm si are 20 ns durata pulsului.


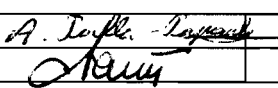
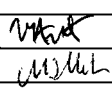

-Pentru realizarea pixelilor ce acoperă electrozii de aur a fost folosită o fluență laser de 100 mJ/cm<sup>2</sup>.

-În timpul realizării transferului laser, atât placa de cuarț cu filmul lichid ce conține grafene functionalizate cât și electrozii de aur au fost menținute în aer.

-Placa de cuarț cu filmul lichid ce conține grafene functionalizate cât și electrozii de aur sunt așezate pe o masa de translație xyz, paralel și la o distanță de 100 μm una de celalaltă.

-Obținerea unui film de grafenă funcționalizată cu anticorp monoclonal anti-alfa-fetoproteina pe suprafața biosenzorului, suprafața ce a fost tratată in prealabil cu hexametildisiloxan prin spinning la 4000 rpm, dintr-un volum de soluție de 5 ml;

-Îndepărtarea protecției de parafină de pe electrozi.

			
---	---	---	---

**Invenția prezintă următoarele avantaje:**


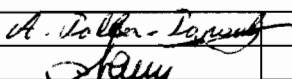

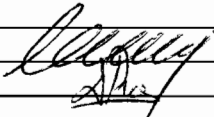
- procesul de obținere a senzorilor este non toxic, rapid si cu costuri de producție reduse,
- procesul de transfer indus de laser oferă o rezoluție spațială ridicată și permite controlul asupra morfologiei și chimiei grafenelor funcționalizate,
- biosenzorii realizați prin tehnica de transfer indus de laser pot fi folosiți pentru detecția proteinei AFP și în alte medii decât cel spitalicesc,
- biosenzorii realizați prin tehnica de transfer laser pot monitoriza continuu diferite concentrații de proteina AFP.

**În continuare este prezentat un exemplu de biosenzor cu unde acustice de suprafață acoperit prin tehnica de transfer indus de laser cu grafena funcționalizată cu anticorp monoclonal de AFP, conform invenției:**

- Fig. 1, schema biosenzorului cu material activ grafena funcționalizată cu anticorp monoclonal anti-alfa-fetoproteină care este depusă pe suprafața biosenzorului cu unde acustice de suprafață (SAW) prin transfer direct indus de laser (LIFT);
- Fig. 2, imagine obținută cu microscopul electronic cu baleiaj a unui biosenzor cu unde acustice de suprafață acoperit cu material activ grafena funcționalizată cu anticorp monoclonal anti-alfa-fetoproteină care este depusă pe suprafața biosenzorului prin transfer direct indus de laser la fluența laser de  $100 \text{ mJ/cm}^2$ ;
- Fig. 3, grafic ce reprezintă frecvența de răspuns a unui biosenzor cu unde acustice de suprafață acoperit cu material activ grafena funcționalizată cu anticorp monoclonal anti-alfa-fetoproteină care este depusă pe suprafața biosenzorului prin transfer direct indus de laser.

Referitor la Fig. 1, biosenzorii cu unde acustice de suprafață acoperiți cu material activ grafena funcționalizată cu anticorp monoclonal anti-alfa-fetoproteină sunt alcătuiți din elementele prezentate în continuare:

- (1) Placa de cuarț cu grosimea de  $500 \mu\text{m}$  pe care au fost depuși în prealabil electrozi de Au (2) cu o grosime de  $100 \text{ nm}$ . Suprafața de cuarț a fost tratată cu hexametildisilazan prin retroîmprăștiere la o viteză de rotație de  $2000 \text{ rpm}$ , și electrozii au fost mascați cu un strat de  $20 \text{ nm}$  de parafină;
- Prin tehnica transfer indus cu laserul a fost depus un film de grafenă funcționalizată cu anticorp monoclonal anti-alfa-fetoproteina (3) pe suprafața biosenzorului;

			
---	---	---	---

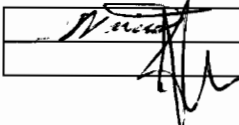
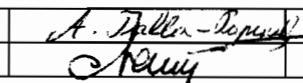
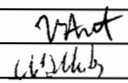
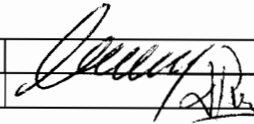
- Acoperirea senzitiva (4), alcatuita din grafena (5) functionalizata cu anticorp monoclonal pentru alfa-fetoproteina (6)

Referitor la Fig. 2, evaluarea morfologiei grafenelor funcționalizate depuse prin tehnica LIFT pe suprafața unui biosenzor cu unde acustice de suprafață a fost realizată cu un microscop JSM-531 (FEI Inspect S). Probele au fost acoperite cu 10 nm Au înainte de realizarea analizelor pentru a obține conductivitate electrică. Se observa o acoperire completă și uniformă a suprafeței biosenzorilor cu unde acustice de suprafață pentru transferurile LIFT la fluanta laser de  $100 \text{ mJ/cm}^2$ , unde foile de oxid grafena au margini regulate și nu prezintă modificări morfologice în urma transferului laser.

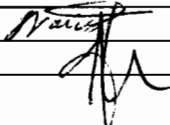
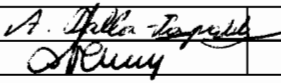
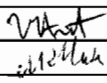
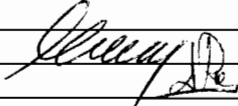
Referitor la Fig. 3, confirmarea funcționalității biosenzorului cu unde acustice de suprafață se realizează prin înregistrarea parametrului  $S_{21}$  folosind un Network Analyzer. Biosenzorul funcționează la o frecvență aproximativă de 405.4 MHz. Dimensiunea cavității este de 2610  $\mu\text{m}$ , lungimea de undă de 8  $\mu\text{m}$ , iar traductorii 800  $\mu\text{m}$ .

#### Bibliografie:

- [1] R. Ravina , Hari Mohan , Paramjeet Singh Gill , Ashok Kumar, Hemagglutinin gene based biosensor for early detection of swine flu (H1N1) infection in human, International Journal of Biological Macromolecules 130 (2019) 720–726.
- [2] Mohsen Shariati , Mohammad Ghorbani , Pezhman Sasanpour , Ali Karimizefreh , An ultrasensitive label free human papilloma virus DNA biosensor using gold nanotubes based on nanoporous polycarbonate in electrical alignment, Analytica Chimica Acta 1048 (2019) 31e41
- [3] Waqas Saleem, Carlos Salinas, Brian Watkins , Gavin Garvey, Anjal C .Sharma , Ritwik Ghosh Antibody functionalized graphene biosensor for label-free electrochemical immunosensing of fibrinogen, as an indicator of trauma induced coagulopathy, Biosensors and Bioelectronics 86 (2016) 522–52
- [4] Xiuli Niu , Wu Yang, Hao Guo, Jie Ren , Jinzhang Gao , Highly sensitive and selective dopamine biosensor based on 3,4,9,10-perylene tetracarboxylic acid functionalized graphene sheets/multi-wall carbon nanotubes/ionic liquid composite film modified electrode, Biosensors and Bioelectronics Volume 41, 15 March 2013, Pages 225-231
- [5] Li Ruiyi , Cui Fangchao, Zhu Haiyan, Sun Xiulan, Li Zaijun, Electrochemical sensor for detection of cancer cell based on folic acid and octadecylamine-functionalized graphene aerogel microspheres, Biosensors and Bioelectronics Volume 119, 15 November 2018, Pages 156-162

			
---	---	---	---

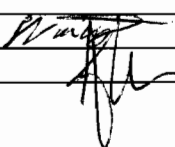
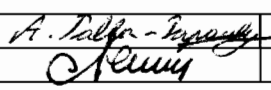
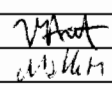
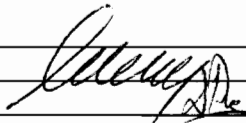
- [6] Ling Wang , Ran Yang , Jianjun Li ,Lingbo Qu, Peter de B.Harrington, A highly selective and sensitive electrochemical sensor for tryptophan based on the excellent surface adsorption and electrochemical properties of PSS functionalized graphene, Talanta Volume 196, 1 May 2019, Pages 309-316
- [7] Revanasiddappa Manjunatha, Gurukar Shivappa Suresh, Jose Savio Melo, Stanislaus F.D'Souza, Thimmappa Venkatarangaiah Venkatesha, An amperometric bienzymatic cholesterol biosensor based on functionalized graphene modified electrode and its electrocatalytic activity towards total cholesterol determination, Talanta Volume 99, 15 September 2012, Pages 302-309
- [8] M. Ionita, G.M. Vlasceanu, A.Z. Watzlawek, S.I. Voicu\*, J.S. Burns, H. Iovu, Graphene and functionalized graphene: Extraordinary prospects for nanobiocomposite materials, Composites Part B, 121, 34-57, 2017.
- [9] A. Muhulet, F. Miculescu, S.I. Voicu\*, F. Schütt, V.K. Thakur, Y.K. Mishra, Fundamentals and Scopes of Doped Carbon Nanotubes Towards Energy and Biosensing Applications, Materials Today Energy 9 (2018) 154-186.
- [10] S. Sava, L. Iarca, C. Trisca-Rusu, A.C. Nechifor, S.I. Voicu, G. Nechifor, New method for tio2 covalent-ionic functionalization with different molecules for induced properties, Proceedings of International Semiconductors Conference (CAS), 2010, pg. 321-324, ISBN: 978-1-4244-5783-0, DOI: 10.1109/SMICND.2010.5650685.
- [11] M.S. Corobea, M. Stoenescu, M. Miculescu, V. Raditoiu, R.C. Fierascu, I. Sirbu, Z. Vuluga, S.I. Voicu\*, Titanium functionalizing and derivatizing for implantable materials osseointegration properties enhancing, Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures, 2014, 9(4), 1339-1347.
- [12] M.S. Corobea, M.G. Albu, R. Ion, A. Cimpean, F. Miculescu, I.V. Antoniac, V. Raditoiu, I. Sirbu, M. Stoenescu, S.I. Voicu\*, M.V. Ghica, Advanced modification of titanium surface with collagen and doxycycline, a new approach in dental implants, Journal of Adhesion Science and Technology, 2015, 29(23), 2537-2550.
- [13] B.C. Serban, C. Cobianu, M. Bercu, N. Varachiu, M. Mihaila, C. Bostan, S.I. Voicu, Matrix nanocomposite containing aminocarbon nanotubes for carbon dioxide sensor detection, Patent Assignee: Honeywell International Inc., Morristown NJ 07962 (US), US Patent Office, US 7,913,541 B2.

			
---	---	---	---

[14] B.C. Serban, S.I. Voicu, S.D. Costea, C. Cobianu, Matrix nanocomposite sensing film for SAW/BAW based hydrogen sulphide sensor and method for making same, Patent Assignee: Honeywell International Inc., Morristown NJ 07962 (US), US Patent Office, US 7,695,993 B2.

[15] B.C. Serban, V.G. Dumitru, C. Cobianu, S.D. Costea, N. Varachiu, S.I. Voicu, Methods for use of a sensitive layer for hydrogen sulphide detection with SAW/BAW devices, Patent Assignee: Honeywell International Inc., Morristown NJ 07962 (US), US Patent Office, US 7,867,552 B2.

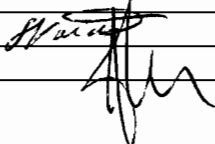
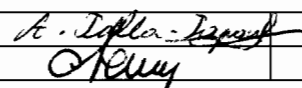
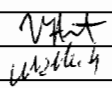

[16] B. Serban, M. Bercu, S. Voicu, M. Mihaila, G. Nechifor, C. Cobianu, Calixarene-Doped Polyaniline for Applications in Sensing, Proceedings of International Semiconductors Conference (CAS), 2006, IEEE catalog number 06TH8867, pg. 257-260, ISBN: 1-4244-0109-7, DOI: 10.1109/SMICND.2006.283991.

			
---	---	---	---



**REVENDICĂRI**

1. **Biosenzor pentru detecția alfa-fetoproteinei**, caracterizat prin aceea că este constituit din grafena funcționalizată cu anticorp monoclonal pentru AFP, detecția bazându-se pe interacțiunea dintre anticorpul monoclonal de AFP și AFP, schimbarea masei totale a matricii senzitive și detecția proteinei de interes.
2. **Procedeu de sinteza al grafenei funcționalizate cu anticorp monoclonal pentru detecția AFP** de la revendicarea 1, care urmează pașii: a) Realizarea de soluție de grafenă dispersată prin ultrasonare (5% raportat la solvent), grafena fiind funcționalizată cu grupări amino; b) Funcționalizarea grafenei cu grupări amino imobilizate pe suprafață cu glutaraldehidă (raport masic grafenă : glutaraldehidă = 2 : 1), în același solvent (DMF), prin agitare mecanică timp de 4 ore la 600 rpm, la o temperatură de 10 °C; c) Filtrarea grafenei funcționalizate în vederea izolării acesteia pe membrane din Nylon și pentru purificarea de urmele de glutaraldehidă nereacționată; d) Spălarea grafenei cu apă deionizată pe hârtie de filtru – 5 spălări succesive; e) Prepararea unei dispersii de grafenă în apă (concentrație 1%) prin ultrasonare; f) Adăugarea de anticorp monoclonal anti-alfa-fetoproteină (5% masic față de grafenă) și menținerea la o temperatură de 5 °C timp de 72 de ore sub agitare (200 rpm); g) Filtrarea grafenei funcționalizate în vederea purificării de urmele de glutaraldehidă nereacționată.
3. **Procedeu de acoperire a biosenzorului cu grafene funcționalizate cu anticorp monoclonal pentru detecția AFP** de la revendicarea 1 constă în: a) Iradierea filmului lichid cu grafene funcționalizate cu un fascicul laser provenind de la un laser cu KrF ce funcționează la lungimea de undă de 248 nm și are 20 ns durata pulsului; b) folosirea unei fluente laser de 100 mJ/cm<sup>2</sup>; c) în timpul realizării transferului laser, atât placa de cuarț cu filmul lichid ce conține grafene funcționalizate cât și electrozii de aur sunt menținuti la presiune atmosferică, la temperatura camerei; d) placa de cuarț cu filmul lichid ce conține grafene funcționalizate cât și electrozii de aur sunt așezate pe o masă de translație xyz, paralel și la o distanță de 100 μm una de cealaltă; e) obținerea unui film de grafenă funcționalizată cu anticorp monoclonal anti-alfa-fetoproteina pe suprafața biosenzorului.

			
---	---	---	---

FIGURI

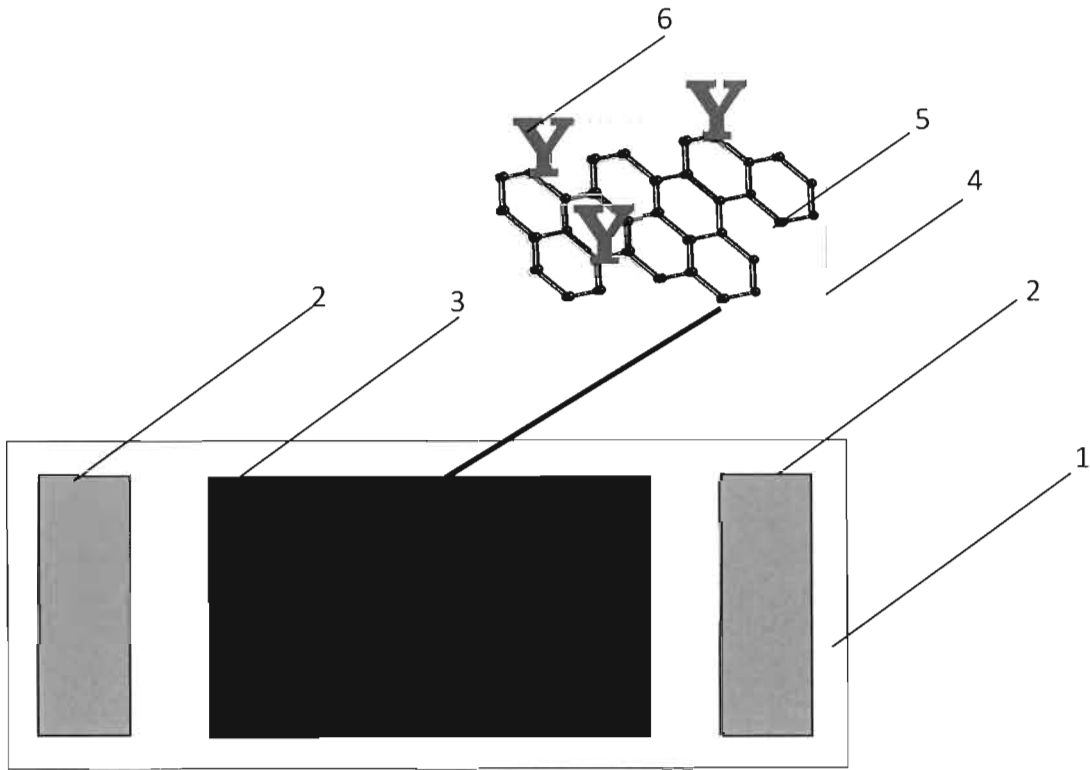


Fig. 1

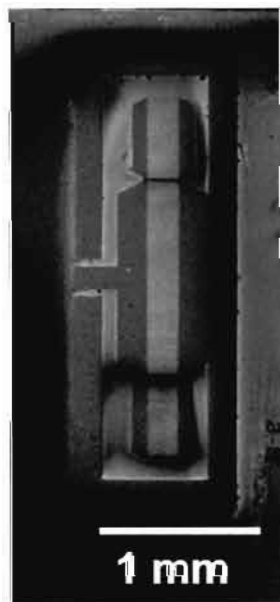


Fig. 2

<i>Wolfgang</i>	<i>A. Toller, Leipzig</i>	<i>Wolfgang</i>	<i>Wolfgang</i>
<i>[Signature]</i>	<i>[Signature]</i>	<i>[Signature]</i>	<i>[Signature]</i>

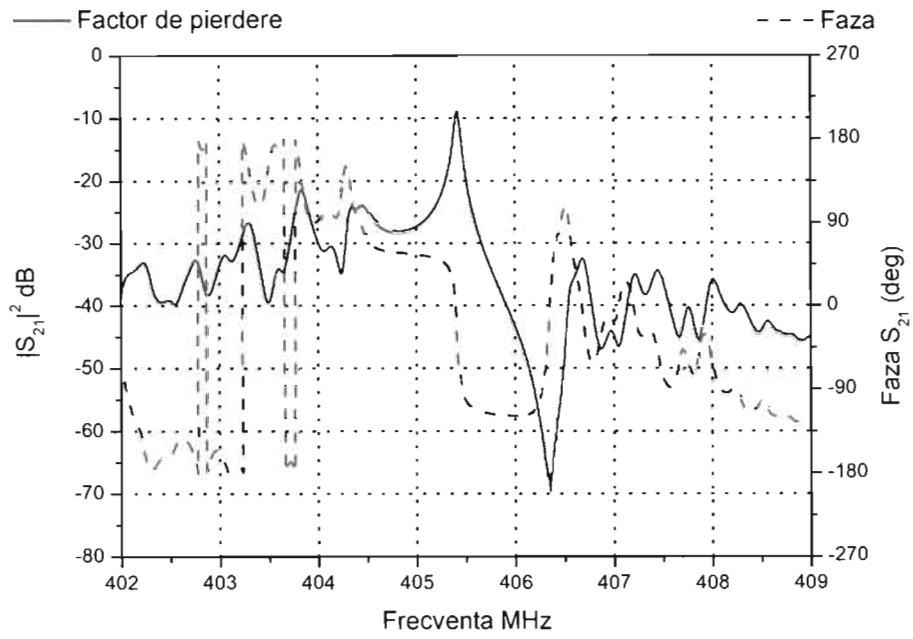


Fig. 3

<i>[Signature]</i>	<i>A. Tofan-Sepas</i>	<i>V. Ant</i>	<i>[Signature]</i>
	<i>[Signature]</i>	<i>[Signature]</i>	