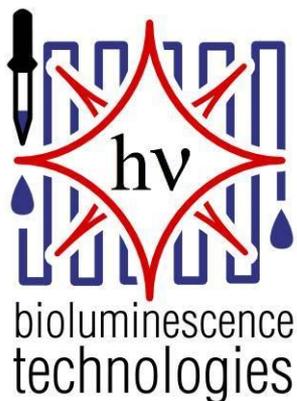




СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
SIBERIAN FEDERAL UNIVERSITY [www.sfu-kras.ru](http://www.sfu-kras.ru)



Институт  
фундаментальной  
биологии и биотехнологии



## Микрофлюидная платформа для билюминесценции. Портативный билюминометр.

Аспиранты

**Якимов А.С.  
Денисов И.А.**

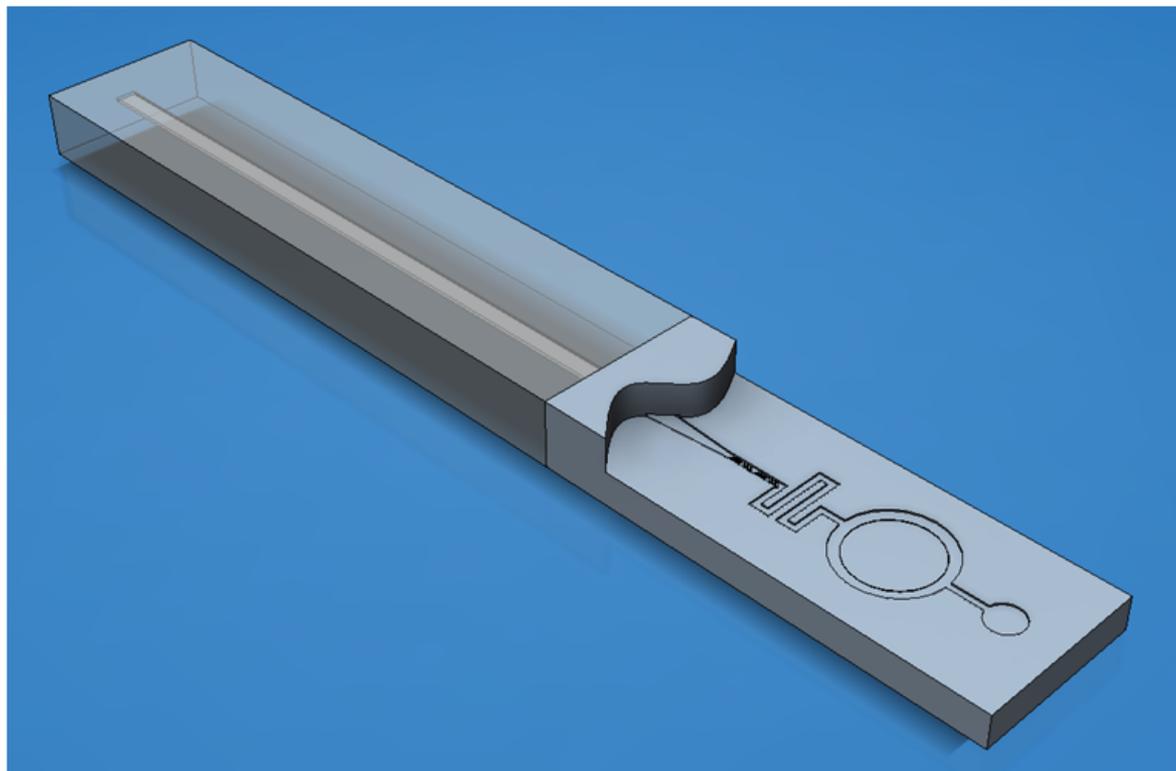
Руководитель, д.ф.-м.н.

**Белобров П.И.**

Красноярск 2013

# Микрофлюидная платформа для билюминесценции

Якимов А.С..



# Система Полного Анализа Total Analysis System

**TAS (СПА)** — это *интегрированная аналитическая система*, преобразующая **химический** сигнал или свойство в **оптический** или электрохимический сигнал (*1-й переход*), которые преобразуются в **электрические** сигналы (*2-й переход*).

[A. Manz]

**TAS = биосенсор + биолюминометр**

# Уменьшение TAS → mTAS

- Мобильность, износостойкость;
- **Высокая чувствительность;**
- Снижение расходов реагентов на тест;
- Низкое энергопотребление;
- **Короткое время получения результатов;**
- Меньшее потребление пространства в лаборатории;
- Дешевое серийное производство.

## Кроме того появляются новые эффекты:

- Ламинарное перемещение веществ;
- **Управляемая диффузия;**
- Преобладание сил поверхностного натяжения над гравитационными;
- Высокоскоростная последовательная обработка;
- **Возможность распараллелить процесс** (до  $10^6$  параллельных измерений).

# Миниатюризованные Системы Полного Анализа

МСПА (mTAS)

=

*лаборатория на чипе (лабочип, **lab-on-a-chip**)*

— это канализированное планарное микрофлюидное устройство, на котором или в котором совершается значительное число химических процессов на пути от реагентов к продукту или от пробы к анализу.

*[Ted Harrison]*

# Микрофлюидная платформа

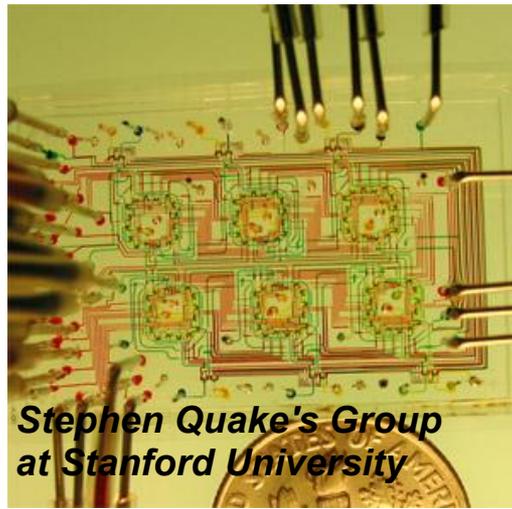
— это множество элементарных операций с жидкостью, которые предназначены для комбинации в рамках четко определенной технологии изготовления.

*[Mark D. et al // Chem. Soc. Rev. 2010]*

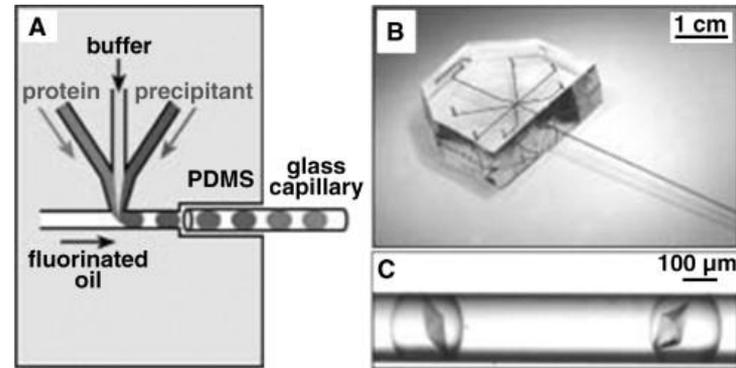
*Какие существуют основные микрофлюидные платформы?*



#### 4. Большая микрофлюидная интегральная схема

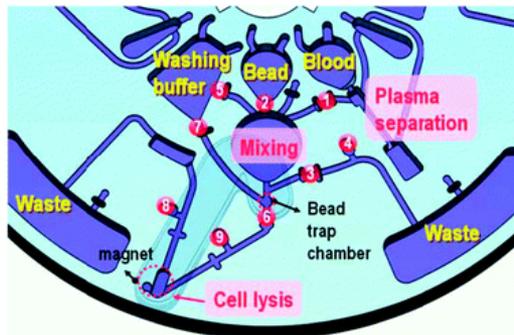


#### 5. Устройства сегментированного потока

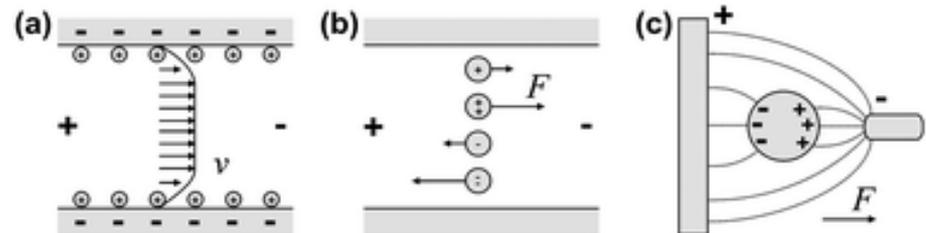


L. Shui // Advances in Colloid and Interface Science. 2007

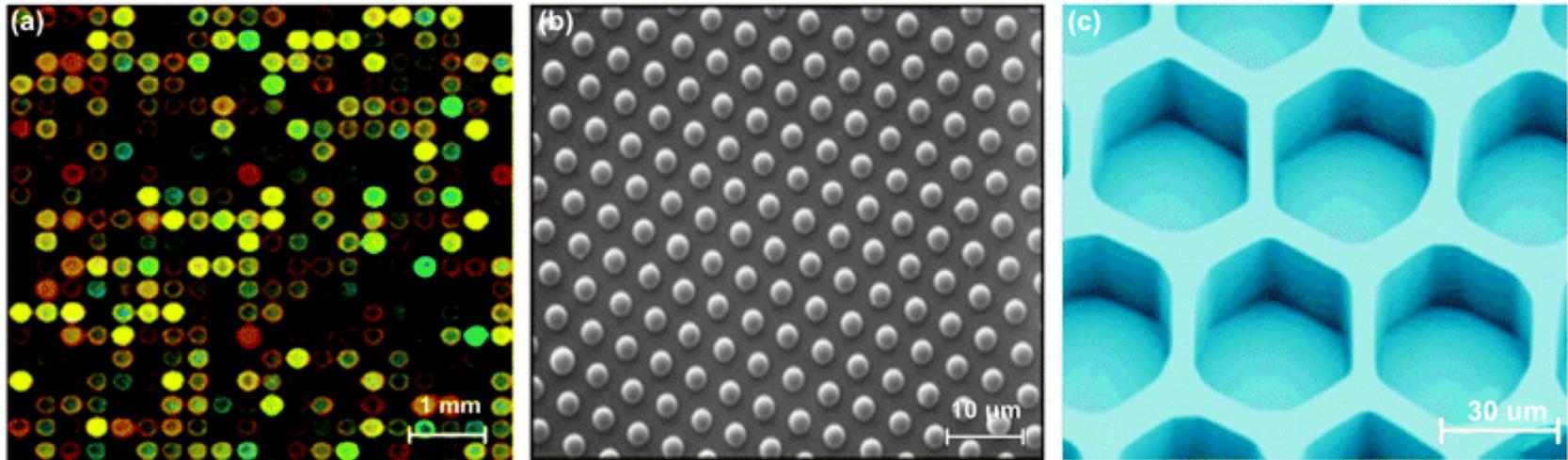
#### 6. Центробежная микрофлюидика



#### 7. электрокинетическая микрофлюидика



## 8. Платформа массивных параллельных измерений



M. Margulies et al, *Nature*, 2005, **437**, 376–380

# Люциферазная МикроФлюидная Платформа

Цель: освоить существующие и разработать недостающие элементы люциферазной микрофлюидной платформы.

## Задачи:

1. Изготовить люциферазный микрофлюидный чип для экологического мониторинга воды
2. Проверить работоспособность осмотического, электрокинетического, вакуумноэлектронного, центробежного и акустического микрофлюидных приводов и их действие на компоненты различных люциферазных биосенсоров.
3. Оптимизировать формы реактора и смесителя с учетом особенностей жидкостей и приводов, использующихся в люциферазной микрофлюидной платформе.
4. Описать методы формирования канализированной поверхности микрофлюидных чипов и изготовления микрофлюидных устройств
5. Разработать компактное устройство для детектирования света люциферазной реакции в чипе

# Методы изготовления чипов

Метод	Применение
фрезерование	магистральные каналы, корпус
литография	функциональные элементы
лазерная абляция	обработка поверхностей
FocusedIonBeam*	тонкие детали, нанопоры

\* травление сфокусированным ионным пучком

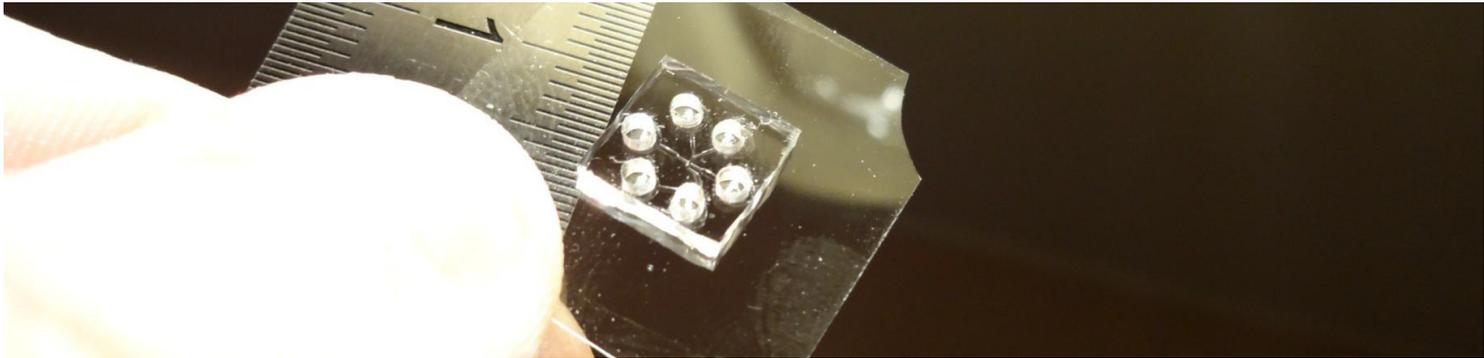
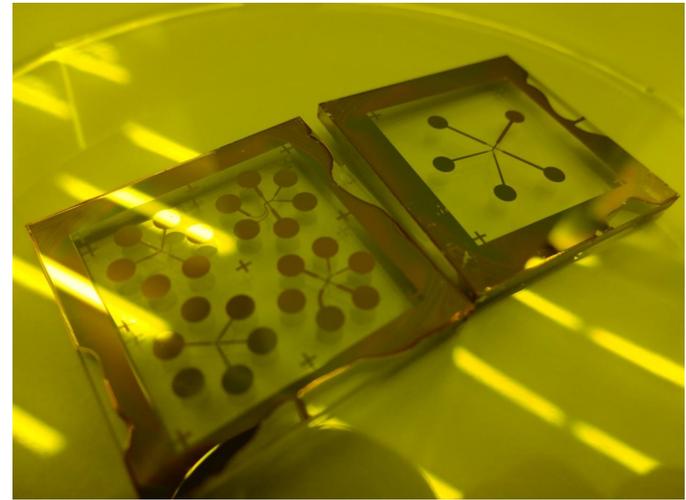
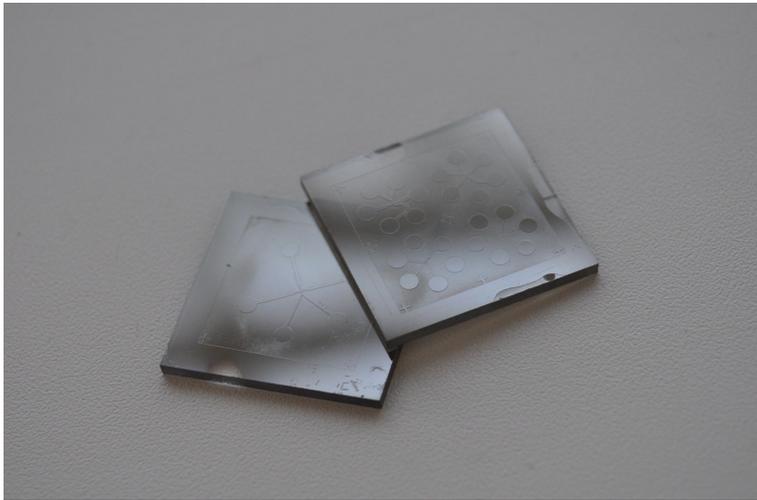
# Фрезерование

+	-
простота метода	поверхность не ровная ( $\pm 5$ мкм)
высокая скорость изготовления чипов	много пыли
	невозможно сформировать внутренний угол

Минимальная ширина канала 300 мкм

Лучше всего подходит для изготовления магистральных каналов и корпуса прибора.

# Литография + ПДМС



Выход на микрометровый масштаб каналов!

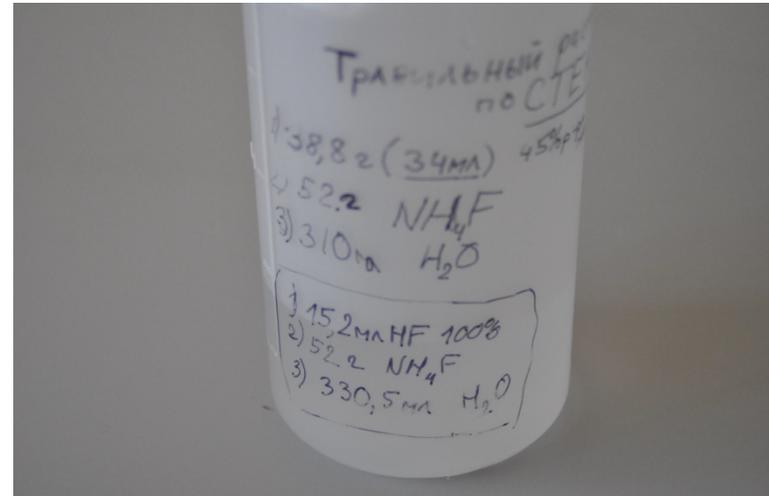
# Литография

## Этапы литографии:

1. *Нанесение*, засвечивание и проявление фоторезиста
2. *Травление* или *напыление* через фоторезистивную маску



Центрифуга для нанесения фоторезиста

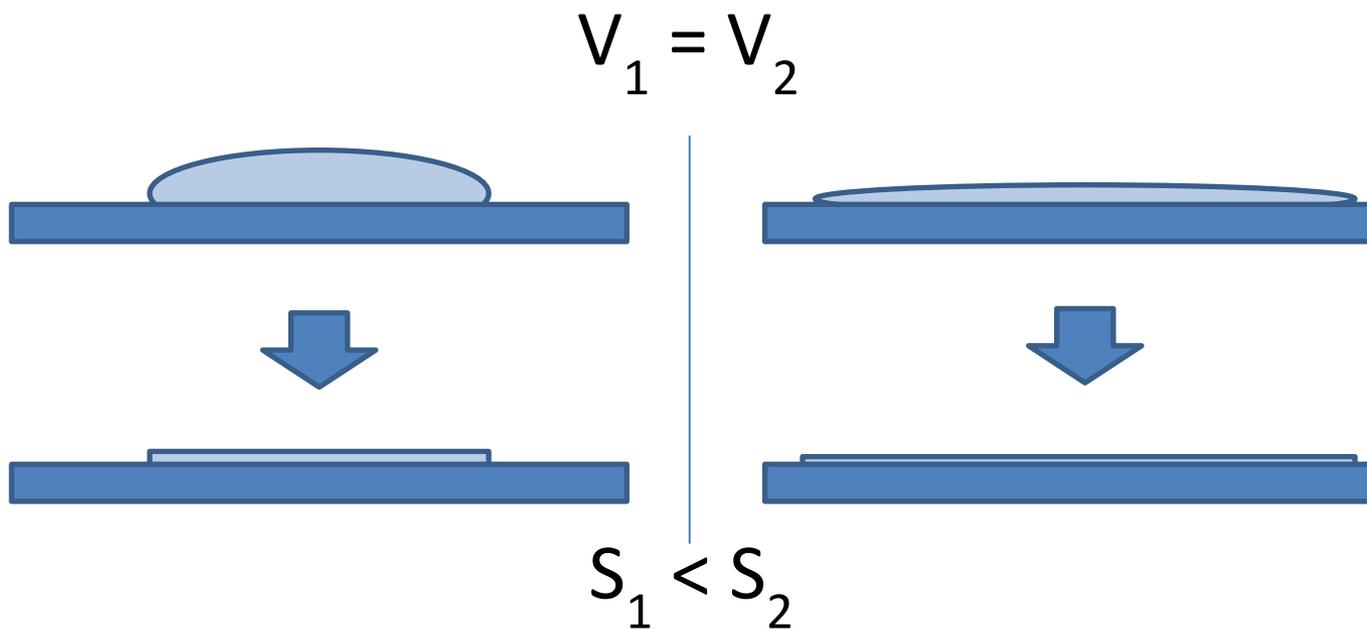
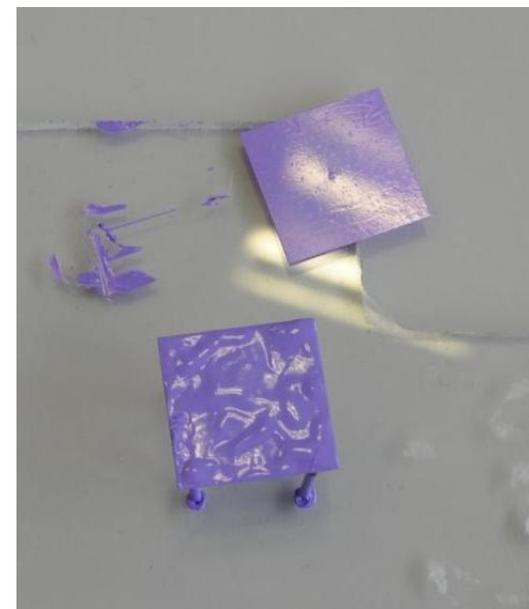


Раствор для травления стекла



# Тонкие пленки

Можно тонко и равномерно  
наносить любые жидкости



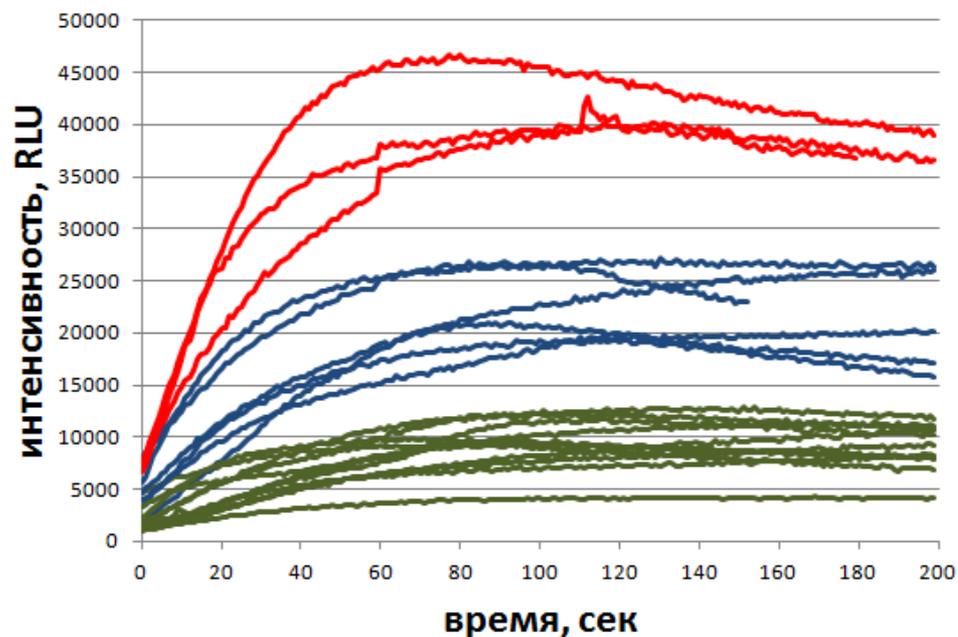
# Лабораторная партия люциферазных чипов



# Люциферазный чип **работает!**



ЛМФЧ (вверху) и результаты проверки на Promega 20/20n (справа)

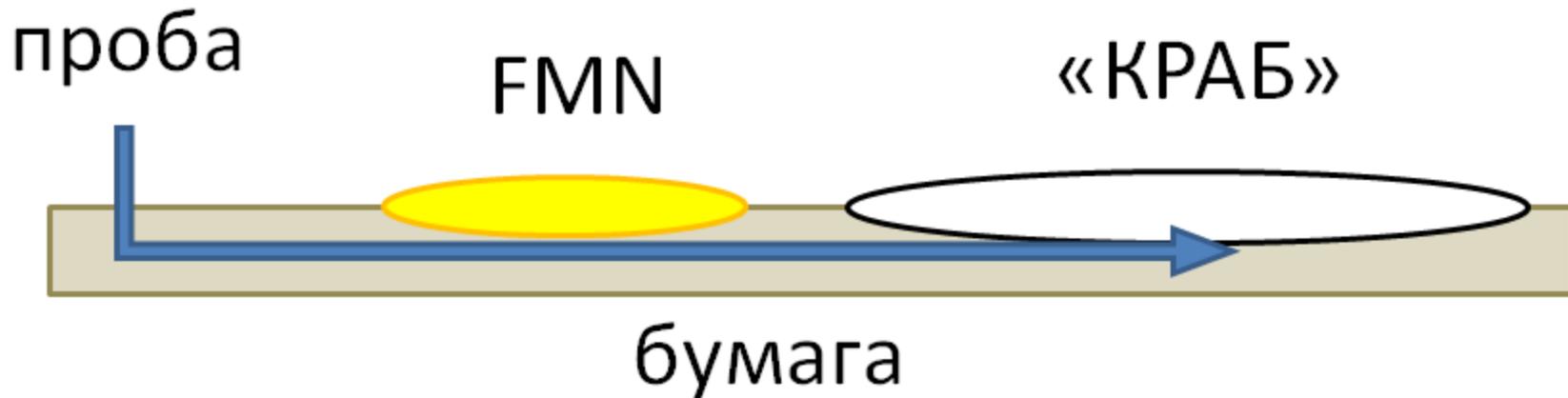


**И есть, над чем работать далее:**

- диск «Энзимолюм» не прилипает к ПММА
- адгезив возможно влияет на фермент
- в каждом чипе разные микропотоки в реакторе

**Как следствие, слабая повторяемость.**

# Концепция бумажного люциферазного чипа



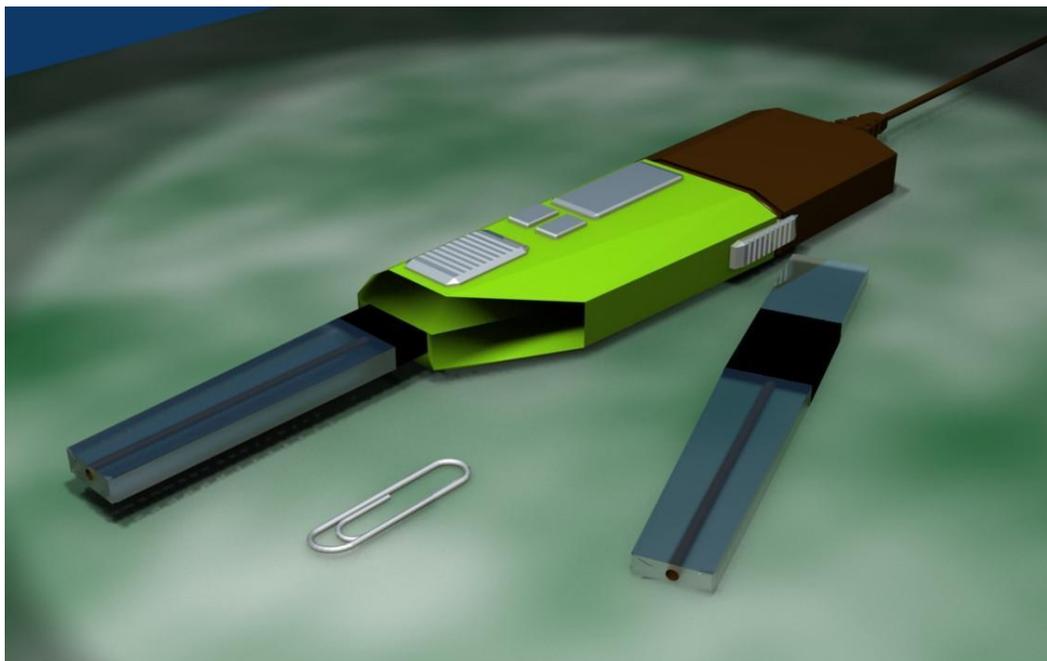
люциферазная тест-полоска

# Портативные биолюцинометры

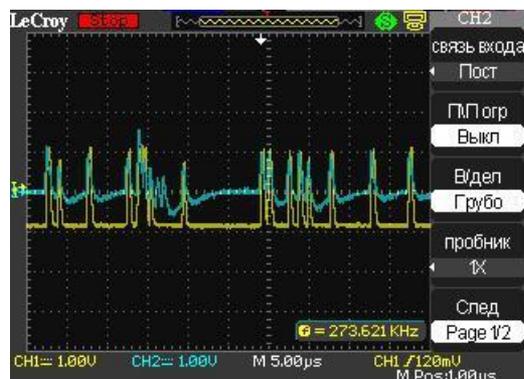
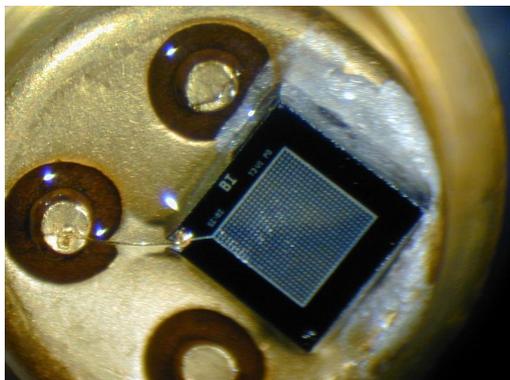
Денисов И.А.

*хроника  
разработки*

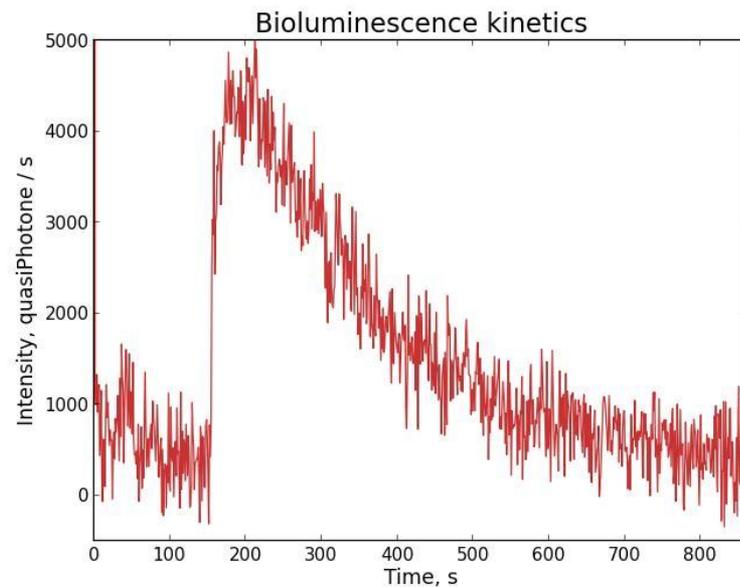
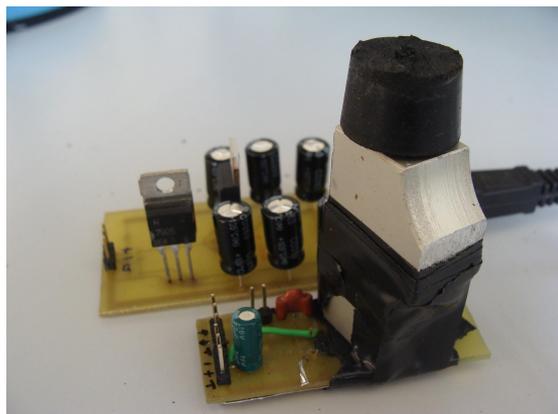
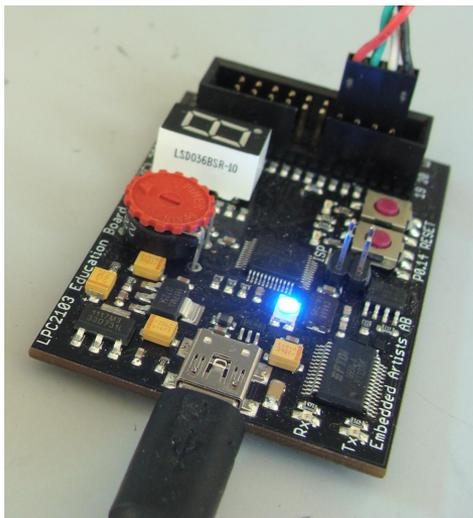
# Идея портативного биосенсора на базе SiPM со сменными микрофлюидными модулями



Прибор для персональной аналитики. Личная экологическая безопасность и медицина.



# Состояние работы на 14 июня 2012



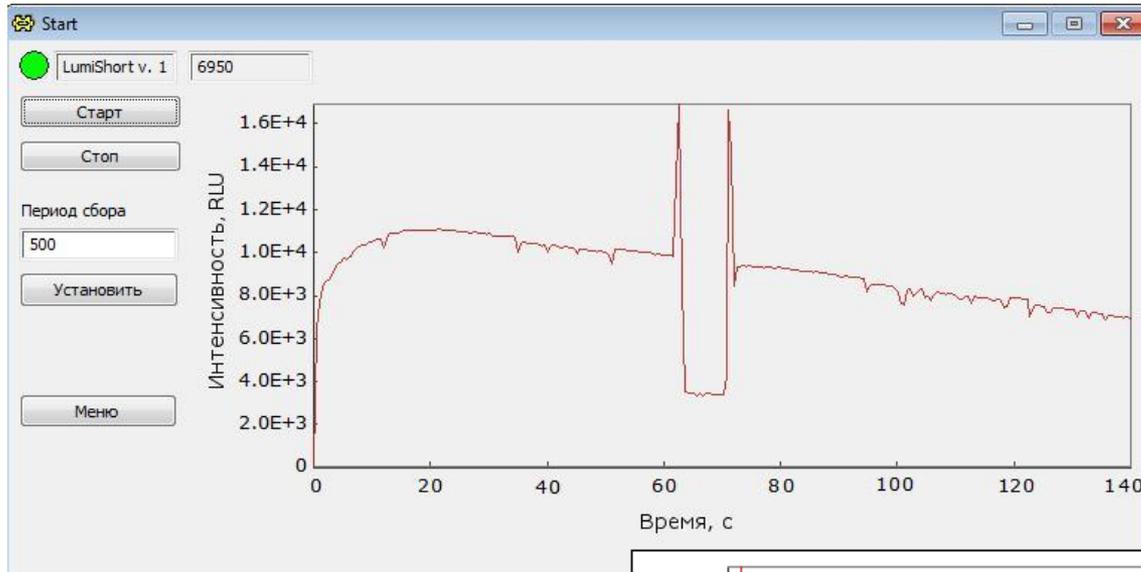
А



Б

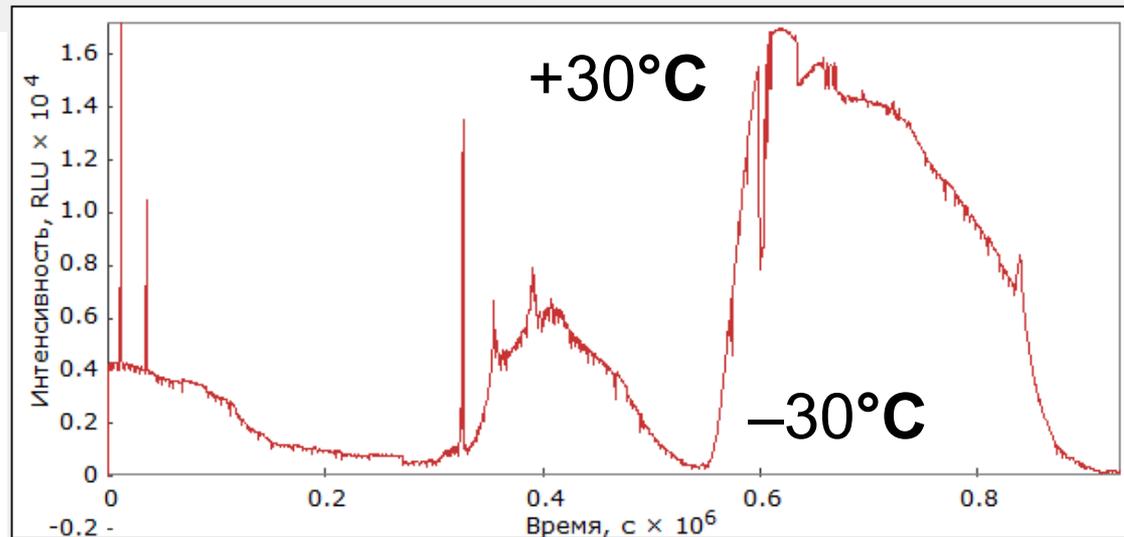


# Проверка LumiShot v.1

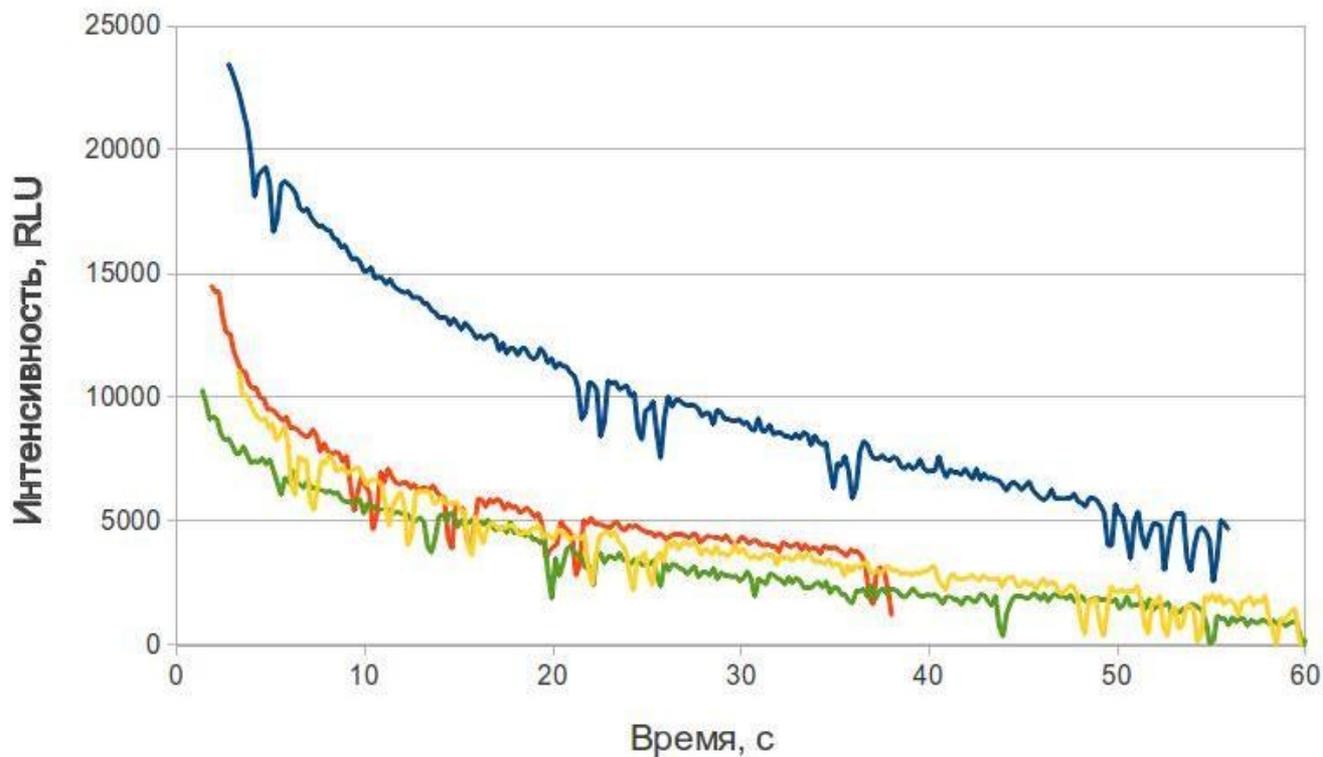


Биферментная система, проверка засветки.

Температурный дрейф напряжения на SiPM.



# Регистрация свечения целентеразин зависимой люциферазы на *LumiShot v.1*



Первые пол-шага к созданию кардиочипов.

# Заключение

- освоены методики изготовления стеклянных чипов;
- изготовлена и проверена лабораторная партия люциферазных чипов из оргстекла;
- разработана, изготовлена и апробирована электроника для сбора сигнала с SiPM;
- разработаны (3) и изготовлены (2) модели корпусов люминометров.

# План работы

- доработка усилителя и проверка новых SiPM (Германия) + ;
- защита инт. собственности по школьному люминометру + ;
- изготовление корпуса для чипового люминометра + ;
- исследования лабораторной партии люциферазных чипов + ;
- повторение всего цикла изготовления стеклянных чипов + .

# Заключение

- освоены методики изготовления стеклянных чипов;
- изготовлена и проверена лабораторная партия люциферазных чипов из оргстекла;
- разработана, изготовлена и апробирована электроника для сбора сигнала с SiPM;
- разработаны (3) и изготовлены (2) модели корпусов люминометров.

# План работы

- доработка усилителя и проверка новых SiPM (Германия) + ;
- защита инт. собственности по школьному люминометру + ;
- изготовление корпуса для чипового люминометра + ;
- исследования лабораторной партии люциферазных чипов + ;
- повторение всего цикла изготовления стеклянных чипов + .

# Группа



Петр  
Иванович  
Белобров



Иван  
Андреевич  
Денисов



Антон  
Сергеевич  
Якимов



Кирилл  
Андреевич  
Лукьяненко



Владимир  
Викторович  
Сорокин