

## Report on the EMBL Microfluidics conference 2012

K.A. Lukyanenko

Siberian Federal University

*kirill.lukyanenko@gmail.com*

This report is dedicated to the EMBL Microfluidics conference 2012. The conference itself is about microfluidics and different biological applications of it. Also some new techniques were shown. Many microfluidics platforms were covered. Here we show the main research topics of each speaker. Also the report holds a review of some interesting papers of every speaker.

С 25.07.12 по 27.07.12 я принял участие в работе конференции по микрофлюидике, организованной Европейской молекулярно-биологической лабораторией, для того, чтобы понять современный синтез двух основных платформ секвенирования ДНК, и, в целом, состояние современной геномики, клеточной биологии, иммунологии и других разделов биологии. Эта конференция является уникальной по подходам, которые после синтеза микроэмульсионной и микрофлюидной платформ, позволили создать инструментарий, позволяющий ставить принципиально новые эксперименты, существенно опережающие любые теоретические построения. Мне важно было оценить уровень работ, проводимых в МОЛПИТ, сопоставить наши направления с тем, что делается в мире, и понять самые перспективные направления наших исследований.

Микрофлюидика является важным инструментом для современного научного мира. С помощью микрофлюидики ученые пытаются найти ответы на многие нерешенные вопросы, и все это благодаря особым свойствам микрофлюидных устройств. Прежде всего, к таким свойствам относятся компактность, низкое количество используемых реагентов, дешевизна изготовления по сравнению с традиционными аналогами. Еще одним важным преимуществом микрофлюидики является возможность массивного распараллеливания процессов, чего порою очень трудно добиться обычным способом.

На прошедшей конференции были представлены шесть основных микрофлюидных платформ, которые применяются для решения различных задач:

- 1) Традиционная с массивным распараллеливанием;
- 2) Микрофлюидика, основанная на капле (Droplet-based microfluidics);
- 3) Бумажная микрофлюидика (Paper based microfluidics);
- 4) Дисковая микрофлюидика;
- 5) Цифровая микрофлюидика (Digital microfluidics);
- 6) Микрофлюидика с использованием интегрированных плат (Integrated circuits).

За время проведения конференции прошло 5 секций, затрагивающих различные проблемы, которые можно решать, используя микрофлюидику. Данный отчет построен следующим образом: дается обзор того, что говорил каждый выступающий и несколько слов о других интересных работах, которые имеются у команды автора.

**Первая секция** называлась «Изучение одиночной клетки / одиночного организма (Single cell / single organism studies)».

Стив Квейк (Stephen R. Quake, Stanford University, USA) выступил с докладом «Single cell and single molecule genomics», где рассказывал о том, как можно изучать с помощью микрофлюидики геном одиночной клетки. Для своих экспериментов он использовал человеческую сперму. Был построен чип, который позволяет одновременно проводить до 48 экспериментов. В каждой ячейке через ПЦР амплифицировали и смотрели на результат. В дальнейшем для каждой клетки строили карту каждой из хромосом. Публикации [1-5] показывают, что в каждом из направлений Single molecule biophysics, precision force measurement, micro and nano fabrication with soft materials, integrated microfluidics and large scale biological automation группа Стива Квейка занимает лидирующие позиции.

Саваш Тэй (Savas Tay, ETH Zurich, Switzerland) сделал доклад, основанный на совместной с С.Р. Квейком работе [6]. Основной научный интерес группы Тэя: Systems Biology, Microfluidics, Optofluidics = системная биология, микрофлюидика и оптофлюидика. Саваш задавался вопросом, как работают вместе такие вещи как: аутоиммунные болезни, онкогенез, прогрессия опухолей? Микрофлюидику он использовал для того, чтобы попытаться выявить определенные закономерности в движении клеток. В результатах упомянул, что получил определенные правила движения клеток (Traffic rules). Стоит заметить, что хотя Тэй и говорил о правилах движения клеток, но эти правила сами по себе имеют место только для клеточных автоматов [7]. Но правила движения клеток, особенно с учетом геномики, на самом деле «никаким правилам не подчиняются». Поэтому в настоящее время изучают только конкретные системы, как-то: the traffic rules that apply to lipids are more diverse and less absolute than those for proteins [8], трафик поверхностных молекул в синаптических мембранах [9], контроль трафика лейкоцитов внеклеточными ферментами [10]. В работе же [8] микрофлюидным методом изучаются сигнальные молекулы фактора некроза опухоли TNF- $\alpha$ . Это внеклеточный белок, многофункциональный провоспалительный цитокин, образующийся в основном моноцитами и макрофагами. Влияет на липидный метаболизм, коагуляцию, устойчивость к инсулину и функционирование эндотелия. TNF- $\alpha$  активирует ядерный транскрипционный фактор NF- $\kappa$ B. Транскрипционный фактор NF- $\kappa$ B (ядерный фактор «каппа-би») - универсальный фактор транскрипции, контролирующей экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла. Нарушение регуляции NF- $\kappa$ B вызывает воспаление, аутоиммунные заболевания, а также развитие вирусных инфекций и рака. В [8] микрофлюидным методом измерена активность NF- $\kappa$ B в тысячах живых клеток при концентрациях TNF- $\alpha$ , охватывающих четыре порядка. Клетки могут кодировать тонкий набор аналоговых параметров модуляции. В результате эти параметры включают в себя NF- $\kappa$ B пик интенсивности, время отклика и число колебаний. В [8] была разработана математическая модель, которая воспроизводит как цифровые так и аналоговые динамики, а также большинство генов экспрессия при всех измеряемых условиях. Эта модель широко применима для TNF- $\alpha$  индуцированной NF- $\kappa$ B сигнализации в различных типах клеток. Совершенно ясно, что в этих интереснейших и важных исследованиях говорить о правилах движения клеток надо с осторожностью и только в рамках разработанной модели.

Себастиана Маеркла (Sebastian Maerkl, EPFL, Switzerland) продемонстрировал использование микрофлюидики как платформы для массивного параллельного хеостата (massively parallel chemostat platform). Идея состоит в рассредоточении клеток по колодцам. Среда подается клеткам в колодцы, клетки при этом не выходят из колодца и не заражают соседние, это дает возможность изучать разные колонии клеток. Помимо этого Маеркл участвует в разработке микрофлюидных устройств, призванных автоматизировать биологические измерения. Так, в [11] представлено устройство, управляя которым через соответствующее ПО, можно добиться проведения различных биологических исследований. Изменения конструкции самого устройства для решения различных задач при этом не требуется. Это исследование является развитием работы [12], в которой была представлена аппаратная основа. Ярким примером синтеза биологии и микрофлюидики является работа [13], в которой было найдено место связывания трансмембранного белка вируса гепатита С NS4B с РНК, а также определены ингибиторы этого связывания. В области системной биологии Маеркл совместно с Квейком [14] разработали микрофлюидный подход к измерению соотношений между молекулярными взаимодействиями. Основой для измерения является механическая фиксация этих взаимодействий.

Люк Ли (Luke P. Lee, University of California, Berkeley, USA) широко продемонстрировал возможности применения микрофлюидной платформы BASIC (Biofluidic Application Specific Integrated Circuits) для использования в количественной биологии. Особенность платформы в

соединении микрофлюидики с обычными электронными платами. Помимо этого крайне интересно выглядит исследование [15], в котором был предложен чип для электропорации. Фокусируя электрическое поле в чипе, отпадает необходимость в использовании отдельных электродов и открывается возможность для параллельной электропорации одиночных клеток. В [15] продемонстрирована такая работа над клетками HeLa, для которых найден потенциал ( $<1$  В), необходимый для электропорации. Другой не менее интересной работой является [16], в которой впервые был представлен чип для долгосрочного наблюдения за клеточной культурой. Данный чип является по сути первым микрофлюидным хемотропом, в котором реализованы функции поддержания жизнедеятельности клеток, удаления отходов и оптические наблюдения в реальном времени. Стоит отметить также работу [17], в которой был продемонстрирован процесс создания пленки из наночастиц высокой плотности через самосборку гидрофобных наночастиц серебра на поверхности воды путем перемещения монослоя частиц на температурно-чувствительный полимерный субстрат с последующей реорганизацией частиц благодаря температурно-управляемой усадке полимера. Такой метод позволяет точно контролировать расстояния между наночастицами.

Махеша Десай (Mahesh Desai, University of Luxembourg, Luxembourg) сделал доклад, который был посвящен моделированию в чипе системы эпителиальных клеток в контакте с микробами. Клетки питаются кислородом, производят азот, который едят бактерии, что под ними. Два слоя разделены полупроницаемой мембраной. По заявлениям докладчика, у них получились стабильные монослои. Работа, на мой взгляд, очень интересная. Однако никаких публикаций этого автора я обнаружить не смог.

Карл Хансен (Carl Hensen, University of British Columbia, Canada) рассказывал об исследовании при помощи микрофлюидики различных клонов одной клетки. Это позволяет обойти проблему генетической неидентичности целой колонии клеток одного типа. В работе использовалось массивное распараллеливание эксперимента (одновременно 96 экспериментов). Другой интересной работой группы Хансена является создание [18] микрофлюидной платформы для масштабного скрининга гомогенных сред, которая совмещает в себе программируемое перемешивание и высокоплотностную двухфазную систему хранения. Работа устройства была продемонстрирована на примере кристаллизации белков, где были произведены исследования поведения растворимости белков с последующим скринингом в процессе кристаллизации в нанолитровом объеме, а также применением оптимизации в формате диффузии пара. Также Хансен совместно с Квейком и др. выполнял работы по созданию микрохемотропа [19], в котором происходило долговременное наблюдение за поведением колонии кишечной палочки. Разработанный ими чип позволял наблюдать за поведением колонии при искусственно созданных условиях, включавших в себя устойчивые колебания плотности клеток. В области иммуноанализа Хансен проводил исследования [20] по разработке микрофлюидного устройства, которое позволяет проводить чувствительные и количественные измерения мультиплексированных белков в нанолитровом масштабе. Чувствительности прибора достаточно для определения 1000 копий фактора TNF в объеме 4.7 нл.

**Вторая сессия** называлась «Микрофлюидика, основанная на капле» (Droplet-based microfluidics).

Дэвид Вэйтс (Dave Weitz, Harvard University, USA) продемонстрировал различные технические решения, как можно с помощью микрофлюидики создавать отдельные капли, и как ими можно управлять. Работа с каплями позволяет делать двойные и множественные эмульсии. Очень впечатляющий доклад. Подробнее с результатами работы его команды можно ознакомиться на сайте (<http://www.weitzlab.seas.harvard.edu/>). Одной из его интересных работ является работа по созданию биоразлагаемых частиц в микрофлюидном устройстве со стеклянными капиллярами [21]. В ней частицы их множественных остатков молочной кислоты (Poly(Lactic Acid) Particles - PLA) формируются в путем выпаривания

дифхорметана (DCM) из эмульсии при комнатной температуре. Первоначально растворенная фаза представляла собой PLA в DCM, а среда была в виде поливинилового спирта в воде, прошедшей обратный осмос. Получившиеся частицы отличаются малым размером пор и большой монодисперсностью. Другой интересной работой команды Вэйтса является работа, в которой было представлено микрофлюидное устройство [22], способное параллельно производить большое количество двойных эмульсий. При этом обеспечивается высокая степень идентичности полученных капель. Такое устройство может обеспечить объемы производства на уровне многих тонн в год, что важно для различных отраслей промышленности, использующих двойные эмульсии. Одной из самых интересных работ является работа по использованию полимеросом (polymersome) в качестве искусственных клеток в микрофлюидном устройстве для экспрессии белка, агрегации и контролируемого высвобождения веществ [23]. Полимеросомы являются кандидатами на звание искусственной клетки. Благодаря использованию микрофлюидики, удалось создать высоко идентичные полимеросомы, которые способны эффективно инкапсулировать активные материалы. Такие структуры обладают биоразлагаемыми и биосовместимыми мембранами и в будущем найдут очень широкое применение.

Жан-Луи Вьови (Jean-Louis Viovy, Institut Curie/CNRS, France) упомянул о существующих технических проблемах капельной микрофлюидики, к которым относятся сложности синхронизации потоков, возможность создания только процессов добавления веществ (add-only process), и продемонстрировал, как его лаборатория работает над тем, чтобы эти сложности обойти. Показал, как можно использовать магнитные частицы для создания бислоев. А извлекать потом такие частицы из капель можно с помощью градиента магнитного поля. Интересной работой является работа [24], в которой представлены самособирающиеся магнитные матрицы для разделения ДНК в микрофлюидном чипе. Однако разделять можно только небольшие куски ДНК размером несколько kbp. В дальнейшем эта работа получила развитие в [25], где стало возможным разделение больших участков ДНК. Одним из последних применений самосборных суперпарамагнитных головок в микрофлюидном устройстве в команде Жана-Луи является [26] сортировка раковых клеток. Применение микрофлюидики позволяет тратить как минимум в 10 раз меньше образцов, что сокращает время анализа и цену.

Петр Гарштетский (Piotr Garstecki, Institute of Physical Chemistry, Polish Academy of Sciences, Poland) представил доклад, посвященный автоматизированию процессов капельной микрофлюидики. Стоит отметить, что поляки имели одну из самых больших делегаций (9 человек) и демонстрировали весьма интересные результаты на постерной сессии. Одно из основных направлений лаборатории Гарштецкого – это автоматизация процессов в микрофлюидных чипах. Его команда разработала технику [27, 28], позволяющую формировать капли по запросу (droplet on demand – DOD). Отличие их техники от других подобных – это использование *внешних* электромагнитных клапанов, соединенных с чипом только через небольшого диаметра стальную трубку. Эта дает им такие преимущества, как упрощение конструкции, уменьшение ее конечной стоимости и позволяет использовать стандартные клапаны, имеющиеся в продаже. Другим немаловажным преимуществом является то, что такую технику можно использовать в сочетании с любым имеющимся чипом. Одним из примеров применения такой техники является работа [29], в которой авторы изучали эпистатическое взаимодействие между антибиотиками и *E. coli* ATCC 25922. Были определены минимальные ингибирующие концентрации и парные взаимодействия ампицилина, тетрациклина и хлорамфеникола с *E. coli*.

Патрик Тэйблинг (Patrick Tabeling, ESPCI Paris, France), будучи французом с ужасным акцентом, сделал доклад, который был очень трудно воспринимаем. Однако результаты его заслуживают пристального внимания, потому что была представлена так называемая цифровая микрофлюидика (Digital microfluidics), где отдельными каплями управляет не

поток, а сетка электродов, которая позволяет перемещать эти капли по полю, похожему на шахматное в произвольных направлениях и произвольной последовательности. Таким образом, достигается полный контроль над перемешиванием и проведением любых экспериментов над каплями. Помимо цифровой микрофлюидики, их команда также занимается вопросами улучшения смачиваемости поверхности в PDMS чипах [30]. Для этого они использовали УФ-индуцированную полимеризацию акриловой кислоты. По заявлениям авторов, улучшения смачиваемости им во многом удалось добиться благодаря тщательной проверки всех параметров, некоторые из которых в работах других исследователей выпускались из виду. В другой похожей работе [31] модификация поверхностных свойств PDMS чипа происходила с помощью плазменной полимеризации поверхности при помощи акриловой кислоты. Еще одной интересной работой является работа по синтезированию микрокапсул с контролируемыми геометрическими и механическими свойствами [32]. Для этого авторы использовали двойные эмульсии. Они показали, что как геометрические, так и механические параметры могут быть предсказаны на основе численных вычислений и путем варьирования параметров потока. Помимо инженерных, у Тэйблинга есть также и глубоко фундаментальные работы [33], в которых он кратко обсуждает с физической точки зрения такие вещи как ход жидкости по поверхности, капельную микрофлюидику и смешивание в микрофлюидных системах. Эта работа интересна тем, что в ней аккумулированы все знания о физике этих процессов по состоянию на 2009 год.

Кристоф Мертен (Christoph Merten) показал результаты инкапсулирования живых клеток в капли и последующего их изучения. Был продемонстрирован пример с антителами. Также была продемонстрирована система, которая позволяет производить реинъекцию, слияние и сортировку отдельных капель. Для того, чтобы инкапсулировать живые клетки в капли [34], им пришлось разработать биосовместимые ПАВы, а также определить систему, которая допускала бы газообмен. Это позволило многоклеточному организму (*C. elegans*) не только выжить, но и пролиферировать в течение нескольких дней. Авторам также удалось в последующем эти капли переместить в другой чип, чтобы измерить уровень экспрессии гена-маркера. Другая похожая работа была проделана над клетками гибридомы [35], где удалось всего за шесть часов получить полностью жизнеспособные антитела. Также недавно вышел очень интересный обзор [36], в котором обсуждаются вещи, относящиеся к усложнению и распаллеливанию потоков в микрофлюидных чипах. Очень вдохновляющая статья, показывающая, какую пользу может принести микрофлюидика в биологию.

**Третья сессия** называлась «Новые микрофлюидные модули и приложения» (Novel Microfluidic Modules & Applications).

Рустем Измагилов (Rustem Ismagilov, Caltech, USA) вначале выступления продемонстрировал впечатляющий ролик, использующий объемные кнопки в микрофлюидике. Технология называется «Tactus technology» (<http://www.youtube.com/watch?v=t4eh-Cn3Pzk>). Дальнейший доклад был посвящен рассказу об их работе с микробами и микробной микрофлорой и о том, как они использовали микрофлюидику для тестирования в ней различных моделей. Кроме того, он продемонстрировал некий микрофлюидный слайдер (SlipChip). Идея слайдера проста: делаешь слой, который заполняешь образцом, сдвигаешь, заполняешь еще один слой реагентом, затем сдвигаешь образец на реагент и происходит реакция. Капли при этом сидят в колодцах. Можно проводить очень быстрые реакции и в то же время сохранять возможность просчитать каждую молекулу в этой реакции, используя микрофлюидику. Одним из удивительных применений такого слайдера является работа [37], в которой на SlipChip была осуществлена цифровая полимеразно-цепная реакция. Такое применение может найти свое место среди различных исследований, таких как исследование одиночных клеток, перенатальная и персональная диагностика. Другой интересной работой, вновь затрагивающей использование SlipChip, является работа [38], в которой описываются подходы по организации пространственной обособленности капель в одно-, двух- и

трехмерных структурированных массивах. Такие подходы могут обеспечить индексирование всех капель, что очень важно, когда речь заходит об экспериментах, например, по контролируемому межкапельному взаимодействию. Существует немало и других областей, в которых такая техника может найти широкое применение. Помимо линейного слайдера, команда Измагилова работает и с вращающимся SlipChip. В работе [39] они показали, как с помощью него можно оценить количество вируса гепатита С и ВИЧ. Работа очень важная для диагностики и предупреждения распространения болезней в районах, где нет соответствующего медицинского оборудования.

Мингминг Ву (Mingming Wu, Cornell University, United States of America) при помощи микрофлюидики имитировала кровяной сосуд, поток крови в нем и метастазы, которые в него проникают. Также смотрела как двигаются клетки рака в капилляре с клетками и антителами. В своих работах Ву часто использует устройства на основе гидрогеля. Эту технологию придумала ее команда [40]. Отличие таких устройств в том, что они могут генерировать стабильный длительный линейный химический концентрационный градиент, не позволяющий жидкости течь по каналу. То есть клетки, движущиеся в сторону наибольшей концентрации какого-то из веществ, не будут проходить сквозь такие каналы. Также такой чип имеет ряд других преимуществ при использовании в биологических экспериментах. Позднее была представлена целая платформа [41] для чипов на основе агарозного геля, позволяющих создавать длительные буферные зоны для клеток, движущихся на основе хемотаксиса. Существует и целый обзор по микрофлюидным устройствам для хемотаксиса [42], подготовленный командой Ву.

Винсент Студер (Vincent Studer, CNRS, France) рассказывал о технологии создания микрофлюидного стикера (Stencil microfluidic Stickers) [43]. Основная идея в наложении нескольких слоев из PDMS для создания объемной структуры. Также у него есть работа по созданию устройства, основывающегося на принципе «капля по требованию» (droplet on demand) [44]. В этой работе он с коллегами скомбинировал стандартный Т-канал и новый переключатель, соединяющий резервуар с жидкостью с микрофлюидным каналом. Кроме того участвовал в разработке чипа по автоматической очистке нуклеиновых кислот из клеток бактерий и животных [45].

Микаэль Киршбаум (Michael Kirschbaum, Fraunhofer-Institute for Biomedical Engineering, Germany) сделал доклад, который был посвящен использованию цифровой микрофлюидики. В частности он продемонстрировал, как с помощью электродов можно делать преграды для клеток, которые из-за диэлектрофореза не могут пройти сквозь электрод, если по нему течет ток. Также показывал, как, удерживая две клетки между четырьмя электродами (dielectrophoretic field cage), можно произвести слияние двух клеток в одну, то есть сделать так, чтобы их мембраны стали единой [46]. Сам чип и пример его работы с лимфоцитами представлен в работе [47]. В дальнейшей работе с диэлектрофорезом и Т-лимфоцитами изучалась корреляция между поведением ионов кальция в цитозоле и экспрессией белка после активации Т-лимфоцитов микрогранулами [48].

Йануй Хуанг (Yuanyi Huang, Peking University, China) имеет достаточно большую команду в лаборатории, которая занимается несколькими микрофлюидными проектами. Они изучают такие вещи, как: cell migration, digital PCR, «button» chips. В области изучения миграции клеток стоит отметить работу [49], в которой изучается регуляторный эффект эпигенетического регулятора HDAC7 на клеточную миграцию. Также в этой работе представлена система, позволяющая производить наблюдения за каждой отдельной клеткой. В лаборатории Хуанга, помимо этого, был разработан чип для иммуноанализа [50], который в своей конструкции использует «кнопочные» клапаны. Довольно интересной выглядит также работа [51], в которой представлены два чипа. Один из них выполняет функцию сортировки жидкости по колодцам нанолитрового объема другого чипа. При этом не происходит загрязнения соседних колодцев, что очень важно для анализов.

Антони-Эммануэл Салиба (Antoine-Emmanuel Saliba, EMBL Heidelberg, Germany) рассказывал о том, как они пытаются при помощи микрофлюидики изучать взаимодействие между белками и липидами. Работа очень интересная, но пока на ранней стадии. В целом Салиба работает в команде профессора Жана-Луи Вьови, поэтому выделять какие-то дополнительные работы мы не станем.

**Четвертая сессия** называлась «Диагностика и устройства оказания медицинской помощи» (Diagnostics and point-of-care devices).

Джордж Вайтсайд (George Whitesides, Harvard University, USA) является довольно старым и очень цитируемым профессором, знающим о микрофлюидике очень много (имеет более 1000 публикаций). Он рассказывал об использовании бумаги как основы для чипов. Техника проста: берем бумагу, используем печать для нанесения каналов. При этом используем гидрофильную бумагу, гидрофобный полимер, а печатаем твердым воском. Такой принтер можно использовать для создания тысяч тестов. Особое применение – страны Африки, где нет санитарных условий для нормальной медицины. Можно делать многослойные бумажные тесты на разные болезни. Примером одного из таких тестов является бумажный чип, который позволяет определять количество глюкозы в моче [52]. Его преимуществами является простота и дешевизна изготовления, отсутствие необходимых сопутствующих расходных материалов в виде тестовых полосок или ферментов. Среди спонсоров Вайтсайда есть фонд Мелинды и Билла Гейтса, а также DARPA ([Defense Advanced Research Projects Agency](#)), поскольку солдатам на поле боя тоже нужны быстрые и надежные тестеры на различные заболевания. Очень интересно также выглядит работа [53] по созданию емкостных сенсорных поверхностей на основе все той же бумаги. Такие сенсорные поверхности могут найти широкое применение в гибкой электронике, медицинских приборах для развивающихся стран и пр. Стоит упомянуть о работе [54], в которой представлена разработка мягких пневматических приводов на основе композитов, в состав которых входит эластомер со встроенными волокнистыми структурами (та же бумага, например). Их отличает гибкость, доступность изготовления, низкий вес.

Аарон Виилер (Aaron Wheeler, University of Toronto, Canada) показывал использование цифровой микрофлюидики для: синхронизированного химического синтеза (synchronised chemical synthesis), многопопуляционной клеточной культуры (multi-generational cell culture), устройств медицинской диагностики (point of care diagnostics). В качестве применения приводил примеры: анализ образцов тканей, анализ высушенных кровяных пятен, анализ маркера сыворотки совместно с иммуноанализом. Одним из применений цифровой микрофлюидики для медицины является анализ высушенных кровяных пятен (Dried blood spots analysis). Работа [55], по заявлениям авторов, может привести к созданию новых аналитических техник по численному анализу образцов высушенных кровяных пятен. Другая интересная работа с применением цифровой микрофлюидики затрагивает такую область науки как протеомику, то есть изучение структуры и функции белков. Здесь в работе [56] предлагается использовать иммобилизованные в гидрогелях ферменты для анализа в чипе. Кроме того, команда Виилера представила первый цифровой микрофлюидный чип [57] для работы с первичной культурой клеток и их анализа.

Альберт Фолк (Albert Folch, University of Washington, USA) демонстрировал Tubeless Microfluidic Systems for Testing Cells and Tissues. «Tubeless» означает, что эти устройства почти избавлены от силиконовых трубок, соединяющие разные реагенты и прочее. Помимо этого, Фолк участвовал в разработке нового монолитного микронасоса из PDMS [58]. Этот насос способен генерировать перистальтический поток, используя всего один канал управления, которые активизирует другие микрочлапаны разного размера. Стоит отметить не очень свежую, но все интересную работу [59], в которой был разработан чип для длительного (более двух недель) культивирования мышечных клеток, которое охватывало весь процесс дифференцировки от миобластов до многоядерных волокон. Такой чип представляет из себя

очень удобный инструмент для изучения мышечных клеток. В области анализа одиночных клеток команда Фолка сделала работу [60], в которой представлен чип для ловли одиночных клеток в больших массивах микроколодцев. Особенностью чипа является его приспособленность к стандартной флуоресцентной микроскопии.

Дэниэл Марк (Daniel Mark, HSG-IMIT, Germany) демонстрировал дисковый подход в микрофлюидике. По сути это вращающийся диск, использующий для перемещения реагентов центробежную силу. Преимущество использования диска состоит в том, что центробежную силу можно легко контролировать. Реагенты расходятся из центра к периферии. Еще они используют магнитное поле, температуру и капиллярную силу. Приложения:

А) Очистка ДНК. С помощью магнитов они перещают магнитные частицы между разными колодцами во вращающемся с большой скоростью диске, таким образом очищая колодцы от них [61].

В) Автоматическое, основанное на ПЦР, генотипирование нуклеиновых кислот [62]. Здесь также для заполнения колодцев применяется температурный эффект.

С) Прототипирование микрофлюидных картриджей, сделанных из полимерных пленок [63].

Пол Ягер (Paul Yager, University of Washington, USA) сделал доклад, который был чем-то похож на доклад Вайтсайда, только техническое воплощение устройств было более сложным. Команда Ягера работает над продвижением двумерных бумажных сетей (Two-dimensional paper networks — 2DPNs), еще одной разновидностью бумажных чипов. В этой области у них есть несколько работ [64,65], в которых обсуждаются вопросы протекания жидкостей и транспорта веществ. В работе [66] идет обсуждение возможностей замены традиционных чипов бумажными, в которых нет необходимости в использовании насосов и внешних источников питания, в ней рассматриваются такие вещи как смешивание и диффузия в бумажном чипе. Одной из последних работ является применение двумерных бумажных сетей для иммуноанализа на содержание белков малярии [67].

Андреас Манц (Andreas Manz, KIST Europe - Korea Institute of Science and Technology, Germany) рассказывал о микрофлюидном подходе к определению инфекционных заболеваний. У него есть ряд обзорных статей, в которых он рассматривает современное состояние и перспективы использования чипов для нахождения новых лекарственных препаратов [68], а также общий обзор по лучшим достижениям в области изготовления, технологии и инструментария для молекулярного анализа [69], а также приложений, относящихся к области клеточного анализа [70] за период между 2008 и 2010 годами.

Хсиан-Ронг Тсенг (Hsian-Rong Tseng, University of California, LA, USA) представил интересную работу, в которой микрофлюидный канал снизу покрыли слоем кремниевых нанотрубок, и пустили по этому каналу кровь человека, больного раком [71]. Раковые клетки в результате прилипали к этому слою и происходила фильтрация крови от раковых клеток. Также у его команды есть работа [72], в которой они работают над высокоэффективной системой по адресной доставке генов.

**Сессия пять** называлась «(Био-) Химический анализ / синтез / разделение» ((Bio-)Chemical analysis / synthesis / separation).

Вильгельм Хак (Wilhelm Huck, Radboud University, The Netherlands) размышлял о том, что клетка является сложной штукой и изучать ее надо с особенной осторожностью, ведь там вся химия происходит в очень ограниченном пространстве. Среди других работ его команды стоит выделить работу [73], где показано, что тонкая полимерная пленка под воздействием ультрафиолета может изменить свою форму и поверхность. Другой интересной работой является чип [74], в котором можно выращивать микроводоросли в микрокаплях.

Норман Довичи (Norman Dovichi, University of Notre Dame, USA) рассказывал об измерении метаболизма в клетках и нейронах при помощи микрофлюидики. Помимо этого

его команда работала над созданием нового метода для двумерного капиллярного электрофореза [75], и его последующим улучшением [76]. Другой разновидностью двумерного капиллярного электрофореза является диагональный капиллярный электрофорез. Команда довичи работала и в этом направлении, представив основанный на ферменте диагональный капиллярный электрофорез [77].

Дорон Гербер (Doron Gerber, Bar Ilan University, Israel) использовал в своем докладе такие ключевые слова как: *integrated on chip protein expression, DNA methylation, demethylation reaction*. Опять же, все это на микрофлюидном чипе. О его работе совместно с Себастианом Маерклом и Стивеном Квейком по определению места связывания трансмембранного белка вируса гепатита С NS4B с РНК, а также определения ингибиторов этого связывания в работе [13], мы уже говорили. Помимо этого у Гербера есть очень интересная работа по определению сети (или карты) белок-белковых взаимодействий на чипе [78]. Анализ полученной сети открыл некоторые новые факты о взаимодействии веществ внутри биохимических путей, которые ранее оставались незамеченными. Кроме того у команды Гербера также имеется работа по определению мест связывания факторов транскрипции на последовательности ДНК [79]. Работали они с *Saccharomyces cerevisiae*.

Эндрю деМелло (Andrew deMello, ETHZ, Switzerland) рассказывал о достижениях его лаборатории в исследовании и применении различных вещей. Они комбинировали микрофлюидику с различными оптическими компонентами. Его команда разработала флуоресцентный метод детектирования для капельной микрофлюидики. [80]. Интересно выглядит работа, в которой представлена техника сверхбыстрой рамановской спектроскопии с разрешением в доли миллисекунд для приложений капельной микрофлюидики [81]. В области протеомики у команды деМелло есть работа [82], в которой они создали чип для определения количества копий белка в одиночной клетке, используя оптические методы детектирования. Отдельно стоит отметить обзорную работу [83], в которой обсуждается капельная и традиционная микрофлюидика и их приложения к химии и биологии высокой пропускной способности.

Даан Виттерс (Daan Witters, KU Leuven, Belgium) рассказывал о синтезе метал-органических материалов с использованием цифровой микрофлюидики [84]. Цифровую микрофлюидику команда Виттерса использует и для работ в области клеточного анализа [85].

Йост Кьюст (Jos Quist, LACDR/NMC, Leiden University, The Netherlands) представил некий новый подход для фильтрования (Tunable ion-selective filtering using a nanopore-induced depletion zone), суть которого я не понял. Это фильтрование является продолжением работы [86], в которой представлен чип для изотохофореза, то есть для разделения заряженных частиц.

На этом конференция окончилась.

Помимо устных докладов также было две постерных сессии, обсуждение которых не входит в данный отчет.

Ключевые ученые на конференции — Стив Квейк, Дэйв Вэйтс и Джордж Вайтсайд.

Стоит отметить, что многие из выступающих, которые сейчас в своих университетах занимают должности завлабов, ранее стажировались в лабораториях Квейка и Вэйтса. Очень сильные и интересные работы в лаборатории деМелло.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. H. Christina Fan, Wei Gu, Jianbin Wang, et al. Non-invasive prenatal measurement of the fetal genome // *Nature* 487, 320–324 (19 July 2012) doi:10.1038/nature11251
2. S Quake. Single Cell, Single Molecule Genomics // *Plant and Animal Genome XX Conference*, 2012.
3. Rothenberg ME, Nusse Y, Kalisky T, et al. Identification of a cKit(+) colonic crypt base secretory cell that supports Lgr5(+) stem cells in mice // *Gastroenterology*. 2012 May;142(5):1195-1205.e6. Epub 2012 Feb 11.
4. Angela R. Wu , Tiara L.A. Kawahara, et al. High throughput automated chromatin immunoprecipitation as a platform for drug screening and antibody validation // *Lab Chip*, 2012,12, 2190-2198. DOI: 10.1039/C2LC21290K
5. Veronica Sanchez-Freire, Antje D Ebert, Tomer Kalisky, et al. Microfluidic single-cell real-time PCR for comparative analysis of gene expression patterns // *Nature Protocols* 7, 829–838 (2012) doi:10.1038/nprot.2012.021
6. Savaş Tay, Jacob J. Hughey, Timothy K. Lee, et al. Single-cell NF- $\kappa$ B dynamics reveal digital activation and analog information processing in cells // *Nature*. 2010 July 8; 466(7303): 267–271. doi: 10.1038/nature09145
7. Kai Nagel, Dietrich E Wolf, et al. Two-lane traffic rules for cellular automata: A systematic approach // *Phys. Rev. E* 58, 1425–1437 (1998).
8. Holthuis, J.C.M.,Levine, T. Lipid traffic: floppy drives and a superhighway // *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 6, 209-220 (March 2005) | doi:10.1038/nrm1591
9. Martin Heine. Surface Traffic in Synaptic Membranes // *Synaptic Plasticity. Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2012, Volume 970, Part 2, 197-219, DOI: 10.1007/978-3-7091-0932-8\_9
10. Marko Salmi, Sirpa Jalkanen. Ectoenzymes controlling leukocyte traffic // *European Journal of Immunology*, Volume 42, Issue 2, pages 284–292, February 2012. DOI: 10.1002/eji.201142223
11. Fidalgo Luis and Sebastian Maerkl, A software-programmable microfluidic device for automated biology // *Lab on a Chip*, Volume 11, pages 1612-1619, 2011. DOI: 10.1039/C0LC00537A
12. Todd Thorsen, Sebastian Maerkl, Stephen Quake, Microfluidic Large-Scale Integration // *Science*, Volume 298, pages 580-584, October 2002. DOI: 10.1126/science.1076996
13. Shirit Einav, Doron Gerber, Paul Bryson, et al, Discovery of a hepatitis C target and its pharmacological inhibitors by microfluidic affinity analysis // *Nature Biotechnology* , Volume 26 , Number 9, Pages 1019-1027, September 2008 . DOI: 10.1038/nbt.1490
14. Sebastian Maerkl, Stephen Quake, A Systems Approach to Measuring the Binding Energy Landscapes of Transcription Factors // *Science*, Volume 315, pages 233-237, Issue 12, January 2007
15. Michelle Khine, Adrian Lau, Cristian Ionescu-Zanetti, et al, A single cell electroporation chip // *Lab Chip*, 2005, Issue 5, pages 38–43 . DOI: 10.1039/b408352k
16. Paul Hung, Philip Lee, Poorya Sabounchi, et al, Continuous Perfusion Microfluidic Cell Culture Array for High-Throughput Cell-Based Assays // Published online 3 December 2004 in Wiley InterScience. DOI: 10.1002/bit.20289
17. Yu Lu, Gang Liu, Luke Lee, High-Density Silver Nanoparticle Film with Temperature-Controllable Interparticle Spacing for a Tunable Surface Enhanced Raman Scattering Substrate // *Nano Letters*, 2005, Volume 5, Issue 1, pages 5–9. DOI: 10.1021/nl048965u
18. Billy Lau, Chris Baitz, Xiao Dong, Carl Hansen, A complete microfluidic screening platform for rational protein crystallization // *Journal of American Chemical Society* , 2007,

- Issue 129, Volume 3, pages 454-455 . DOI: 10.1021/ja065855b
19. Frederick Balagadde, Lingchong You, Carl Hansen, et al, Long-Term Monitoring of Bacteria Undergoing Programmed Population Control in a Microchemostat // *Science*, Vol 309, pages 137-140, 2005. DOI: 10.1126/science.1109173
  20. Alan Diercks, Adrian Ozinsky, Carl Hansen, et al. A microfluidic device for multiplexed protein detection in nano-liter volumes // *Anal Biochem.* 2009; Volume 386, Issue 1, pages 30–35.
  21. Goran Vladislavljevic, J.V. Henry, Wynter Duncanson, et al. Fabrication of Biodegradable Poly(Lactic Acid) Particles in Flow-Focusing Glass Capillary Devices // *Progr Colloid Polym Sci* , Issue 139, 2012. DOI: 10.1007/978-3-642-28974-3\_19 .
  22. Mark Romanowsky, Adam Abate, Assaf Rotem, et al. High throughput production of single core double emulsions in a parallelized microfluidic device // *Lab Chip*, 2012, Issue 12, Volume 802, pages 802-807. DOI: 10.1039/c2lc21033a
  23. Chiara Martino, Shin-Hyun Kim, Louise Horsfall, et al. Protein Expression, Aggregation, and Triggered Release from Polymersomes as Artificial Cell-like Structures // *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2012, Issue 51, pages 6416 –6420. DOI: 10.1002/anie.201201443
  24. Patrick Doyle, Jerome Bibette, Aurelien Bancaud, Jean-Louis Viovy. Self-Assembled Magnetic Matrices for DNA Separation Chips // *Science*, 2002, Volume 295, Issue 22.
  25. Nicolas Minc, Claus Futterer, Kevin Dorfman, et al. Quantitative Microfluidic Separation of DNA in Self-Assembled Magnetic Matrixes // *Analytical Chemistry*, Volume 76, Number 13 , pages 3770-3776. DOI: 10.1021/ac035246b .
  26. Antoine-Emmanuel Salibaa, Laure Saiasa, Eleni Psycharia, et al. Microfluidic sorting and multimodal typing of cancer cells in self-assembled magnetic arrays // *PNAS*, 2010, Volume 107, Number 33, pages 14524–14529. DOI: 10.1073/pnas.1001515107
  27. Krzysztof Churski, Piotr Korczyk, Piotr Garstecki. High-throughput automated droplet microfluidic system for screening of reaction conditions // *Lab on a Chip*, 2010, Issue 10, pages 816–818. DOI: 10.1039/b925500a
  28. Jan Guzowski, Piotr Korczyk, Slawomir Jakielaa, Piotr Garstecki. Automated high-throughput generation of droplets // *Lab on a Chip*, 2011, Issue 11, pages 3593–3595. DOI: 10.1039/c1lc20595a
  29. Krzysztof Churski, Tomasz Kaminski, Slawomir Jakiela, et al. Rapid screening of antibiotic toxicity in an automated microdroplet system // *Lab on a Chip*, 2012, Issue 12, pages 1629–1637 . DOI: 10.1039/c2lc21284f
  30. Marc Schneider, Herve Willaime, Yvette Tran, et al. Wettability Patterning by UV-Initiated Graft Polymerization of Poly(acrylic acid) in Closed Microfluidic Systems of Complex Geometry // *Analytical Chemistry*, Volume 82, Number 21, 2010, pages 8848-8855.
  31. Yves Hennequin, Nicolas Pannacci, Concepcin Pulido de Torres, et al. Synthesizing Microcapsules with Controlled Geometrical and Mechanical Properties with Microfluidic Double Emulsion Technology // *Langmuir* 2009, Issue 25, Volume 14, pages 7857–7861. DOI: 10.1021/la9004449
  32. Valessa Barbier, Michael Tatouliau, Hong Li, et al. Stable Modification of PDMS Surface Properties by Plasma Polymerization: Application to the Formation of Double Emulsions in Microfluidic Systems // *Langmuir* 2006, Volume 22, Number 12, pages 5230-5232 . DOI: 10.1021/la053289c
  33. P. Tabeling . A brief introduction to slippage, droplets and mixing in microfluidic systems // *Lab on a Chip*, 2009, Issue 9, pages 2428–2436 . DOI: 10.1039/b904937c
  34. Jenifer Clausell-Tormos, Diana Lieber, Jean-Christophe Baret, et al. Droplet-Based Microfluidic Platforms for the Encapsulation and Screening of Mammalian Cells and Multicellular Organisms // *Chemistry & Biology*, Volume 15, Issue 8, 2008, Pages 427–437 . DOI: 10.1016/j.chembiol.2008.04.004

35. Sarah Koster, Francesco Angile, Honey Duan, et al. Drop-based microfluidic devices for encapsulation of single cells // *Lab on a Chip*, 2008, Issue 8, pages 1110–1115 . DOI: 10.1039/b802941e
36. Saurabh Vyawahare, Andrew Griffiths, Christoph Merten. Miniaturization and Parallelization of Biological and Chemical Assays in Microfluidic Devices // *Chemistry & Biology*, Volume 17, Issue 10, 29 October 2010, Pages 1052–1065 . DOI: 10.1016/j.chembiol.2010.09.007
37. Feng Shen, Wenbin Du, Jason Kreutz, et al. Digital PCR on a SlipChip // *Lab on a Chip*, 2010, Issue 10, pages 2666–2672. DOI: 10.1039/c004521g
38. Rebecca Pompano, Weishan Liu, Wenbin Du, Rustem Ismagilov. Microfluidics Using Spatially Defined Arrays of Droplets in One, Two, and Three Dimensions // *The Annual Review of Analytical Chemistry* , 2011, Issue 4, pages 59-81. DOI: 10.1146/annurev.anchem.012809.102303
39. Feng Shen, Bing Sun, Jason Kreutz, et al. Multiplexed Quantification of Nucleic Acids with Large Dynamic Range Using Multivolume Digital RT-PCR on a Rotational SlipChip Tested with HIV and Hepatitis C Viral Load // *J. Am. Chem. Soc.* 2011, Issue 133, pages 17705–17712. DOI: 10.1021/ja2060116
40. Shing-Yi Cheng, Steven Heilman, Max Wasserman, et al. A hydrogel-based microfluidic device for the studies of directed cell migration // *Lab on a Chip*, 2007, Issue 7, pages 763–769. DOI: 10.1039/b618463d
41. Ulrike Haessler, Yevgeniy Kalinin, Melody Swartz, Mingming Wu. An agarose-based microfluidic platform with a gradient buffer for 3D chemotaxis studies // *Biomedical Microdevices*, 2009, Volume 11, Number 4, pages 827-835, DOI: 10.1007/s10544-009-9299-3
42. Beum Jun Kim, Mingming Wu. Microfluidics for Mammalian Cell Chemotaxis // *Annals of Biomedical Engineering*, 2012, Volume 40, Number 6, pages 1316-1327, DOI: 10.1007/s10439-011-0489-9
43. Denis Bartolo, Guillaume Degre, Philippe Ngheb, Vincent Studer . Microfluidic stickers // *Lab on a Chip*, 2008, Issue 8, pages 274–279 . DOI: 10.1039/b712368j
44. Jean-Christophe Galas, Denis Bartolo, Vincent Studer. Active connectors for microfluidic drops on demand // *New Journal of Physics*, 2009, Issue 11. DOI: 10.1088/1367-2630/11/7/075027
45. Jong Wook Hong, Vincent Studer, Giao Hang, et al. A nanoliter-scale nucleic acid processor with parallel architecture // *Nature Biotechnology*, 2004 Volume 22, Number 4, pages 435-439. DOI:10.1038/nbt951
46. Michael Kirschbaum, Christian Guernth-Marschner, Solene Cherre, et al. Highly controlled electrofusion of individually selected cells in dielectrophoretic field cages // *Lab on a Chip*, 2012, Issue 12, pages 443–450. DOI: 10.1039/c1lc20818g
47. Michael Kirschbaum, Magnus Sebastian Jaeger, Tim Schenkel, et al. T cell activation on a single-cell level in dielectrophoresis-based microfluidic devices // *Journal of Chromatography A*, 2008, Issue 1202, pages 83–89. DOI: 10.1016/j.chroma.2008.06.036
48. Michael Kirschbaum, Magnus Sebastian Jaeger, Claus Duschl. Correlating short-term Ca<sup>2+</sup> responses with long-term protein expression after activation of single T cells // *Lab on a Chip*, 2009, Issue 9, pages 3517–3525 . DOI: 10.1039/b911865a

49. Chunhong Zheng, Zhilong Yu, Ying Zhou, et al. Live cell imaging analysis of the epigenetic regulation of the human endothelial cell migration at single-cell resolution // *Lab on a Chip*, 2012, Issue 12, pages 3063–3072. DOI: 10.1039/c2lc40192d
50. Chunhong Zheng, Jingwen Wang, Yuhong Pang, et al. High-throughput immunoassay through in-channel microfluidic patterning // *Lab on a Chip*, 2012, Issue 12, pages 2487–2490. DOI: 10.1039/c2lc40145b
51. Jianbin Wang, Ying Zhou, Haiwei Qiu, et al. A chip-to-chip nanoliter microfluidic dispenser // *Lab on a Chip*, 2009, Issue 9, pages 1831–1835. DOI: 10.1039/b901635j
52. Jan Lankelma, Zhihong Nie, Emanuel Carrilho, George Whitesides. Paper-Based Analytical Device for Electrochemical Flow-Injection Analysis of Glucose in Urine // *Analytical Chemistry* 2012, Issue 84, pages 4147–4152. DOI: 10.1021/ac3003648
53. Aaron Mazzeo, William Kalb, Lawrence Chan, et al. Paper-Based, Capacitive Touch Pads // *Advanced Materials*, 2012, Issue 24, pages 2850–2856. DOI: 10.1002/adma.201200137
54. Ramses Martinez, Carina Fish, Xin Chen, George Whitesides. Elastomeric Origami: Programmable Paper-Elastomer Composites as Pneumatic Actuators // *Advanced Functional Materials*, 2012, Issue 22, pages 1376–1384. DOI: 10.1002/adfm.201102978
55. Steve Shih, Hao Yang, Mais Jebrail, et al. Dried Blood Spot Analysis by Digital Microfluidics Coupled to Nanoelectrospray Ionization Mass Spectrometry // *Analytical Chemistry*, 2012, Issue 84, pages 3731–3738. DOI: 10.1021/ac300305s
56. Vivienne Luk, Lindsey Fiddes, Victoria Luk, et al. Digital microfluidic hydrogel microreactors for proteomics // *Proteomics*, 2012, Issue 12, pages 1310–1318. DOI: 10.1002/pmic.201100608
57. Suthan Sriganapalan, Irwin Eydelnant, Craig Simmonsab, Aaron Wheeler. A digital microfluidic platform for primary cell culture and analysis // *Lab on a Chip*, 2012, Issue 12, pages 369–375. DOI: 10.1039/c1lc20844f
58. Hoyin Lai, Albert Folch. Design and dynamic characterization of “single-stroke” peristaltic PDMS micropumps // *Lab on a Chip*, 2011, Issue 11, pages 336–342 . DOI: 10.1039/c0lc00023j
59. Anna Tourovskaia, Xavier Figueroa-Masot, Albert Folch. Differentiation-on-a-chip: A microfluidic platform for long-term cell culture studies // *Lab on a Chip*, 2005, Issue 5, pages 14–19. DOI: 10.1039/b405719h
60. Jacqueline Rettig, Albert Folch. Large-Scale Single-Cell Trapping And Imaging Using Microwell Arrays // *Analytical Chemistry*, Volume 77, Number 17, 2005, pages 5628-5634 . DOI: 10.1021/ac0505977
61. O. Strohmeier, A. Emperle, M. Focke, et al. Magnetic Bead Based Dna Purification On A Disposable Centrifugal Microfluidic Foil Cartridge // *μTAS*, 2010.
62. M. Focke, O. Strohmeier, P. Reith, et al. Centrifugo-Thermopneumatic Liquid Actuation For Microfluidic Genotyping Of Nucleic Acids // *μTAS*, 2011 .
63. Maximilian Focke, Fabian Stumpf, Bernd Faltin, et al. Microstructuring of polymer films for sensitive genotyping by real-time PCR on a centrifugal microfluidic platform // *Lab on a Chip*, 2010, Issue 10, pages 2519–2526 . DOI: 10.1039/c004954a
64. Elain Fu, Stephen Ramsey, Peter Kauffman, et al. Transport in two-dimensional paper networks // *Microfluidics and Nanofluidics*, Volume 10, Number 1, 2011, pages 29-35. DOI: 10.1007/s10404-010-0643-y

65. Elain Fu, Barry Lutz, Peter Kauffman, Paul Yager. Controlled reagent transport in disposable 2D paper networks // *Lab on a Chip*, 2010, Issue 10, pages 918–920. DOI: 10.1039/b919614e
66. Jennifer Osborn, Barry Lutz, Elain Fu, et al. Microfluidics without pumps: reinventing the T-sensor and H-filter in paper networks // *Lab on a Chip*, 2010, Issue 10, pages 2659–2665. DOI: 10.1039/c004821f
67. Elain Fu, Tinny Liang, Paolo Spicar-Mihalic, et al. Two-Dimensional Paper Network Format That Enables Simple Multistep Assays for Use in Low-Resource Settings in the Context of Malaria Antigen Detection // *Analytical Chemistry*, 2012, 84 (10), pages 4574–4579. DOI: 10.1021/ac300689s
68. Pavel Neuzil, Stefan Giselbrecht, Kerstin Lange, et al. Revisiting lab-on-a-chip technology for drug discovery // *Nature Reviews Drug Discovery*, 2012, Issue 11, pages 620–632. DOI: 10.1038/nrd3799
69. Arun Arora, Giuseppina Simone, Georgette Salieb-Beugelaar, et al. Latest Developments in Micro Total Analysis Systems // *Analytical Chemistry*, 2010, Volume 82, Number 12, pages 4830–4847. DOI: 10.1021/ac100969k
70. Georgette Salieb-Beugelaar, Giuseppina Simone, Arun Arora, et al. Latest Developments in Microfluidic Cell Biology and Analysis Systems // *Analytical Chemistry*, Volume 82, Number 12, 2010, pages 4848–4864. DOI: 10.1021/ac1009707
71. Shutao Wang, Kan Liu, Jian Liu, et al. Highly Efficient Capture of Circulating Tumor Cells by Using Nanostructured Silicon Substrates with Integrated Chaotic Micromixers // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2011, Volume 50, pages 3084–3088. DOI: 10.1002/anie.201005853
72. Hao Wang, Kan Liu, Kuan-Ju Chen, et al. A Rapid Pathway Toward a Superb Gene Delivery System: Programming Structural and Functional Diversity into a Supramolecular Nanoparticle Library // *American chemical society*, 2010, Volume 4, Number 10, pages 6235–6243. DOI: 10.1021/nn101908e
73. Wilhelm Huck. Polymer networks take a bow // *Nature*, 2011, Volume 472, pages 425–426. DOI: 10.1038/472425a
74. Jie Pan, Anna Stephenson, Elena Kazamia, et al. Quantitative tracking of the growth of individual algal cells in microdroplet compartments // *Integrative Biology*, 2011, Volume 3, pages 1043–1051. DOI: 10.1039/c1ib00033k
75. Jane Dickerson, Lauren Ramsay, Oluwatosin Dada, et al. Two-dimensional capillary electrophoresis: Capillary isoelectric focusing and capillary zone electrophoresis with laser-induced fluorescence detection // *Electrophoresis*, 2010, Volume 31, pages 2650–2654. DOI: 10.1002/elps.201000151
76. Oluwatosin Dada, David Essaka, Ole Hindsgaul, et al. Nine Orders of Magnitude Dynamic Range: Picomolar to Millimolar Concentration Measurement in Capillary Electrophoresis with Laser Induced Fluorescence Detection Employing Cascaded Avalanche Photodiode Photon Counters // *Analytical Chemistry*, 2011, Volume 83, Issue 7, pages 2748–2753. DOI: 10.1021/ac103374x
77. Roza Wojcik, Michael Vannatta, Norman Dovichi. Automated Enzyme-Based Diagonal Capillary Electrophoresis: Application to Phosphopeptide Characterization // *Analytical Chemistry*, 2010, Volume 82, Issue 4, pages 1564–1567. DOI: 10.1021/ac100029u
78. Doron Gerber, Sebastian Maerkl, Stephen Quake. An in vitro microfluidic approach to generating protein-interaction networks // *Nature Methods*, Volume 6, Number 1, 2009,

pages 71 -74. DOI: 10.1038/NMETH.1289

79. Polly Fordyce, Doron Gerber, Danh Tran, et al. De novo identification and biophysical characterization of transcription-factor binding sites with microfluidic affinity analysis // *Nature Biotechnology* , 2010, Volume 28, Number 9, pages 970-976. DOI:10.1038/nbt.1675
80. Xavier Casadevall i Solvas, Xize Niu, Katherine Leeper, et al. Fluorescence detection methods for microfluidic droplet platforms // *The Journal of Visualized Experiments*, 2011, Volume 58, e3437. DOI: 10.3791/3437.
81. Michael Cecchini, Jongin Hong, Chaesung Lim, et al. Ultrafast Surface Enhanced Resonance Raman Scattering Detection in Droplet-Based Microfluidic Systems // *Analytical Chemistry*, 2011, Volume 83, pages 3076–3081 . DOI: 10.1021/ac103329b
82. Ali Salehi-Reyhani, Joseph Kaplinsky, Edward Burgin, et al. A first step towards practical single cell proteomics: a microfluidic antibody capture chip with TIRF detection // *Lab on a Chip*, 2011, Issue 11, pages 1256–1261 . DOI: 10.1039/c0lc00613k
83. Claire Stanley, Robert Wootton, Andrew deMello. Continuous and Segmented Flow Microfluidics: Applications in High- throughput Chemistry and Biology // *Chimia*, 2012, Volume 66, Number 3 , pages 88-98. DOI: 10.2533/chimia.2012.88
84. Daan Witters, Nicolas Vergauwe, Rob Ameloot, et al. Digital Microfluidic High-Throughput Printing of Single Metal-Organic Framework Crystals // *Advanced Materials*, 2012, Volume 24, pages 1316–1320 . DOI: 10.1002/adma.201104922
85. Daan Witters, Nicolas Vergauwe, Steven Vermeir, et al. Biofunctionalization of electrowetting-on-dielectric digital microfluidic chips for miniaturized cell-based applications // *Lab Chip*, 2011, Issue 11, pages 2790–2794 . DOI: 10.1039/c1lc20340a
86. Jos Quist, Kjeld Janssen, Paul Vulto, et al. Single-Electrolyte Isotachopheresis Using a Nanochannel-Induced Depletion Zone // *Analytical Chemistry*, 2011, Volume 83, pages 7910–7915 . DOI: 10.1021/ac2018348