

Mikrosystemy polimerowe do zastosowań w bioanalizie

Dr hab. inż. Artur Dybko

Wydział Chemiczny

Politechnika Warszawska

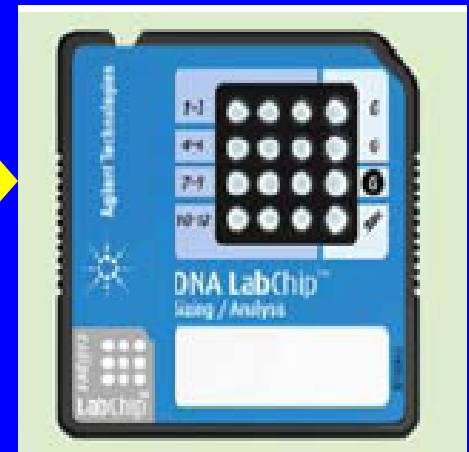
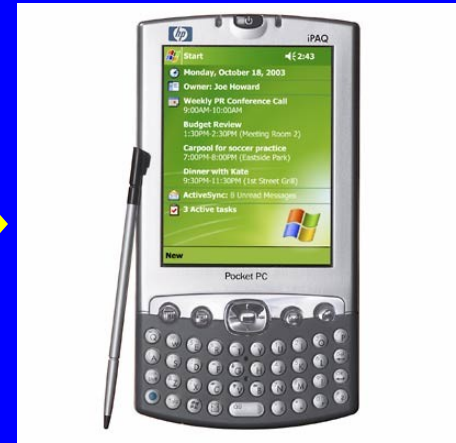
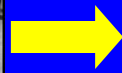
<http://csrg.ch.pw.edu.pl>



Plan

- Wstęp
- Technologie wytwarzania mikrosystemów
- Przykłady oznaczania bioanalitów
- Podsumowanie

Miniaturyzacja





Analiza chemiczna XXI wieku

Wymagania:

- mała objętość próbki
- małe zużycie odczynników
- krótki czas analizy
- automatyzacja pomiarów
- niski koszt analizy

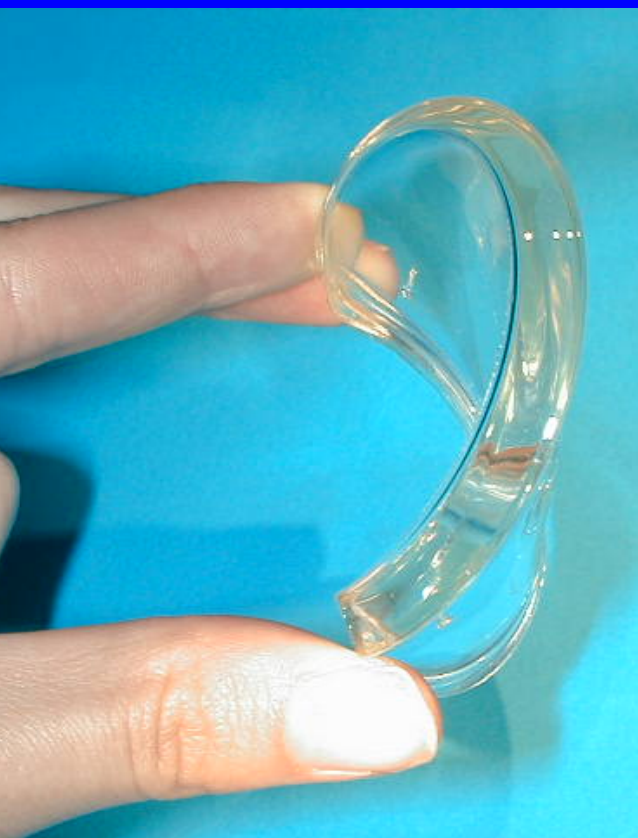


Technologie wytwarzania mikrostruktur

- Krzem
- Szkło
- Ceramika
- Polimetakrylan
- Poliwęglan
- Poli(dimetylosiloksan) (PDMS)

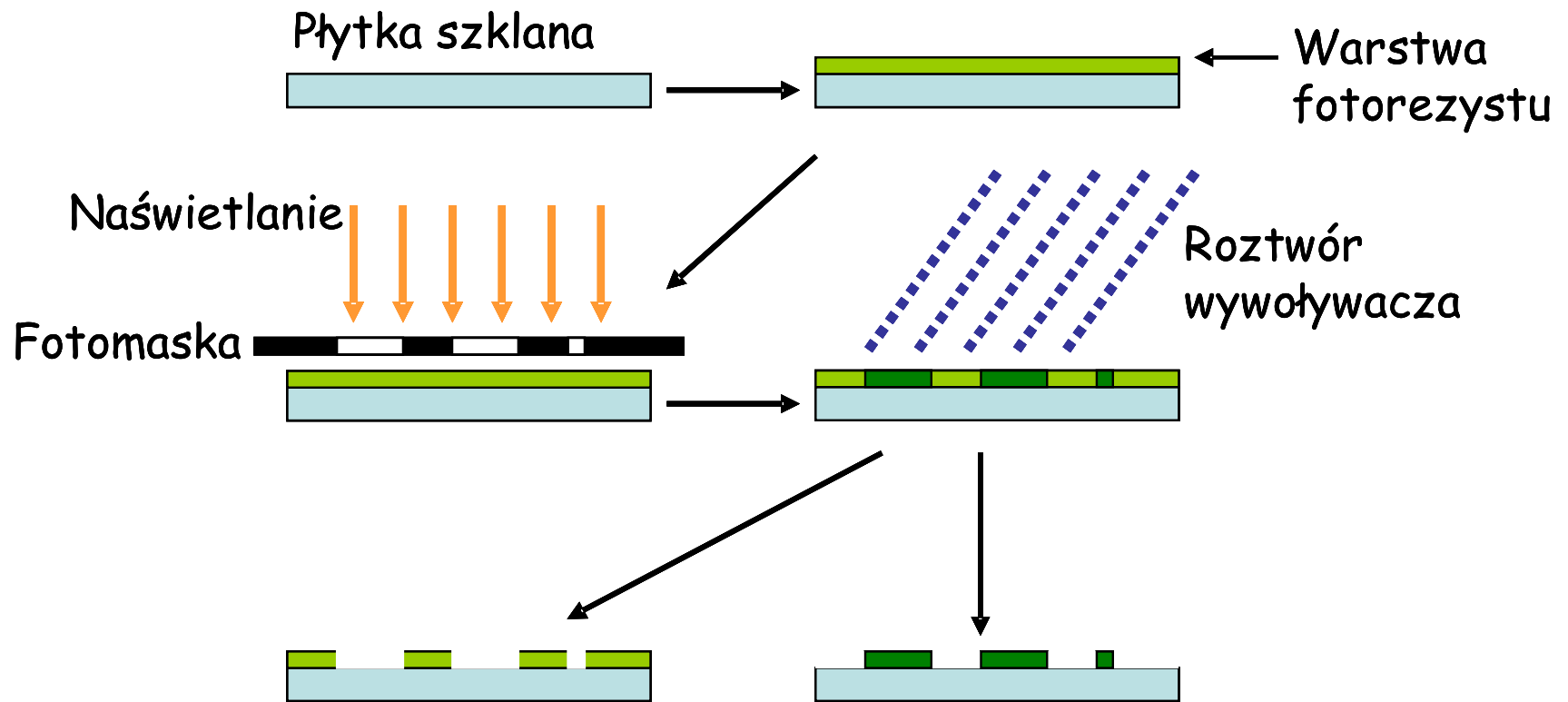


Własności PDMSu



- komercyjnie dostępny
- przezroczysty
- stabilny termicznie - 50 do + 200°C
- materiał tani
- prosta technologia
- korzystne własności optyczne, $n=1.43$
- łatwość łączenia z innymi materiałami

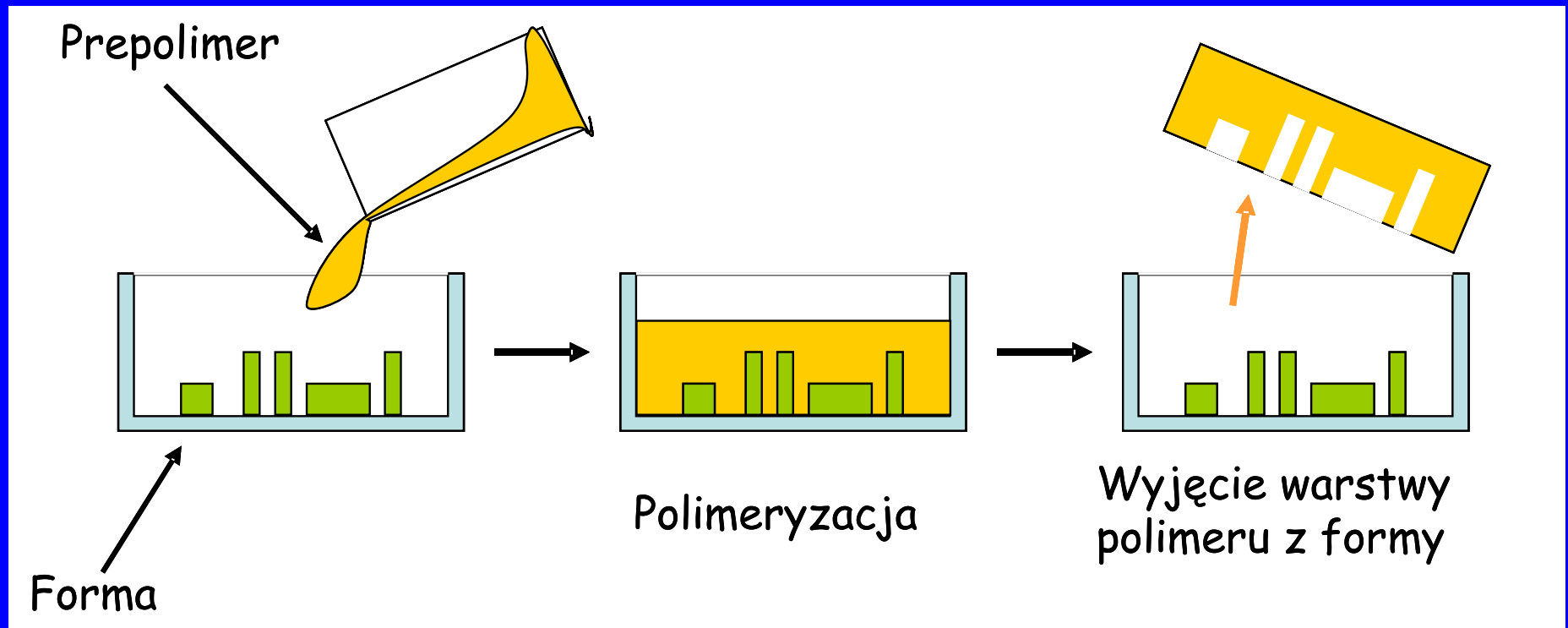
Technologia PDMS



pieczęć



Technologia PDMS





Fotolitografia - pieczętka

Fotorezyst SU-8 50 opis procesu (1AD/50):

Podłoże – płytka szklana (szkło borokrzemowe), średnica 50 mm, grubość 1.1 mm
Grubość warstwy fotorezystu – 50 μm

6. Czyszczenie podłoża

- myjka ultradźwiękowa: stężony H_2SO_4 , czas 30 min lub $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$
- płukanie: woda dejonizowana
- suszenie: azot

11. Dehydratacja

- hotplate: 200 °C, czas: 5 min
- ochłodzić do temperatury pokojowej

15. Spin coating

- objętość SU8: 3 ml
- obroty: 500 rpm (przyspieszenie 100 rpm/s), czas łącznie z przyspieszaniem: 10 s
- obroty: 2000 rpm (przyspieszenie 300 rpm/s), czas łącznie z przyspieszaniem: 30 s



Fotolitografia - pieczętka

2. Soft bake

- włączona hotplate: 65 °C, czas: 6 min
- hotplate: 95 °C, czas: 20 min
- wyłączyć hotplate, ochłodzić do temperatury pokojowej

7. Naświetlanie

- i-linia (365 nm), energia: 200 mJ/cm², czas: 90 s

10. Post exposure bake

- włączona hotplate: 65 °C, czas: 3 min
- hotplate: 95 °C, czas: 10 min
- wyłączyć hotplate, ochłodzić do temperatury pokojowej

15. Wywoływanie

- p. wywoływacz Microchem, czas: 6 min, roztwór powinien być mieszany

18. Obróbka końcowa

- s. płytkę przemyć alkoholem izopropylowym a następnie wodą destylowaną
- t. suszenie w delikatnym strumieniu powietrza



Pieczątka wykonana z SU8

- fotorezyst epoksydowy
- możliwość wykonywania struktur o wysokościach od 500 nm do 2 mm
- struktury o wysokim współczynniku kształtu (nawet 10:1)
- wysoka odporność na rozpuszczalniki, kwasy i zasady

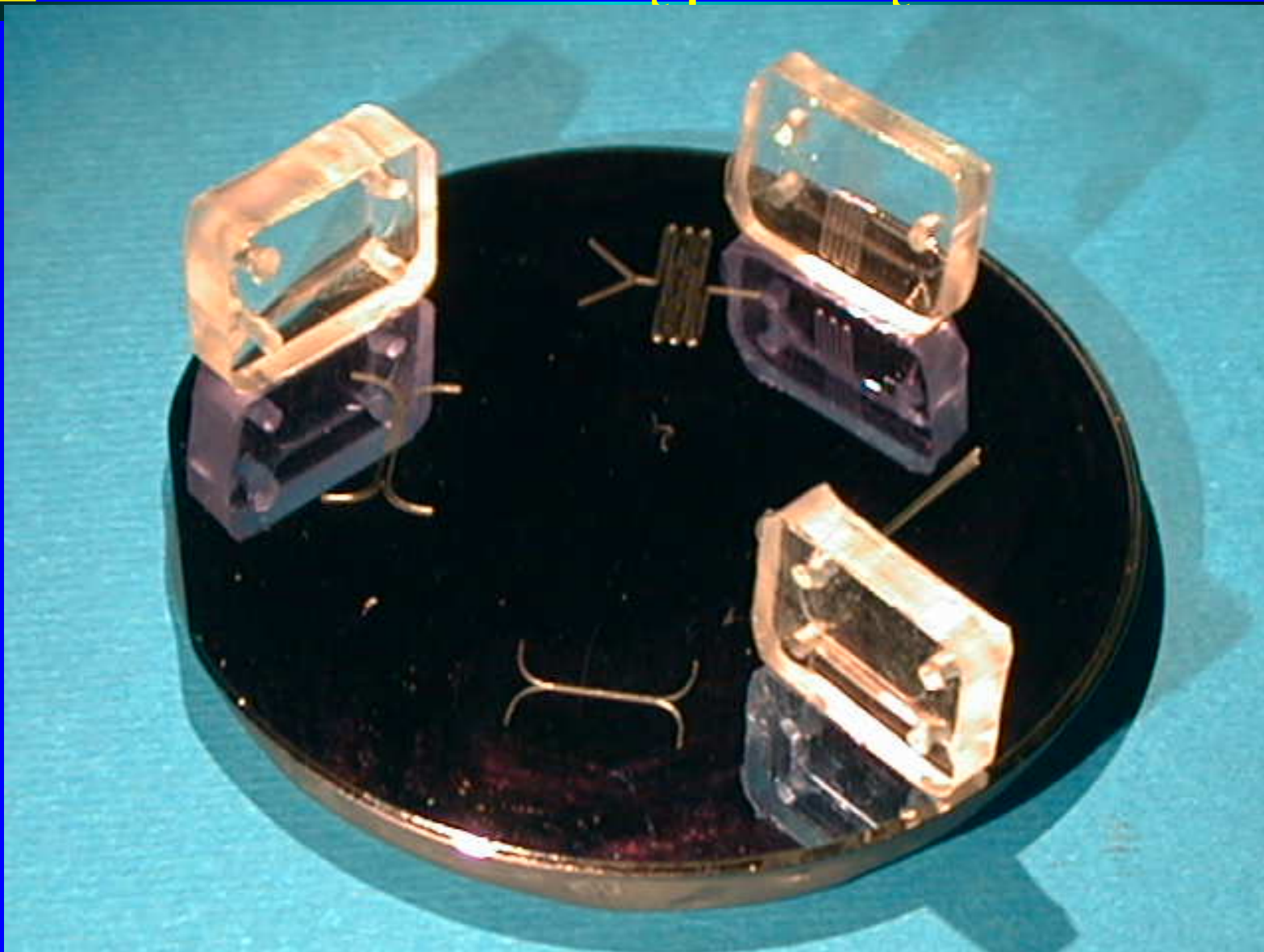


Pieczątka wykonana z SU8

- bardzo drogie zaplecze sprzętowe (*cleanroom, spin-coating*)
- podłoże krzemowe, szklane
- duże naprężenia wewnętrzne powstające podczas sieciowania
- wysoki koszt wytworzenia pieczętki
- skomplikowana i długotrwała procedura

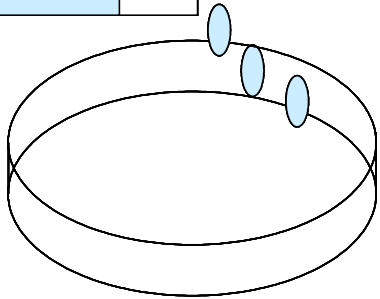


Przykładowe struktury wykonane metodą pieczętki

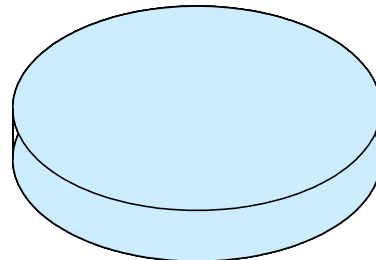


Technologia PDMS

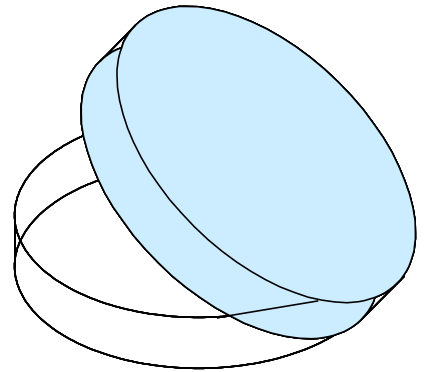
PDMS



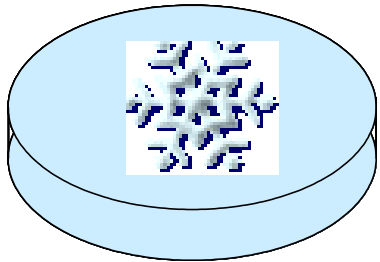
Wylanie PDMS do formy



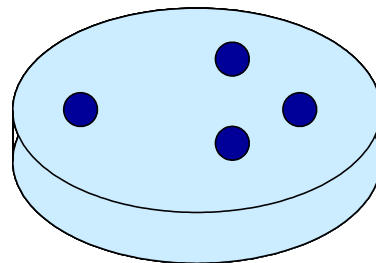
Polimeryzacja (2h, 60°C)



Wyjęcie plastra PDMS

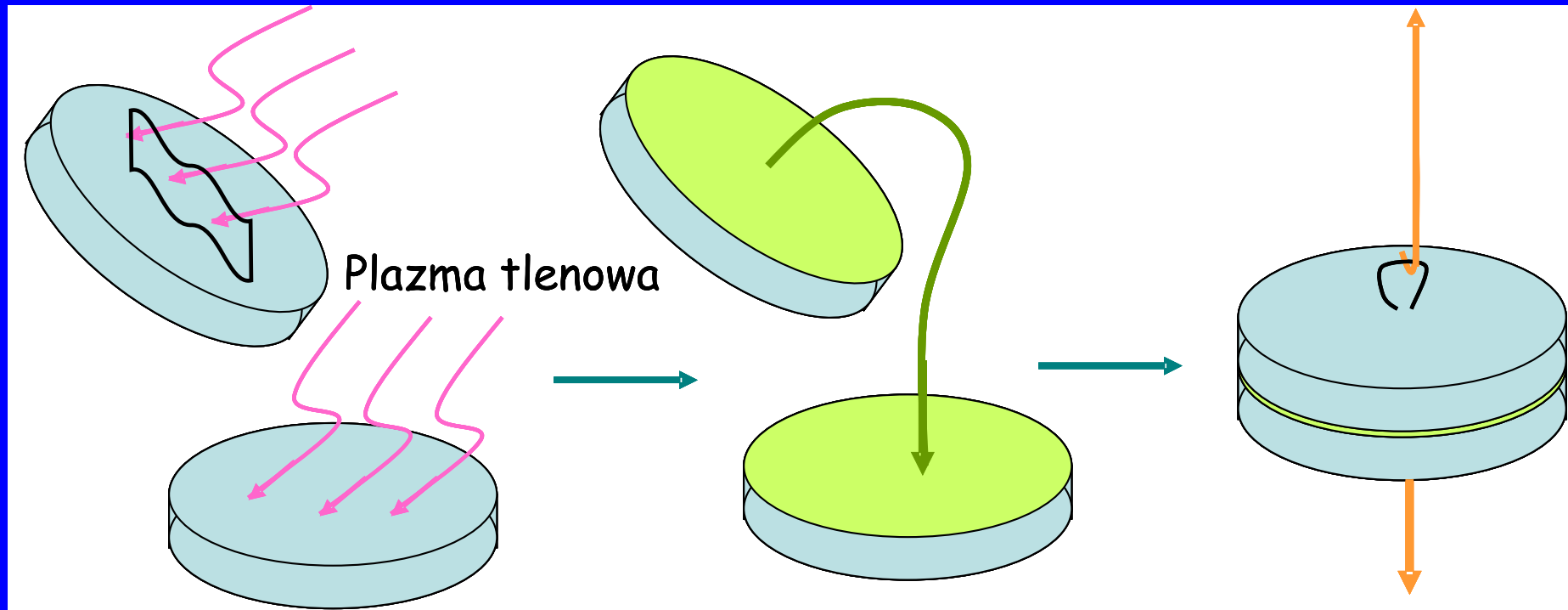


Zamrożenie w ciekłym azocie



Wywiercenie otworów

Bonding mikrosystemu





Możliwość łączenia różnych materiałów

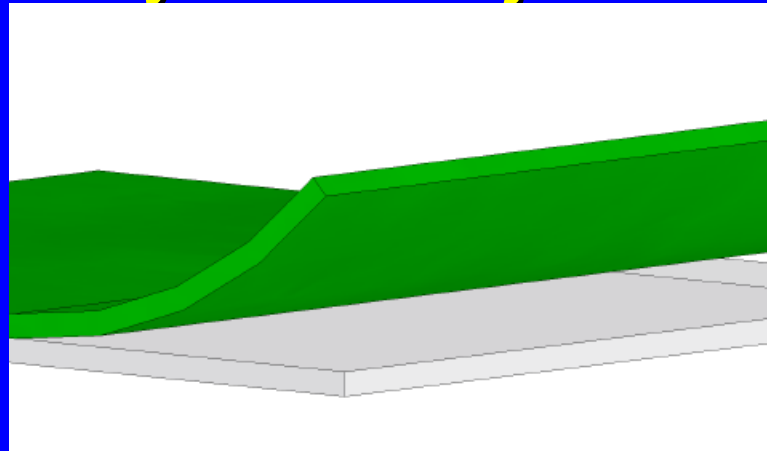
PDMS można łączyć z:

- PDMS-em
- Szklęm
- Azotkiem krzemu
- Innymi polimerami
- Ceramiką szkliwioną



Nowa technologia wytwarzania pieczętki - materiały

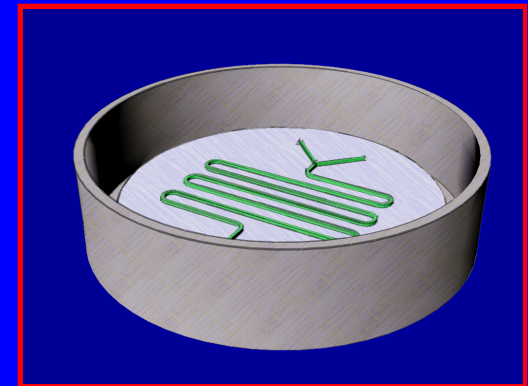
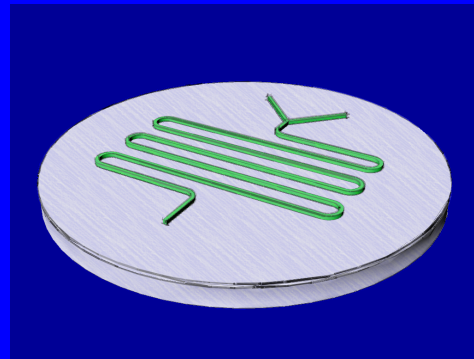
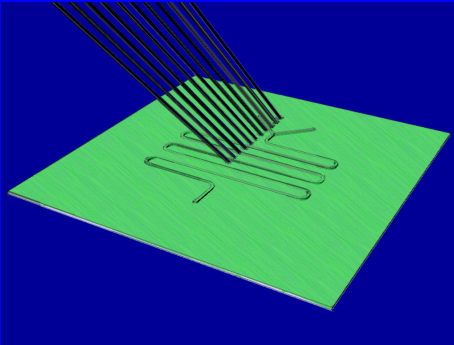
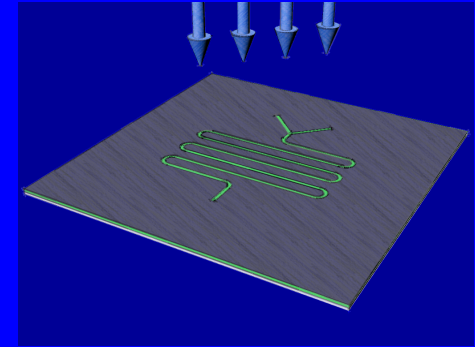
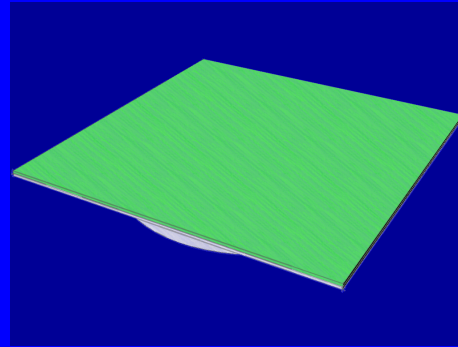
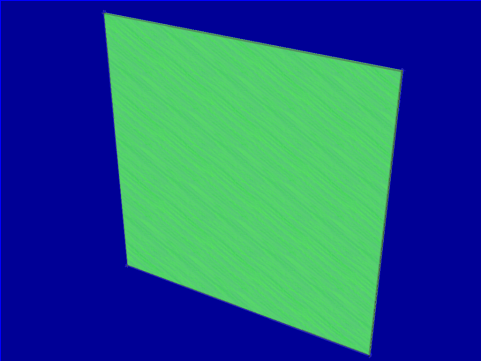
Film kapilarny – emulsja światłoczuła na



- dostępne w różnych grubościach (od 15 μm do 700 μm)
- naświetlanie światłem UV powoduje miejscowe sieciowanie
- wywoływanie strumieniem wody



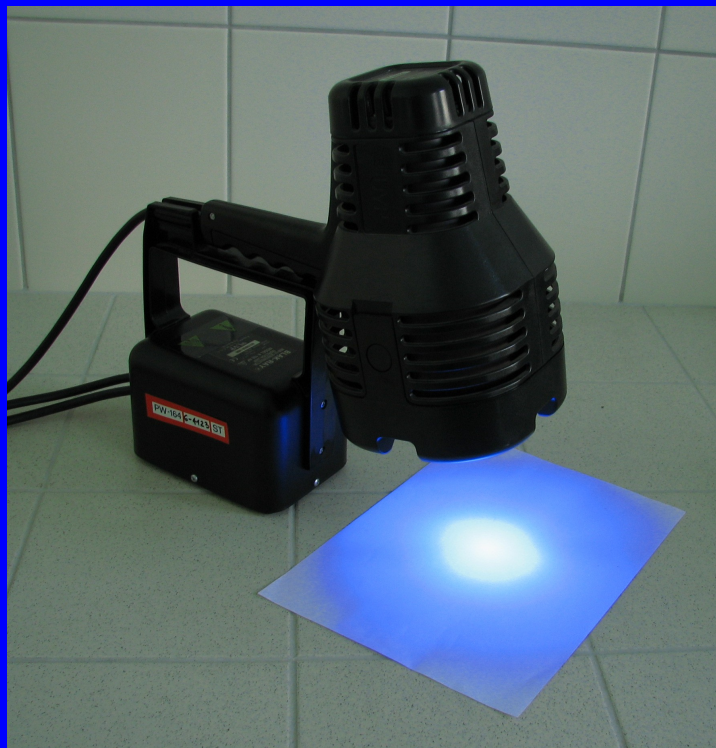
Nowa technologia wytwarzania pieczętki - procedura





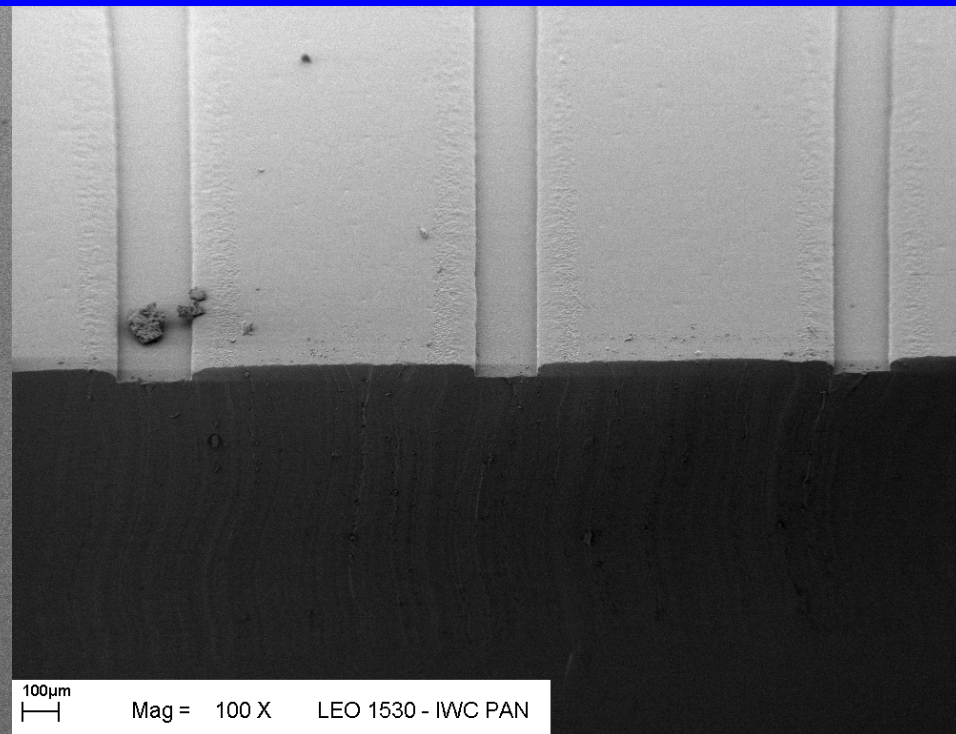
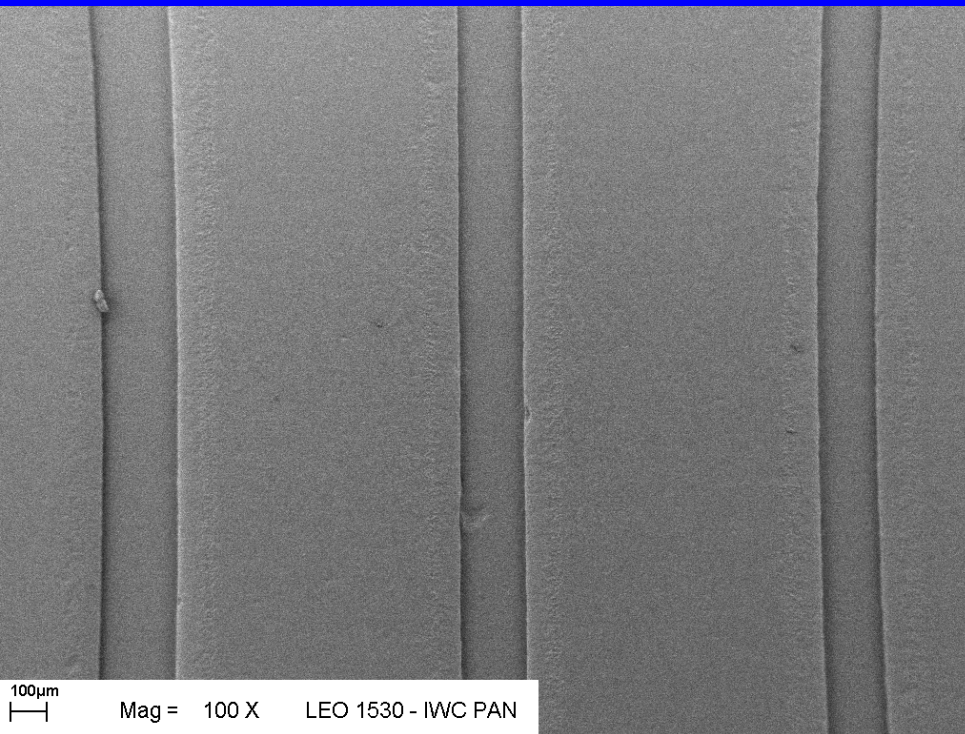
Nowa technologia wytwarzania pieczętki - sprzęt

- źródło światła UV
- dysza wodna
- ciemnia (z żółtym oświetleniem)



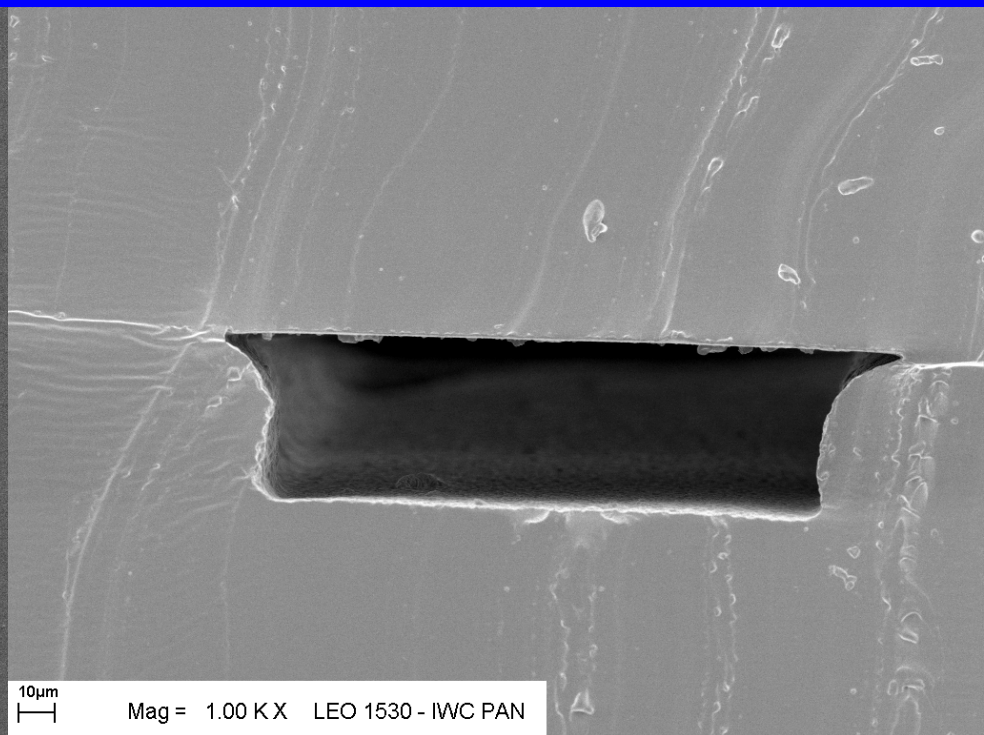
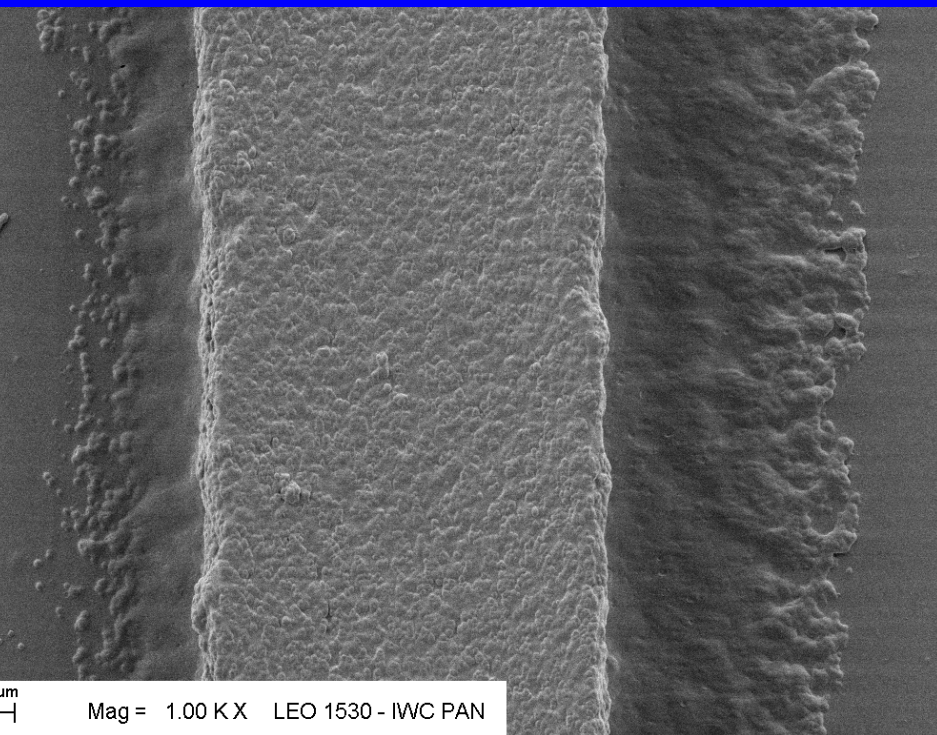


Nowa technologia zdjęcia mikrokanalów





Nowa technologia zdjęcia mikrokanalów





Zalety opracowanej technologii

- bardzo szybkie wykonanie pieczętki (20-30 minut)
- skrócenie czasu wykonania całego mikroukładu do 2-3 godzin
- prosta procedura
- niski koszt wytworzenia (poniżej 1 zł)
- wywoływanie strumieniem wody (brak rozpuszczalników)

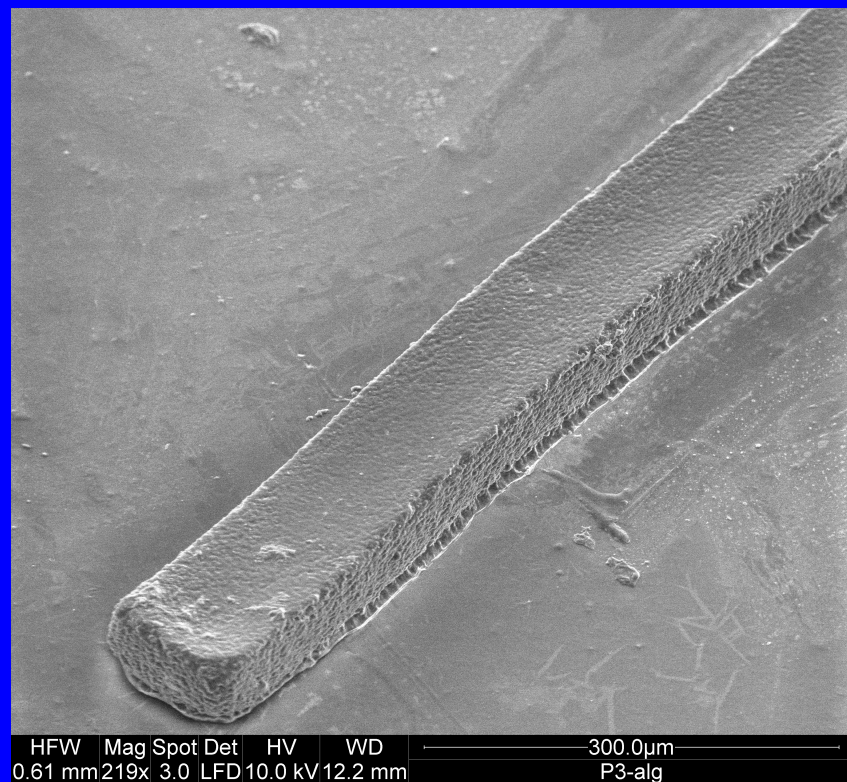
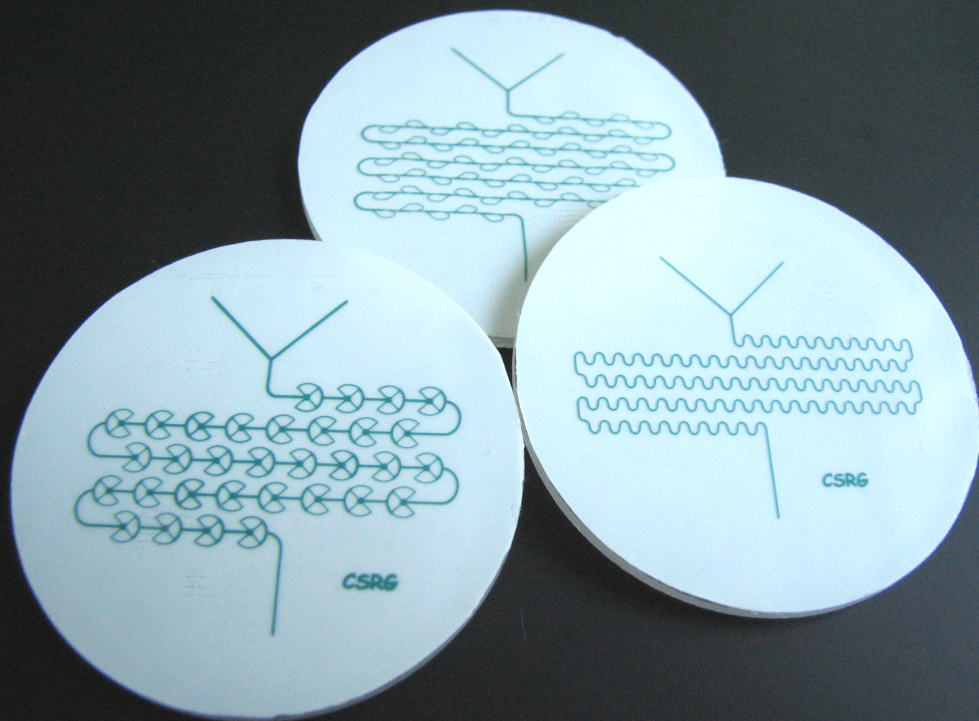


Wady

- brak możliwości wykonania struktur o wysokim współczynnikiem kształtu
- konieczność optymalizacji procesu wywoływania dla różnych grubości filmów kapilarnych
- przekrój kanału nie jest prostokątny

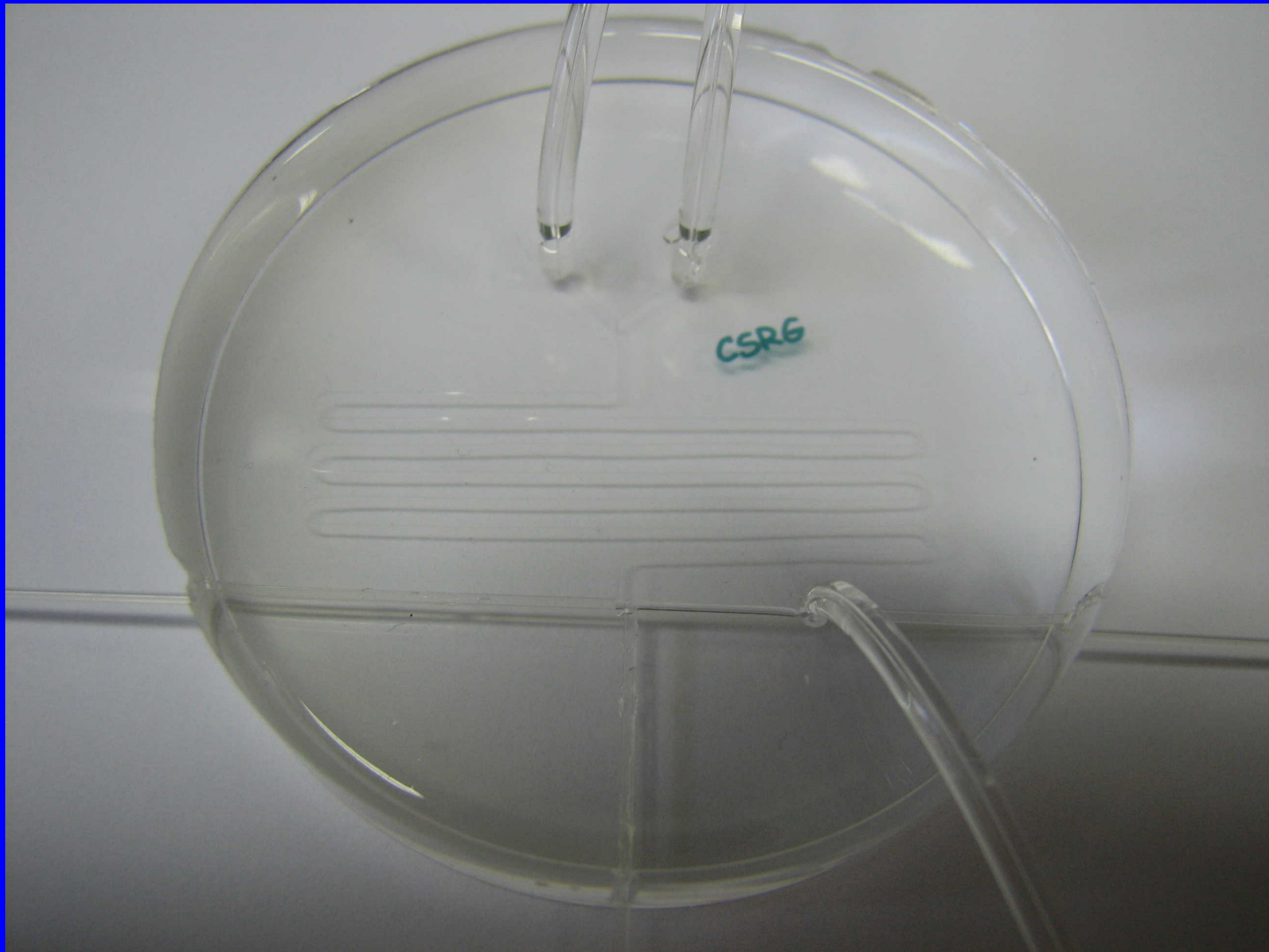


Przykładowe pieczętki z filmu kapilarnego



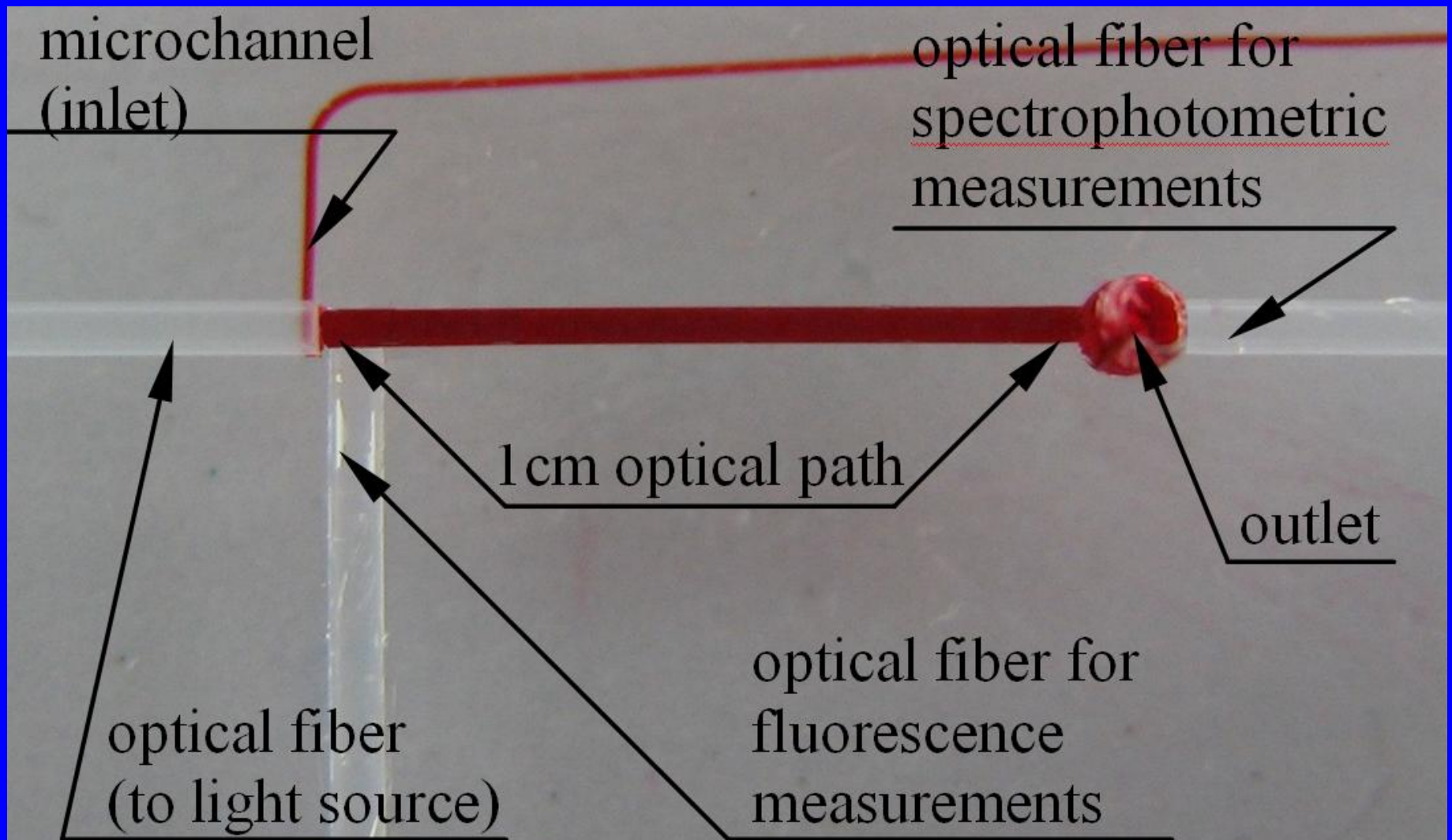


Przykładowy mikroukład



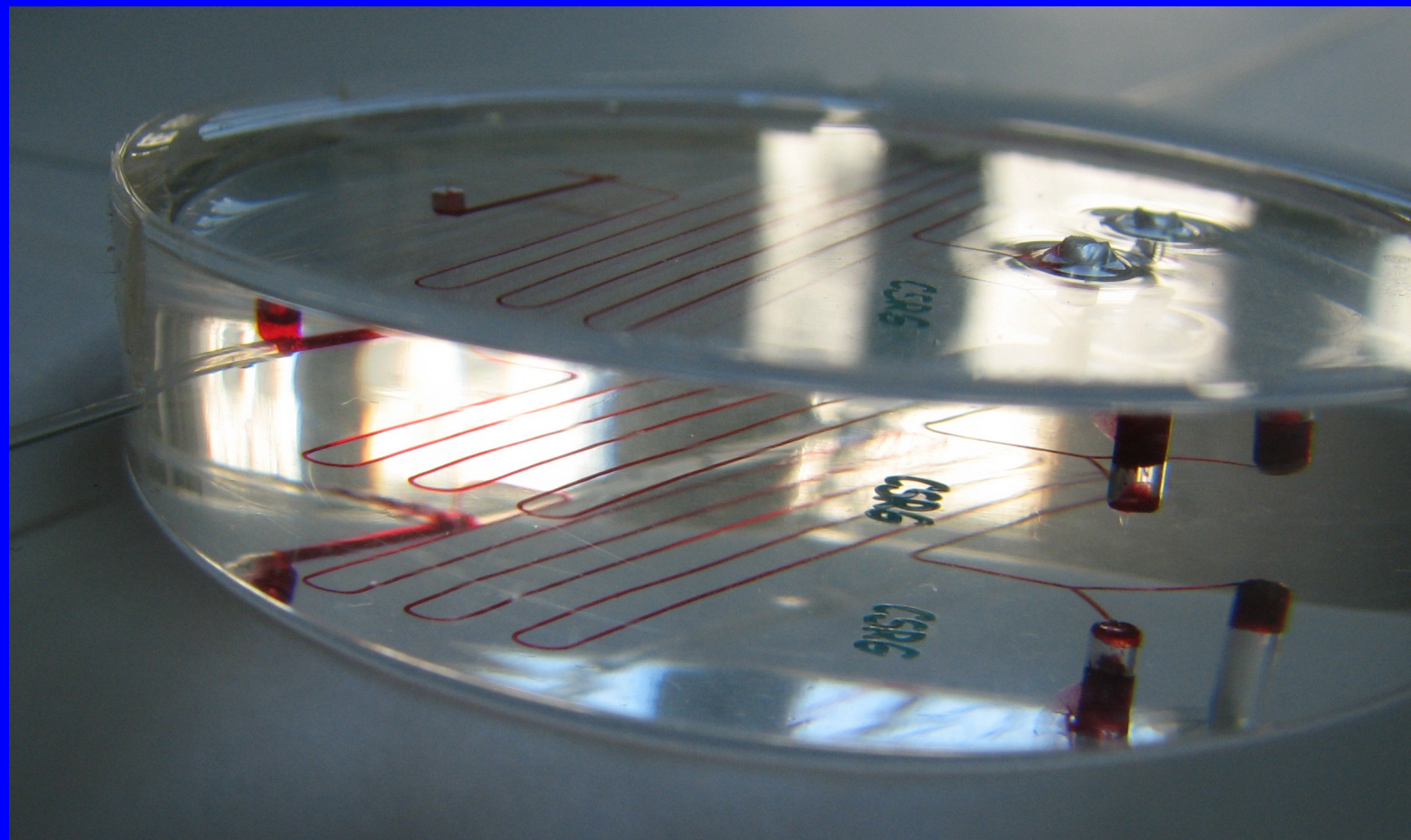


Detekcja optyczna w mikrosystemie





Mikroukład monolityczny (bez bondowania)





Przykłady oznaczania bioanalitów



Mikrostruktura do oznaczania kreatyniny

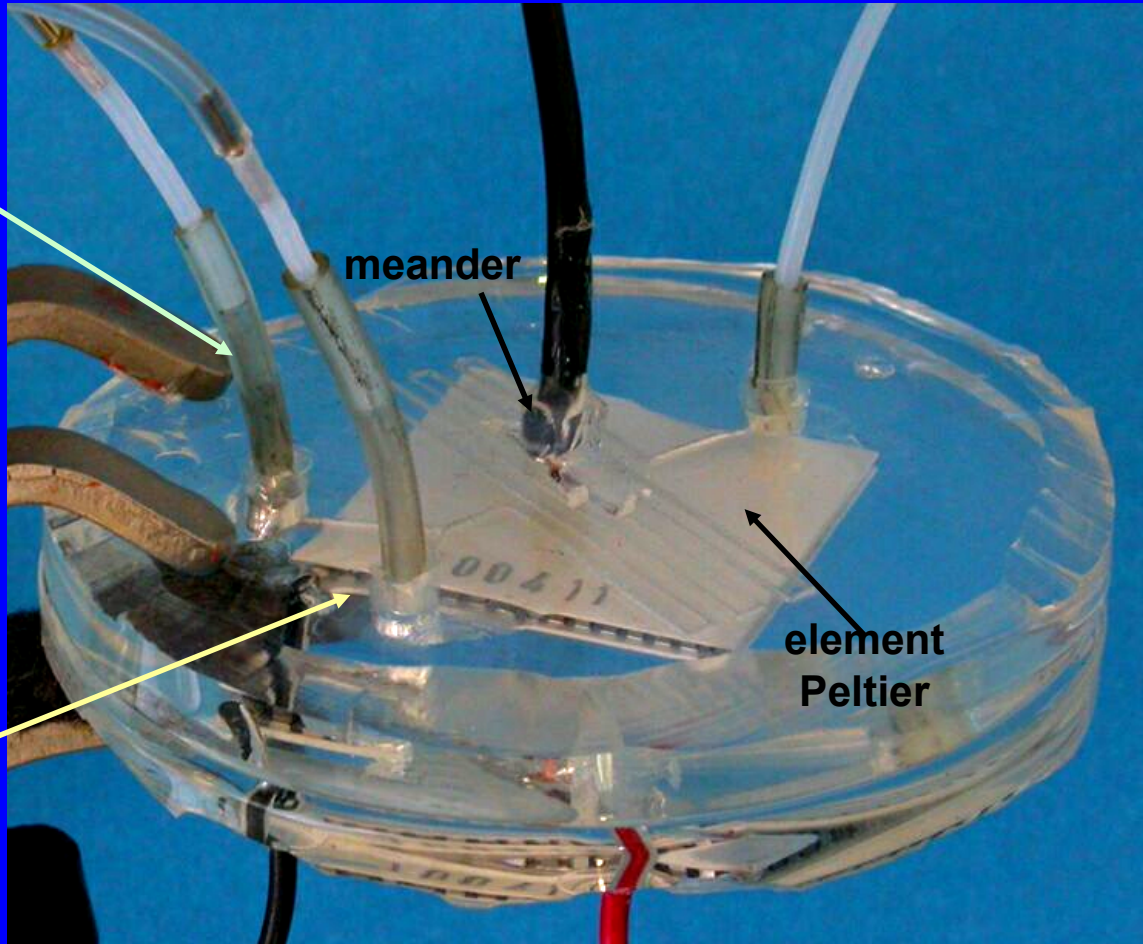
Wylot do detektora

Wlot próbki

meander

element Peltier

Odczynnik kompleksujący



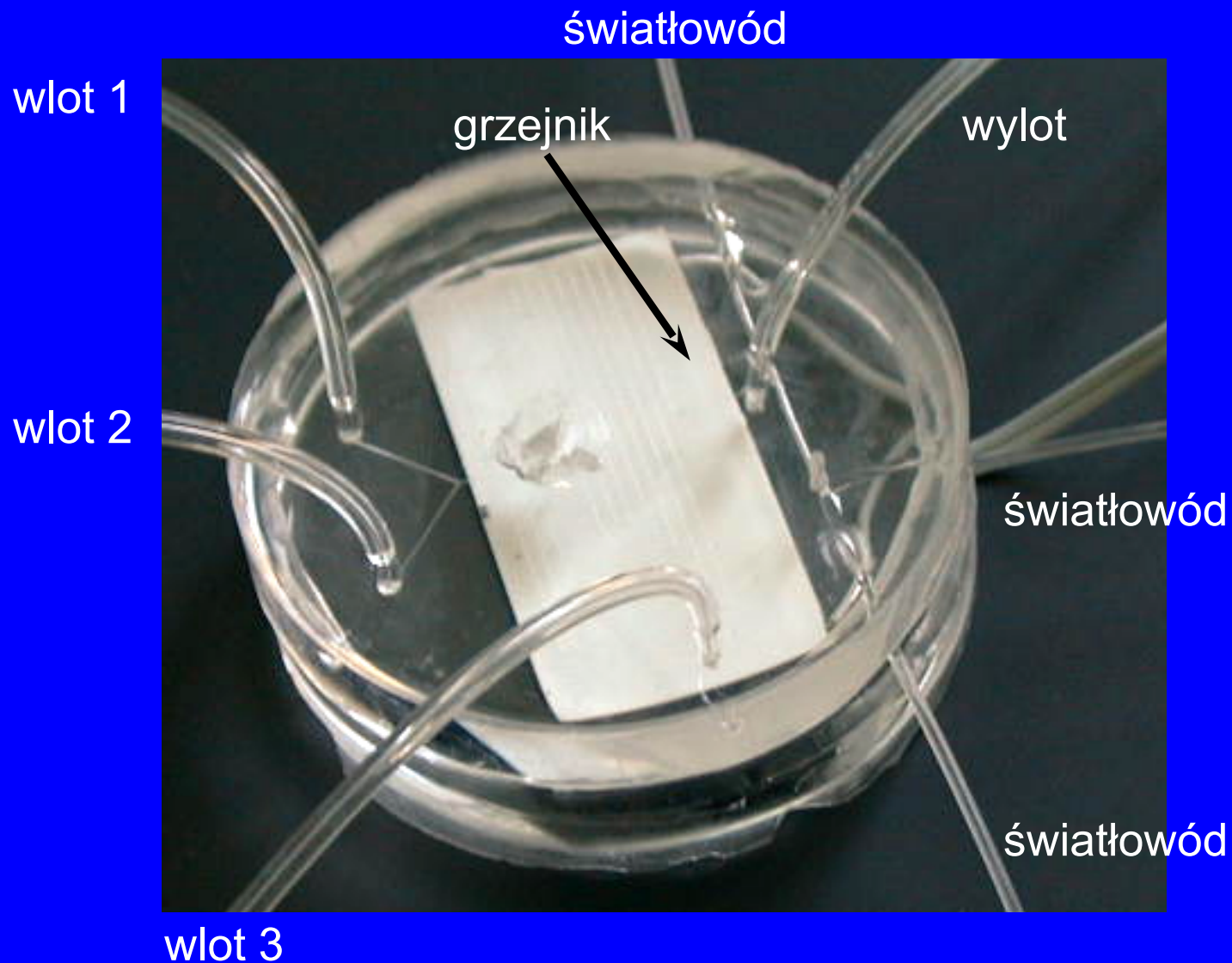


Wyniki oznaczeń kreatyniny

próbka	Stężenie kreatyniny [mg/ml]	
	mikroukład	laboratorium kliniczne
Płyn podializacyjny (1)	36.06 ± 1.73	32.32
Płyn podializacyjny(2)	37.96 ± 1.82	31.41
Mocz	352.63 ± 16.92	363.86

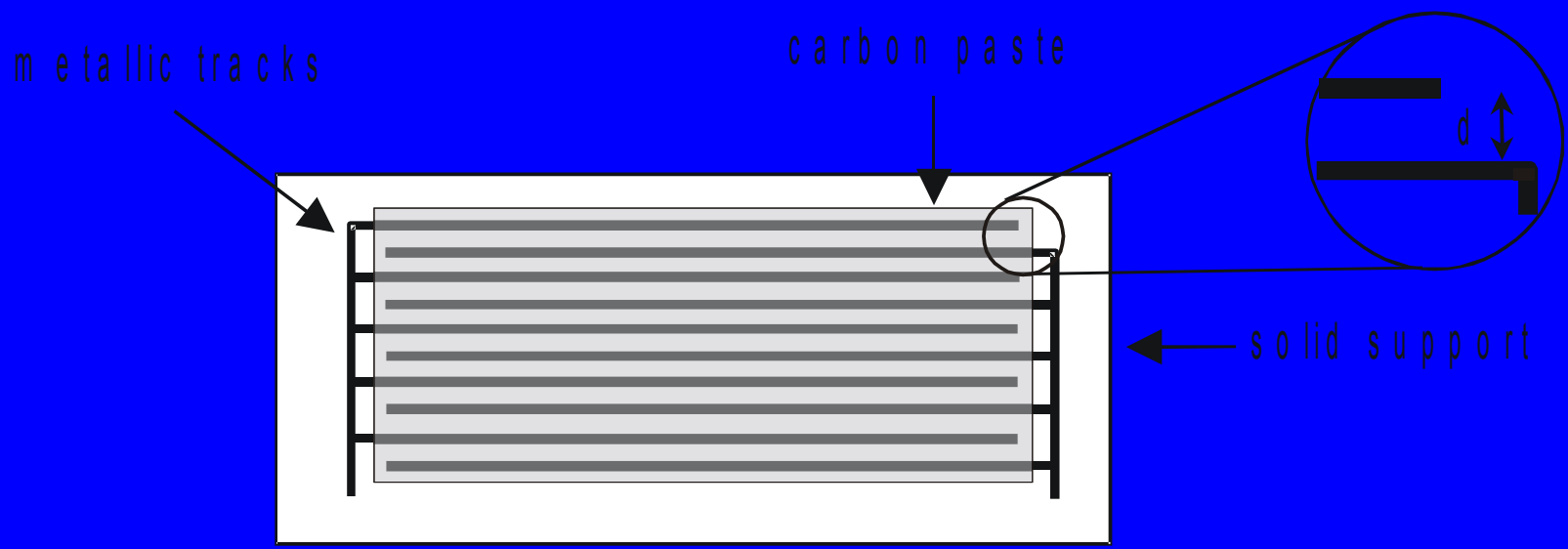


Mikrostruktura do oznaczania kwasu moczowego



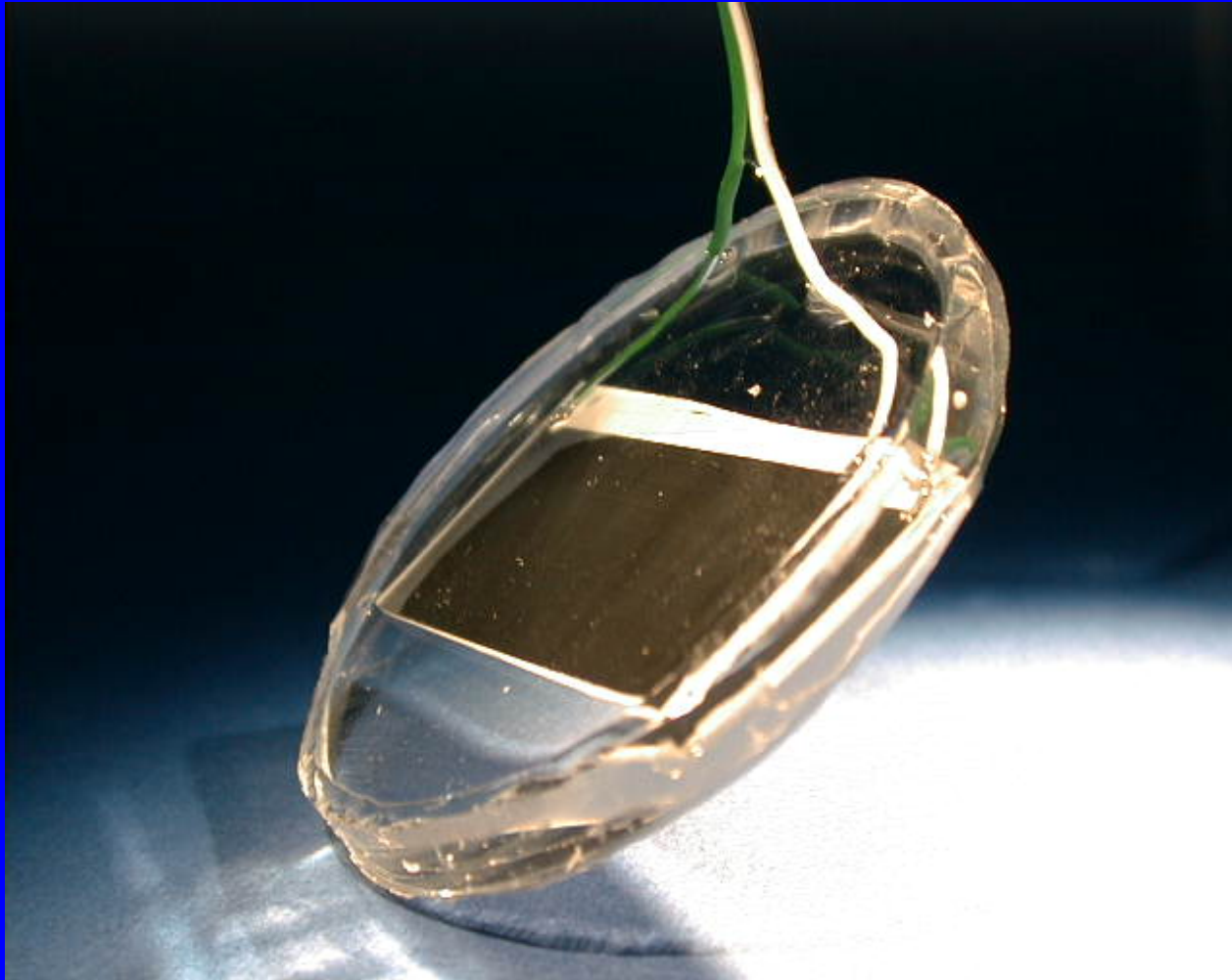


Grzałka na podłożu ceramicznym



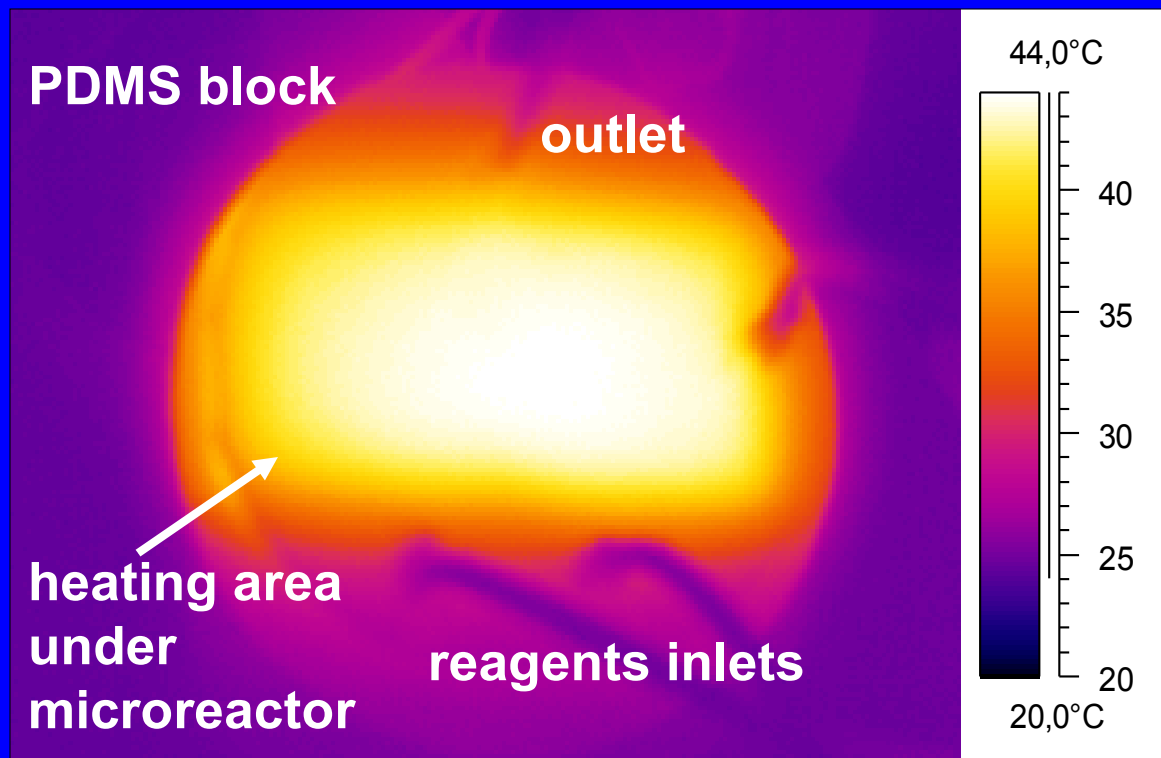


Grzałka na podłożu ceramicznym





Grzałka na podłożu ceramicznym

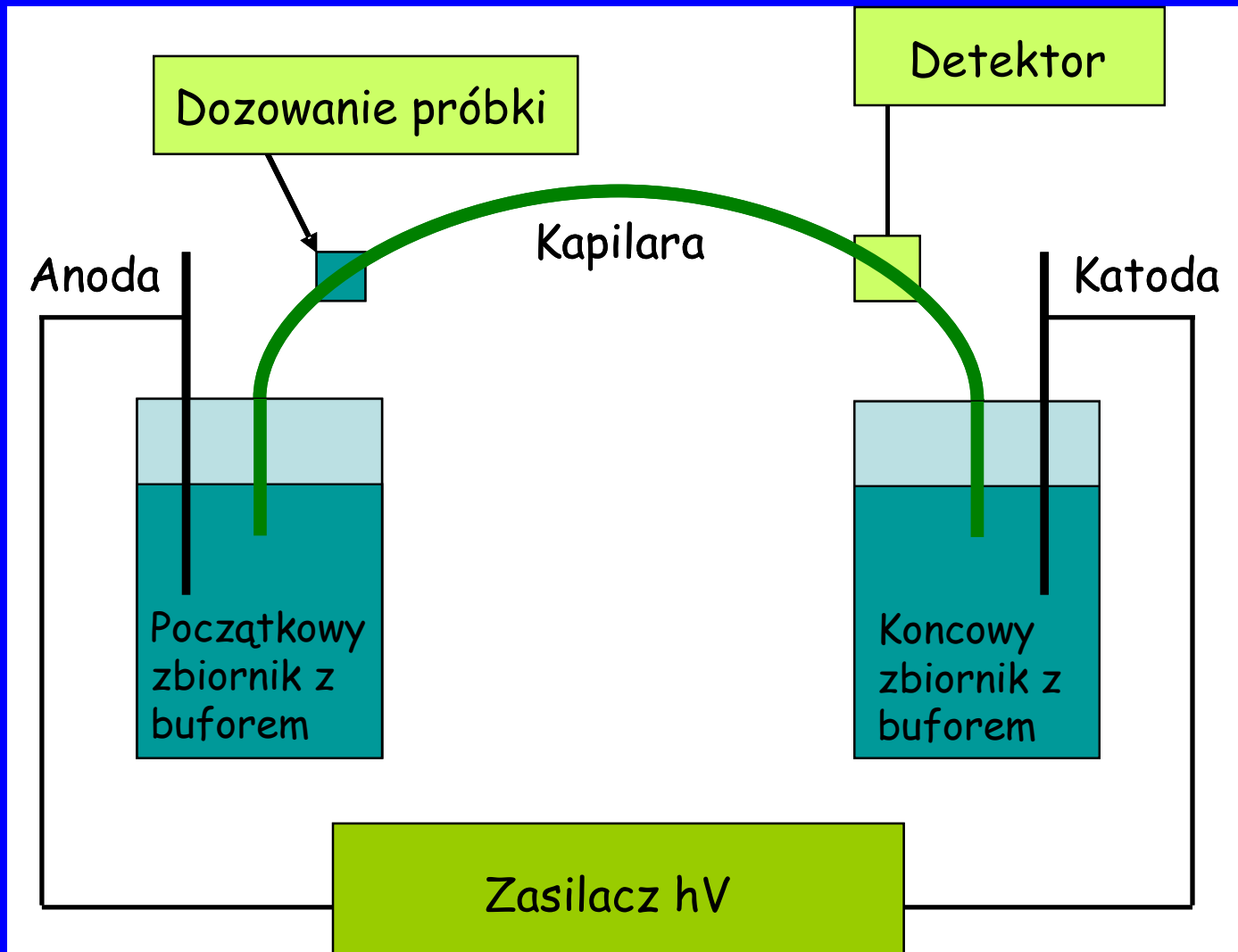




Wyniki oznaczeń kwasu moczowego

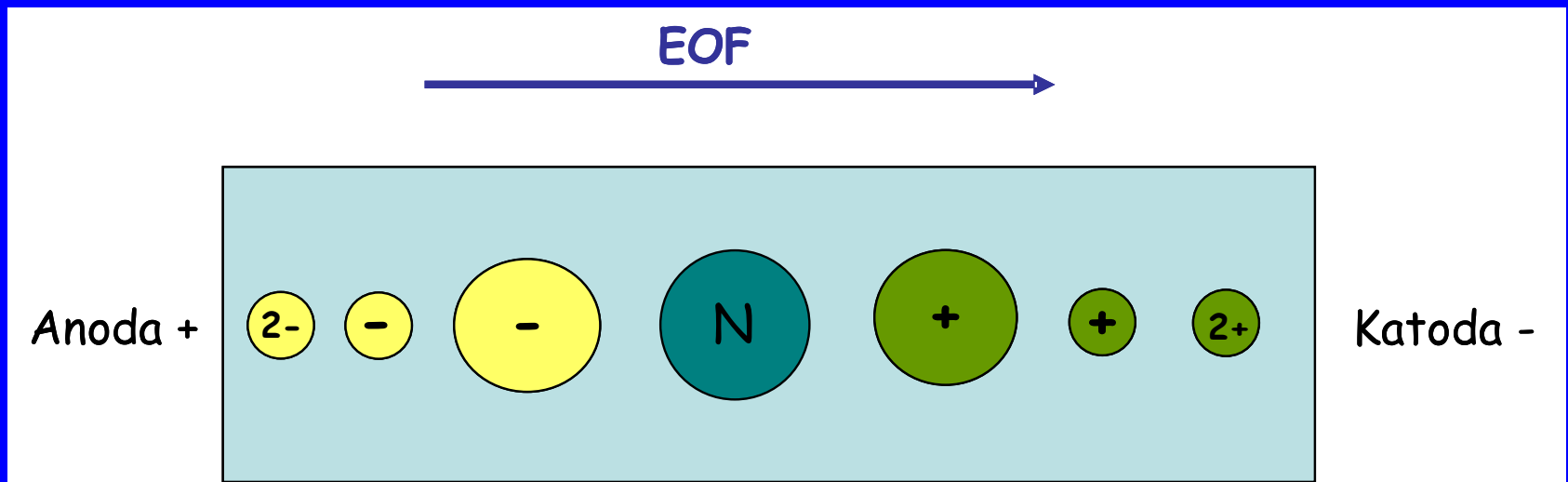
stężenie kwasu moczowego [mg/dl]			
nr próbki	miniaturowy układ przepływowy		laboratorium kliniczne
	krzywa kalibracji	metoda dodatków wzorca	
1	21,66	25,94	20,98
2	40,13	45,87	42,92
3	29,64	25,54	25,61

Elektroforeza kapilarna





Elektroforeza kapilarna - rozdział składników

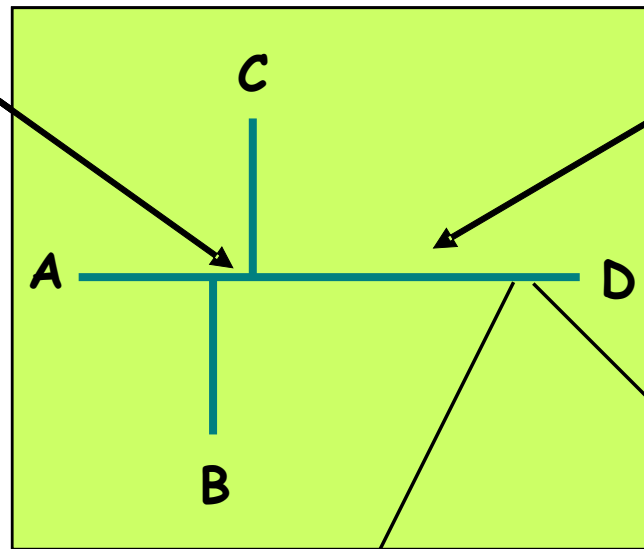


Mikroelektroforeza

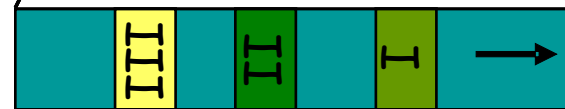
Strefa dozowania próbki

35 mm

20 mm

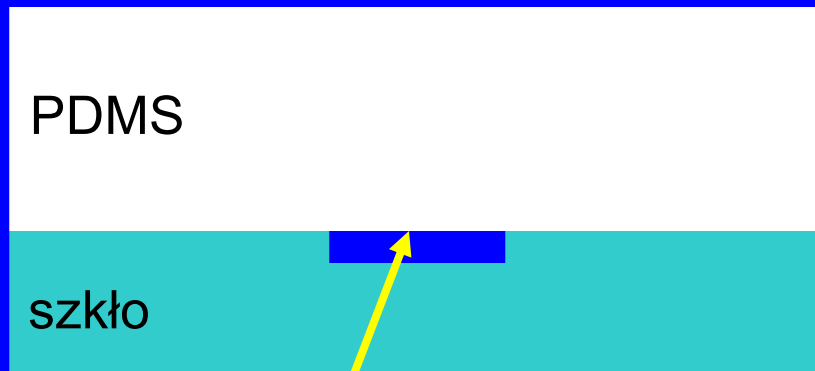


Kanał podziałowy

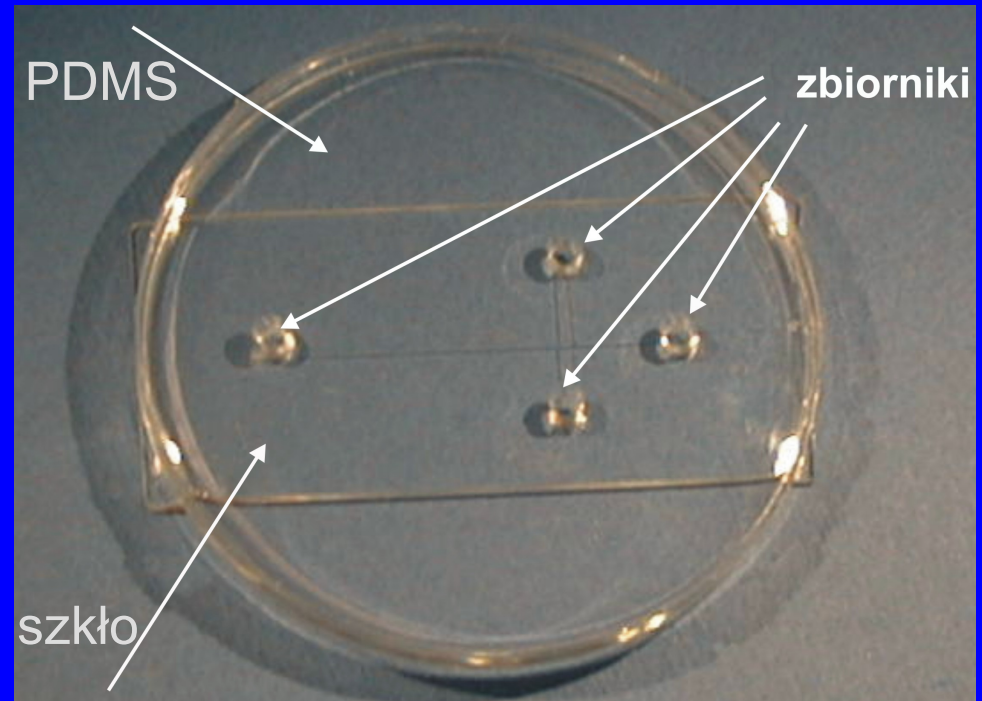


Rozdzielone frakcje próbki

Mikroelektroforeza



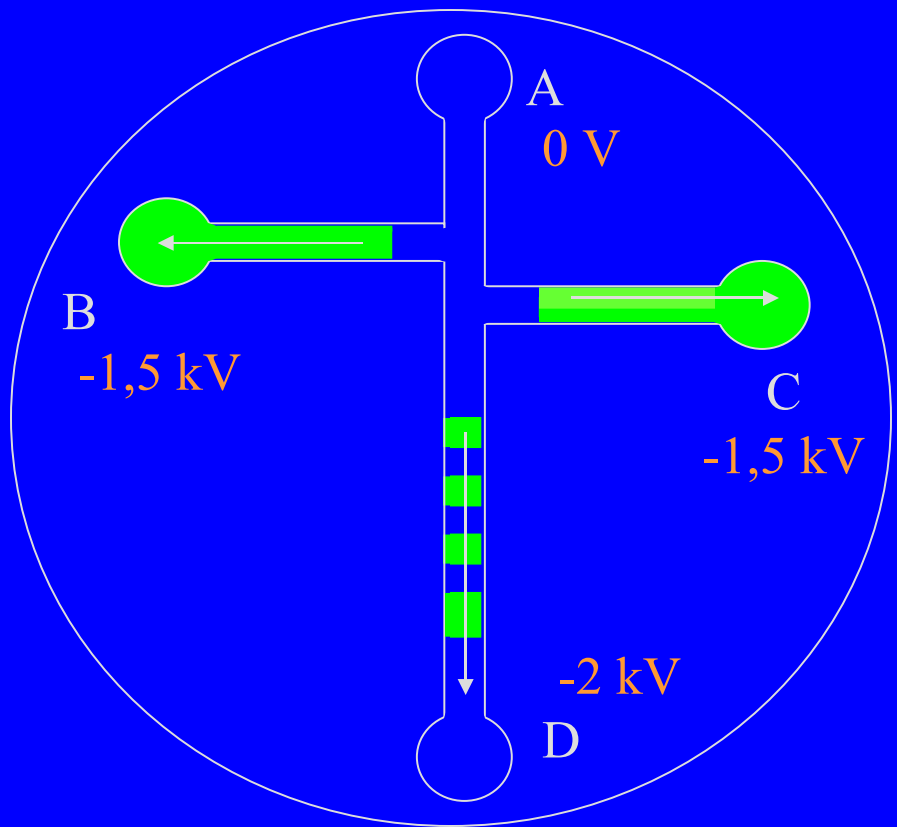
Mikrokanal wytrawiony w szkłe
20 um x 100 um





Strefa dozowania próbki





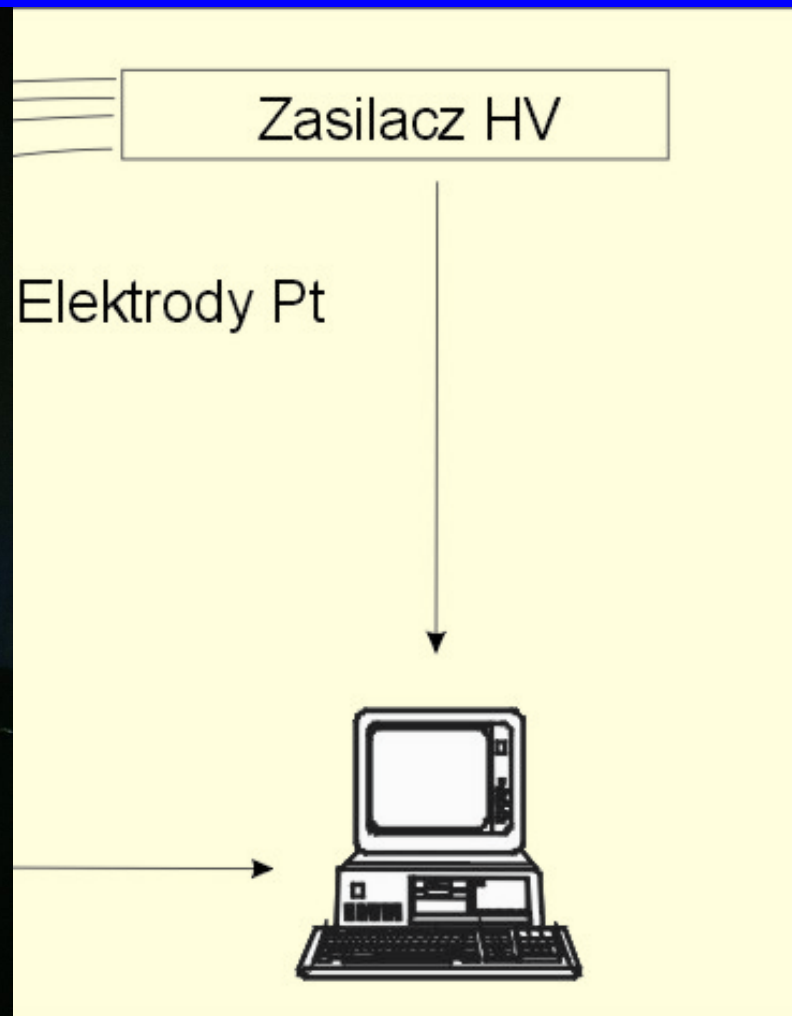
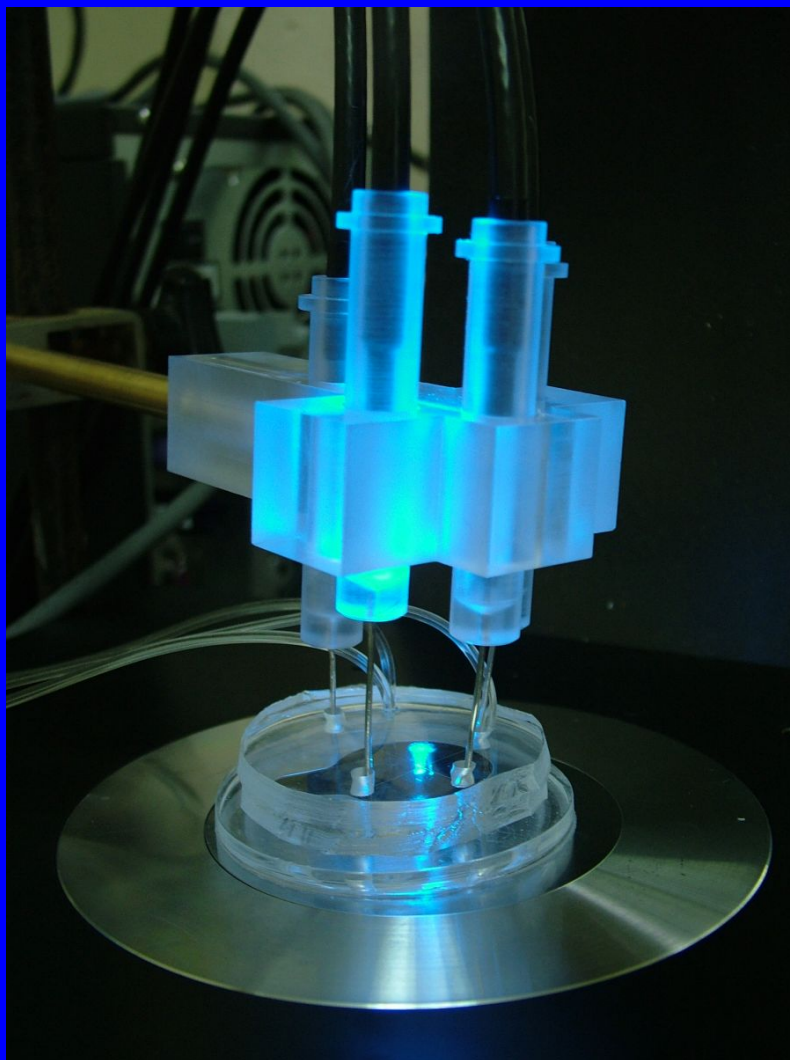
A,B,C,D – elektrody zanurzone w zbiorniczkach:

A,C,D z buforem; B z próbką

- Stan początkowy
- Przyłożenie napięcia na elektrodzie C (przepływ próbki z B do C)
- Napięcie podziałowe na elektrodzie D oraz blokujące przepływ na B i C (wstrzyk próbki do kanału podziałowego)
- Dalszy transport próbki i **rozdzielenie** frakcji



Układ pomiarowy





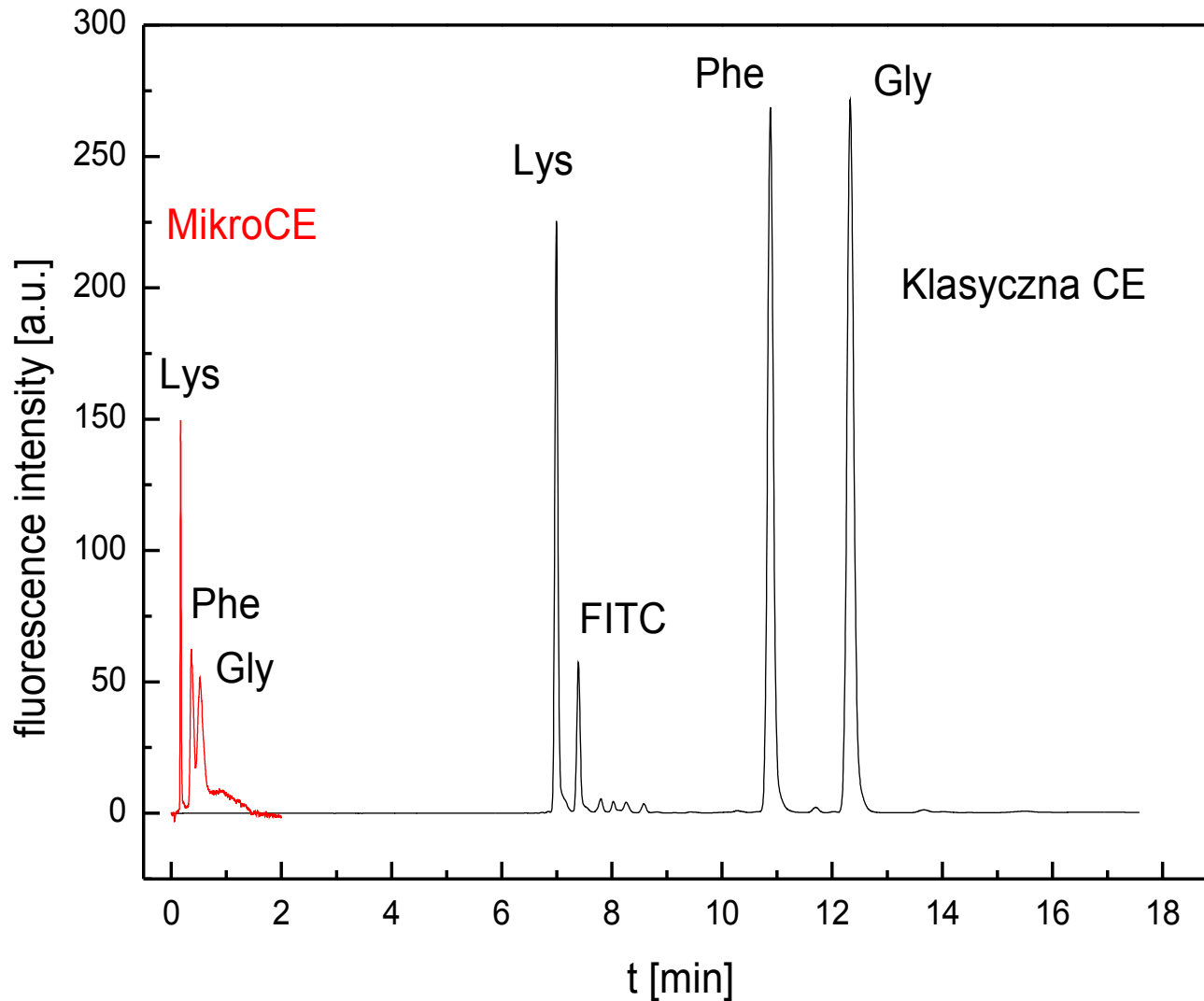
Dozowanie próbki



Rozdział



Rozdział





Porównanie mikroobjętości

- kropla wody 100 μ l
- kropla krwi – glukometr 3 - 10 μ l
- kropla w drukarce atramentowej 2 - 30 pl

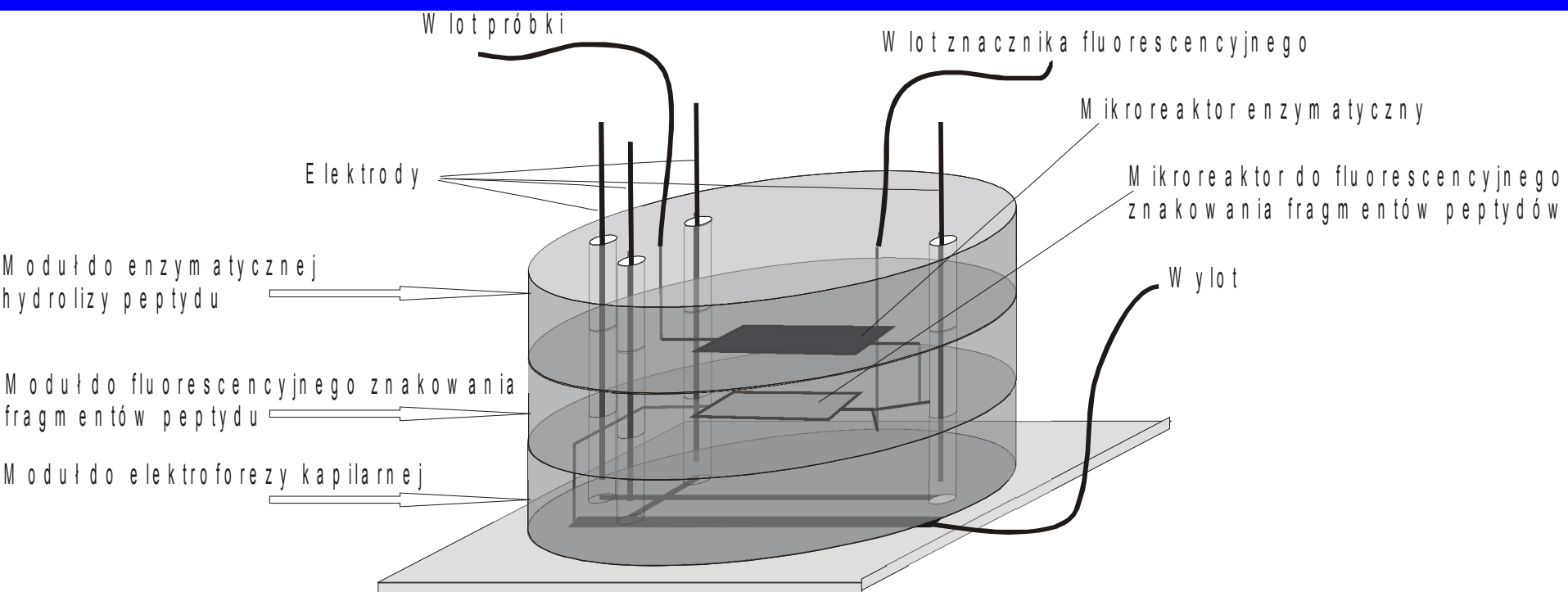
- Objętość analizowanej próbki –1 nl



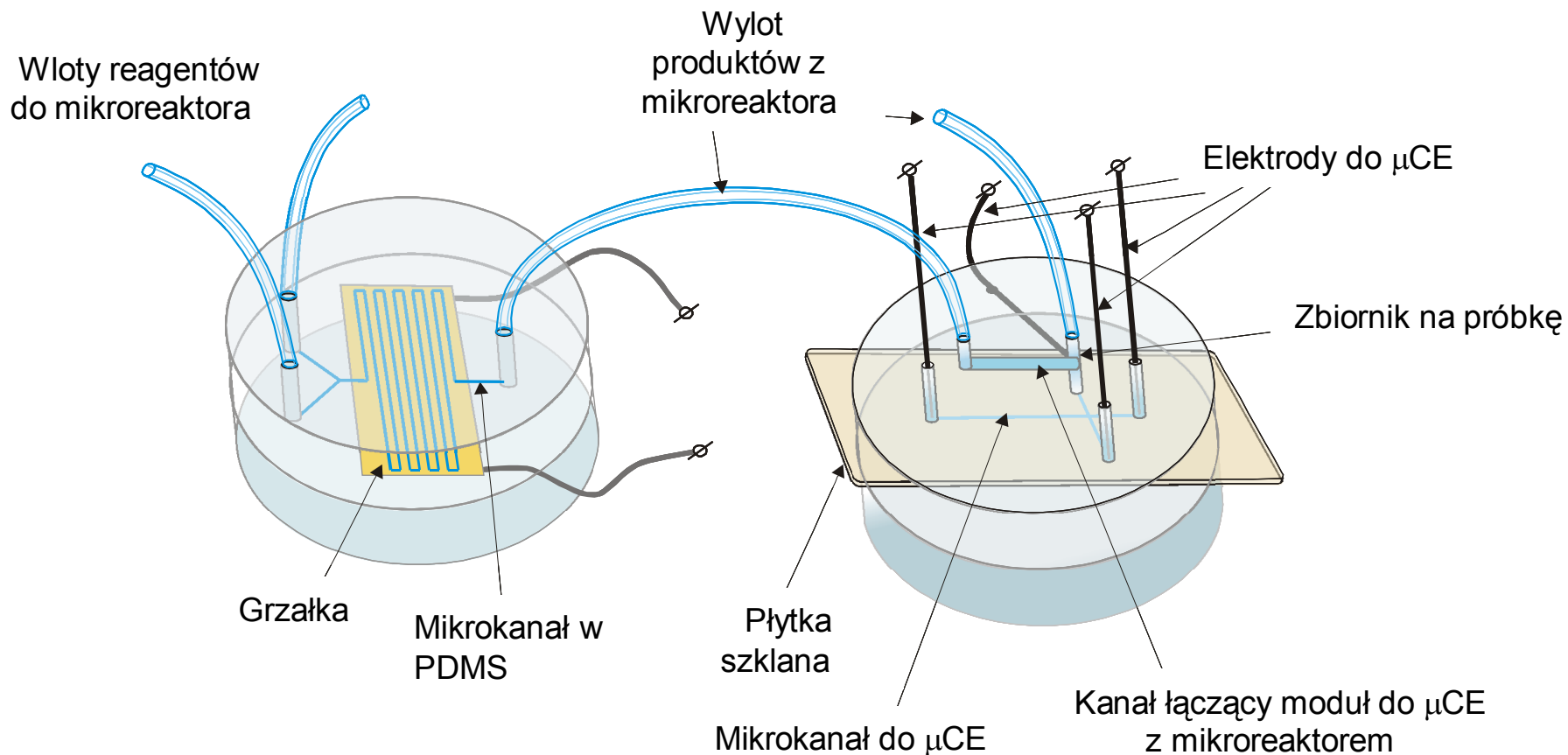
Dalsze prace



Konstrukcja zintegrowanego mikrosystemu

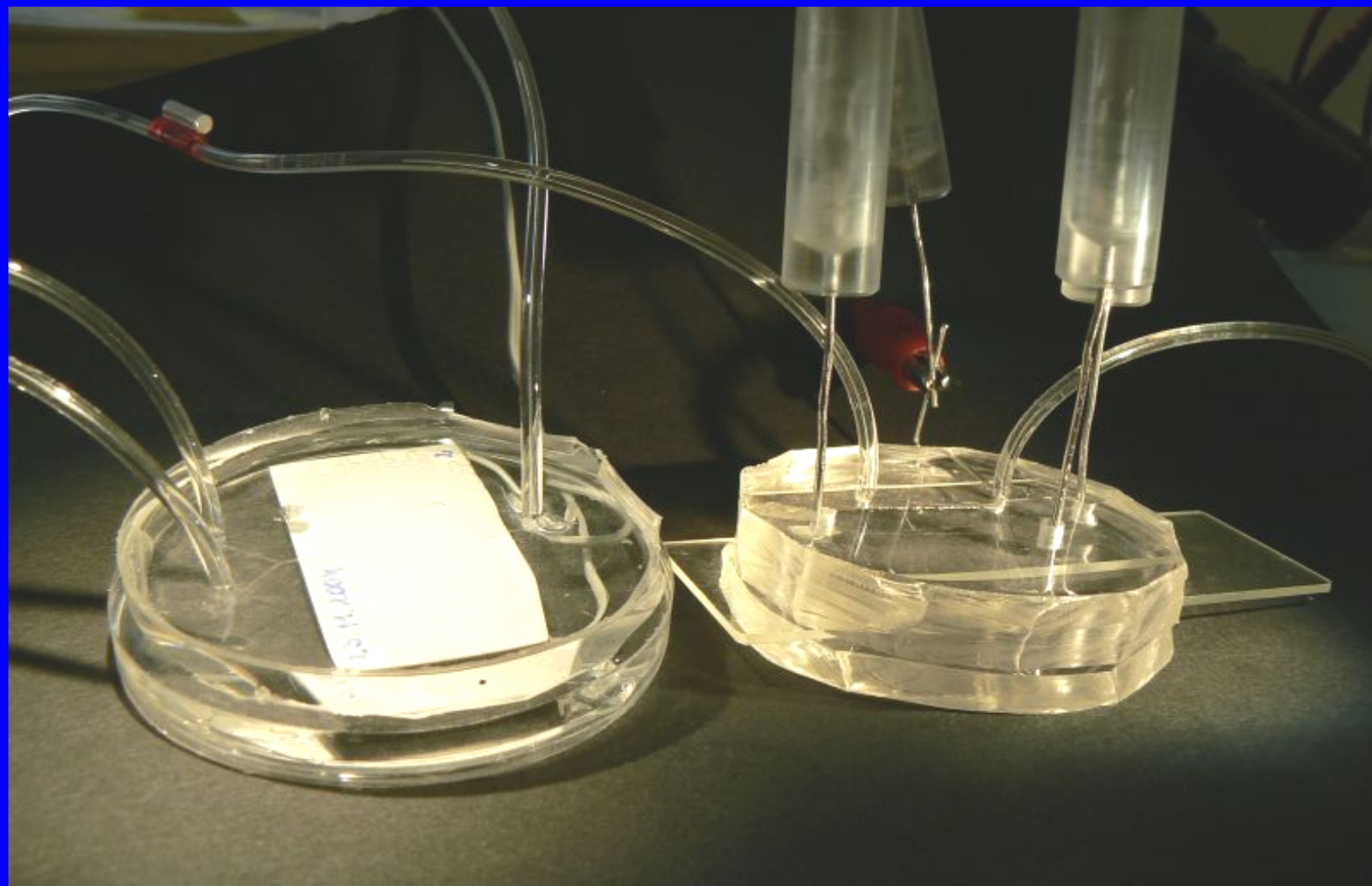


Opracowane dwa moduły



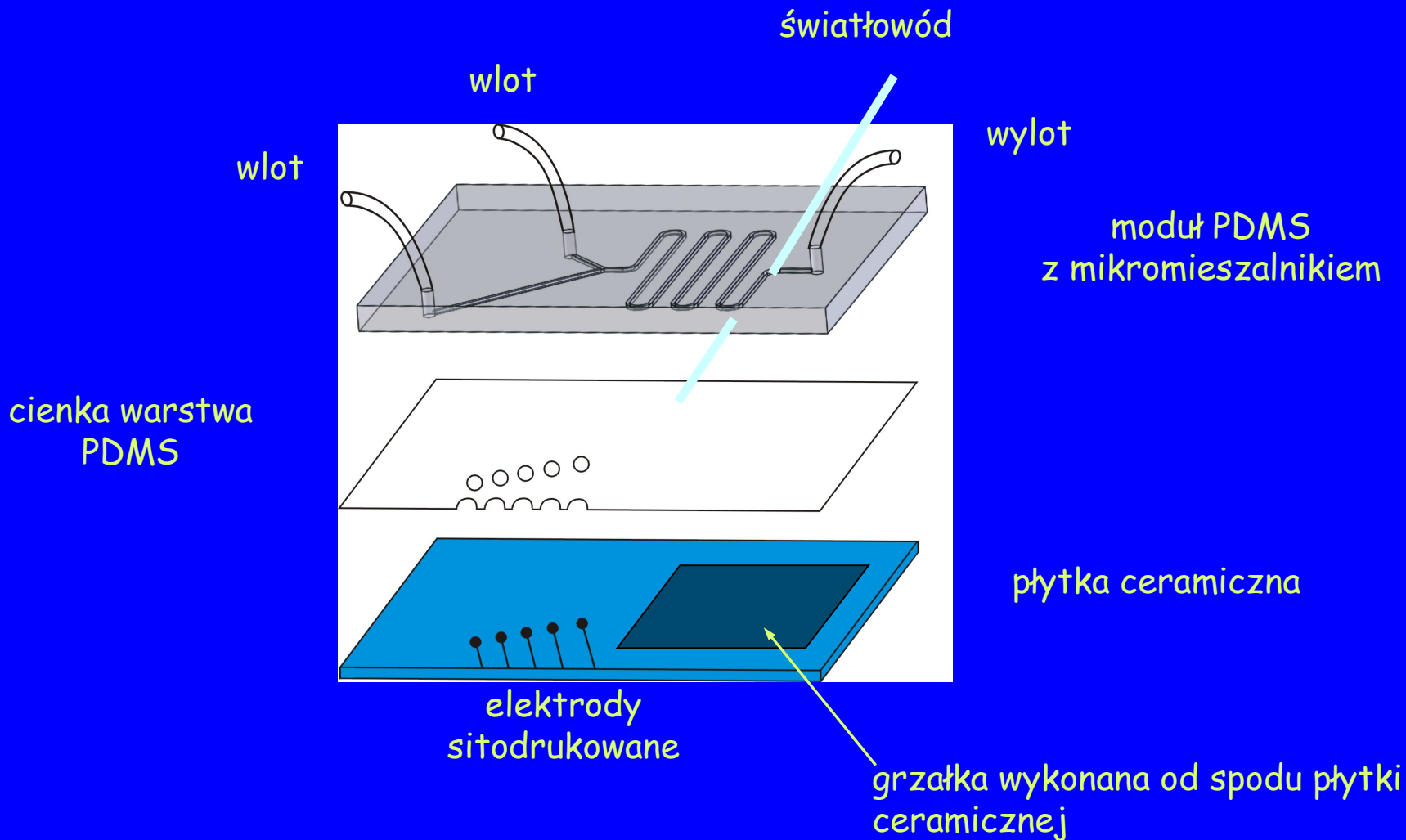


Zdjęcie opracowanych modułów



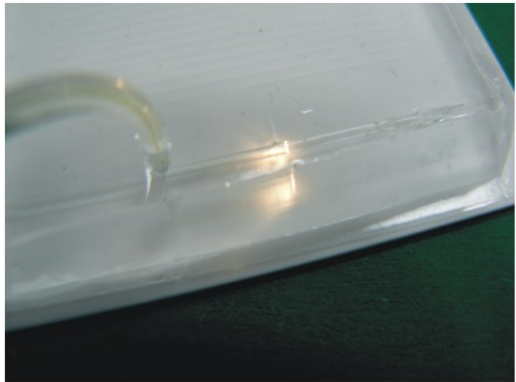
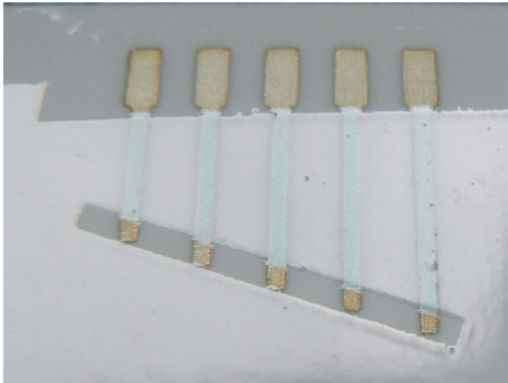
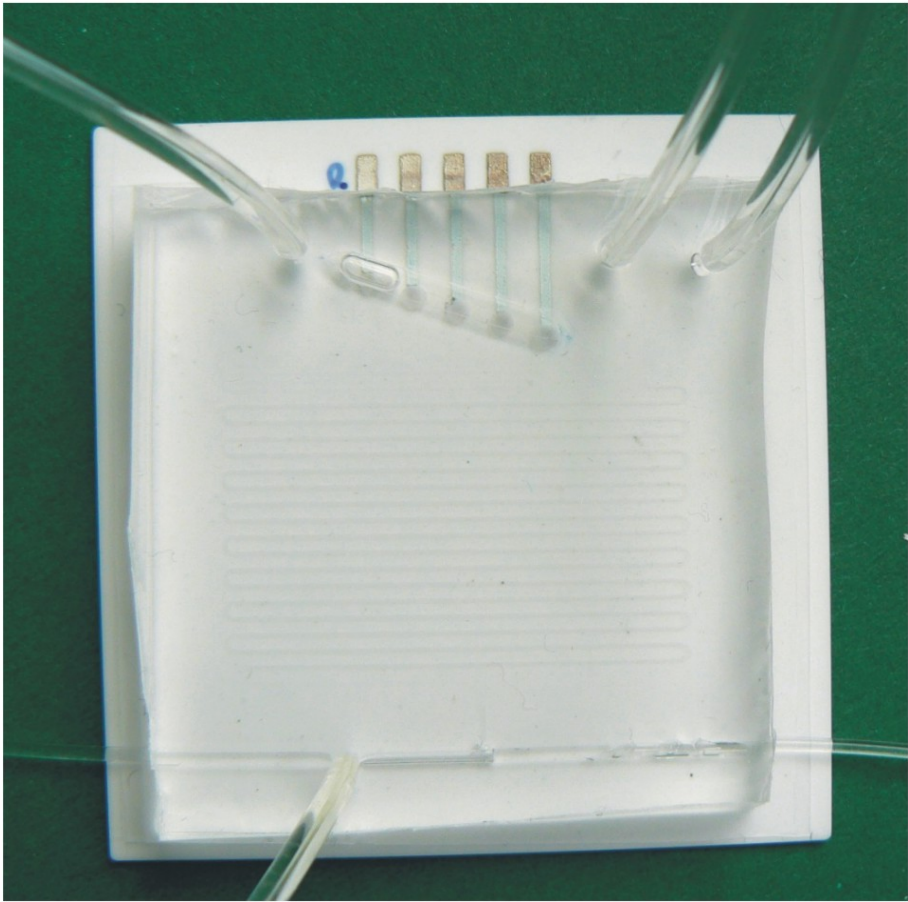


SCHEMAT ZINTEGROWANEGO UKŁADU ANALITYCZNEGO Z DUALNĄ DETEKcją



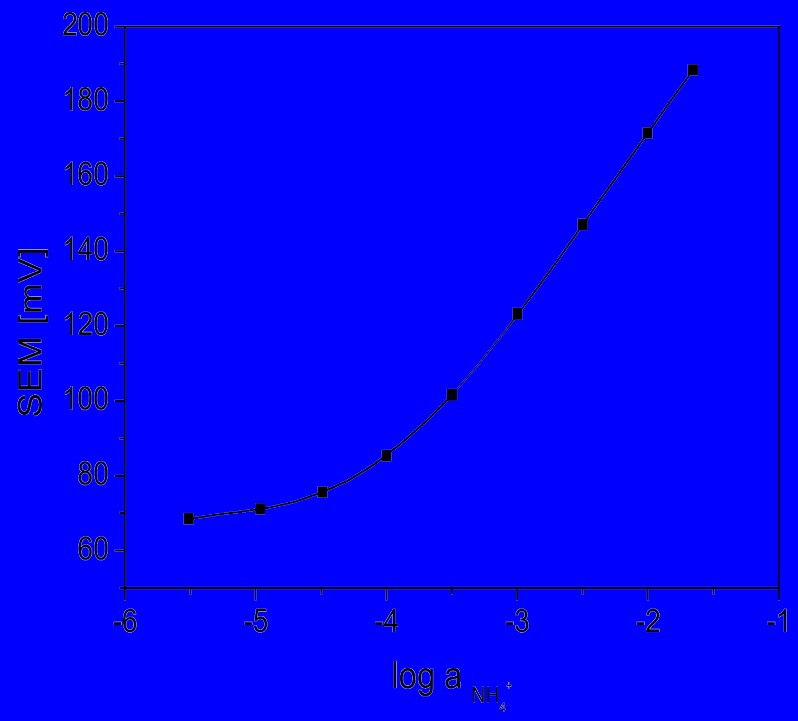
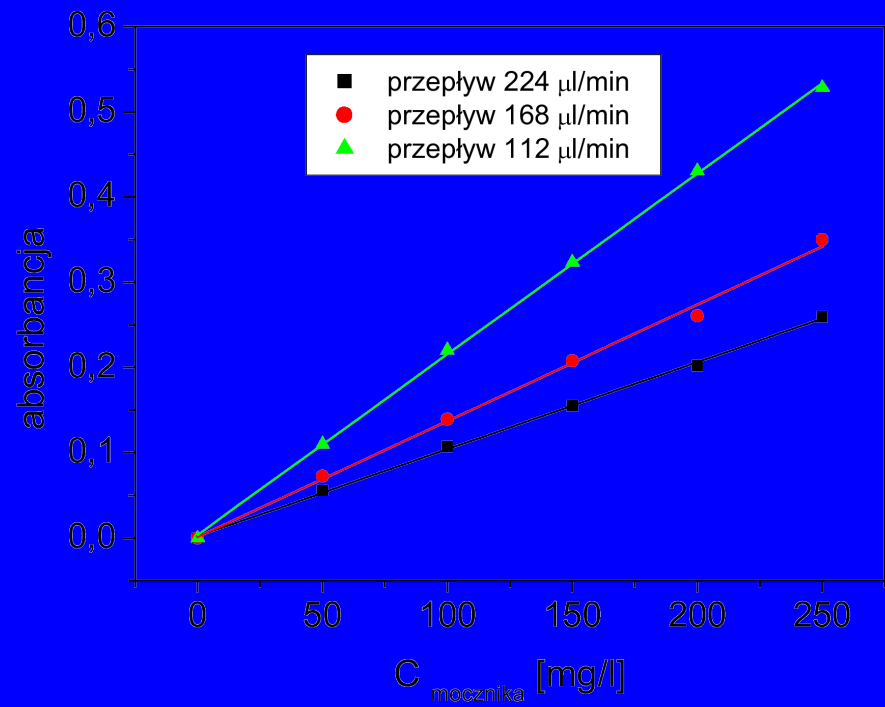


SCHEMAT ZINTEGROWANEGO UKŁADU ANALITYCZNEGO Z DUALNĄ DETEKcją





SCHEMAT ZINTEGROWANEGO UKŁADU ANALITYCZNEGO Z DUALNĄ DETEKcją





Podsumowanie – zastosowanie mikrosystemów

- Wczesna diagnostyka medyczna
- Diagnostyka przy łóżku pacjenta
- Proteomika
- Biologia molekularna



Współpraca

- Instytut Mikro i Optoelektroniki, Wydział Elektroniki i Technik Informatycznych
- Instytut Systemów Elektronicznych, Wydział Elektroniki i Technik Informatycznych
- ITME, Warszawa