



Politechnika Wroclawska

*Lab-chipy DNA, mikroreaktory
chemiczne/biochemiczne i cytometry
zintegrowane wytwarzane z krzemu,
szkła i SU8 - przegląd prac
realizowanych w PMiM WEMiF PWr*

Rafał WALCZAK

Pracownia Mikroinżynierii i Mikromechaniki
Wydział Elektroniki Mikrosystemów i Fotoniki
Politechnika Wroclawska

Seminarium Zakładu Mechaniki i Fizyki Płynów PAN
Warszawa, 21.11.2007

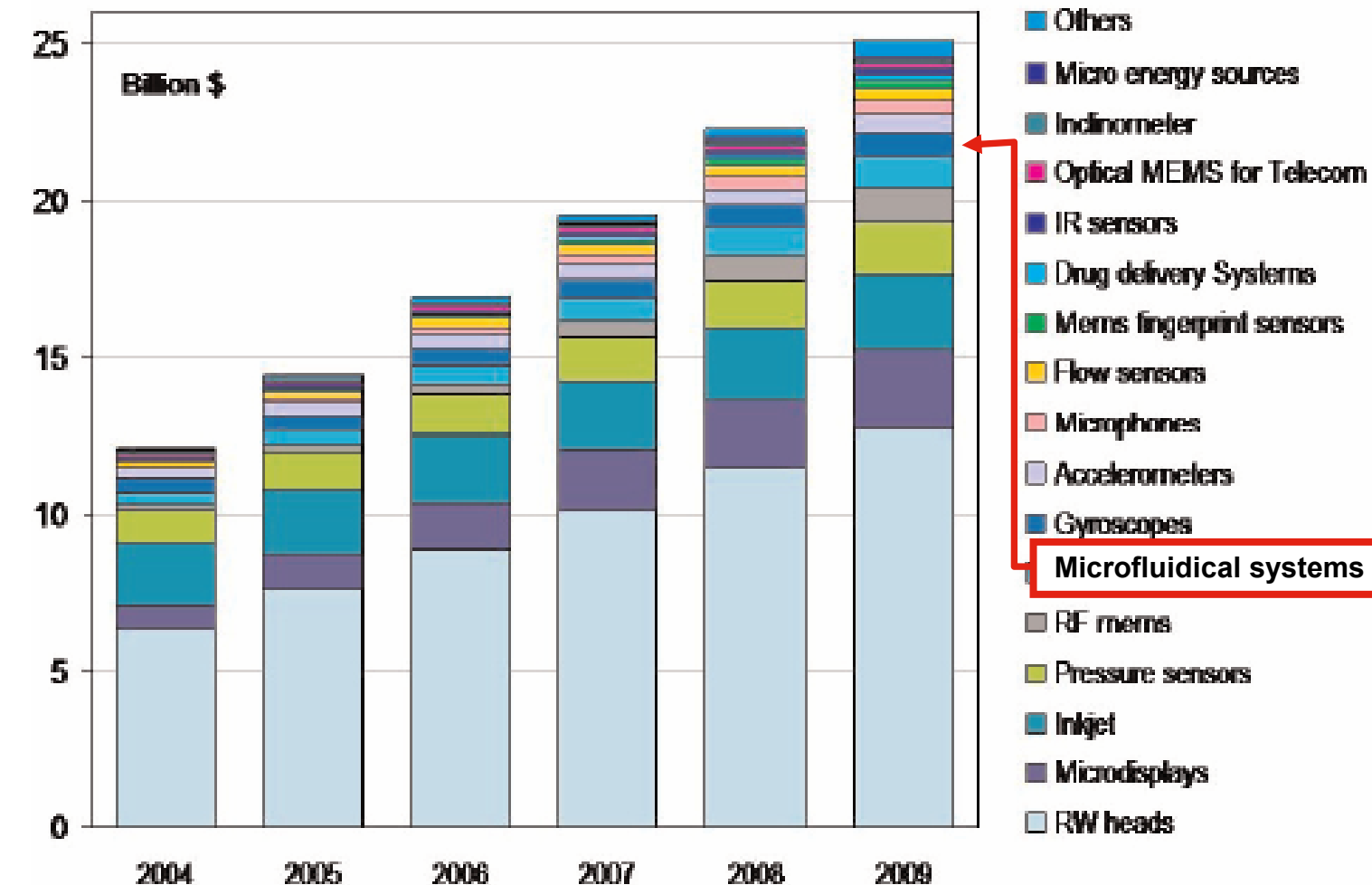


Plan wystąpienia

- 1. Wstęp – rynek mikrosystemów,**
- 2. Komponenty mikrofluidyczne - przegląd,**
- 3. Lab-chipy,**
- 4. Miniaturowy system RT-PCR,**
- 5. Mikroreaktory biochemiczne i chemiczne,**
- 6. Cytometr zintegrowany**



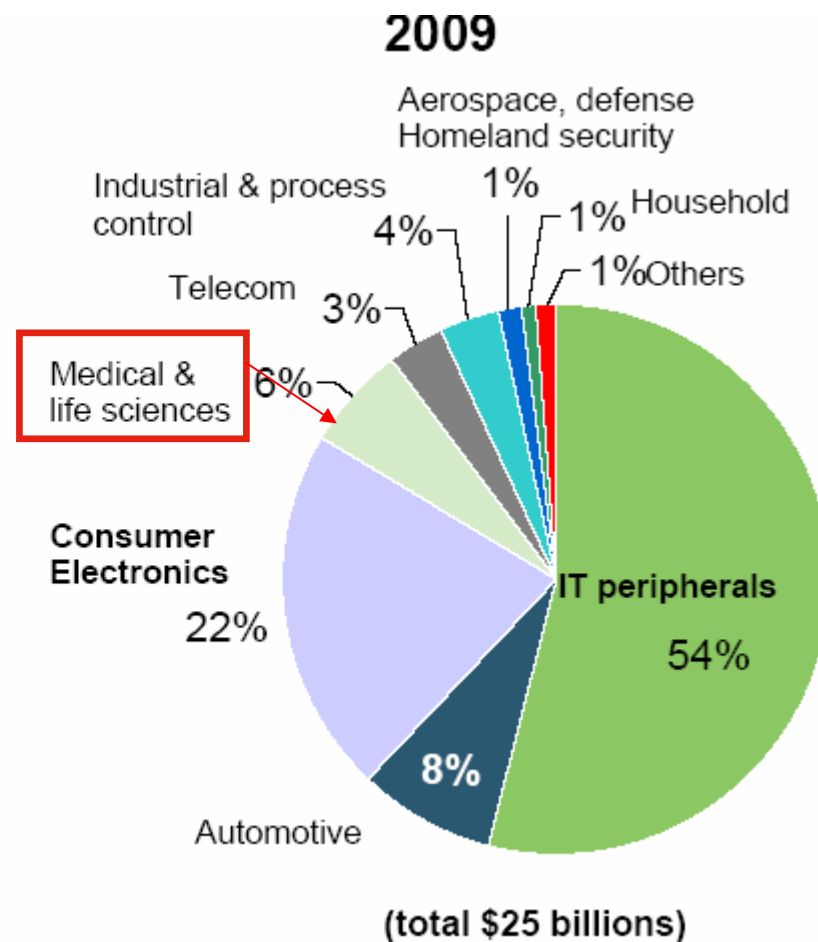
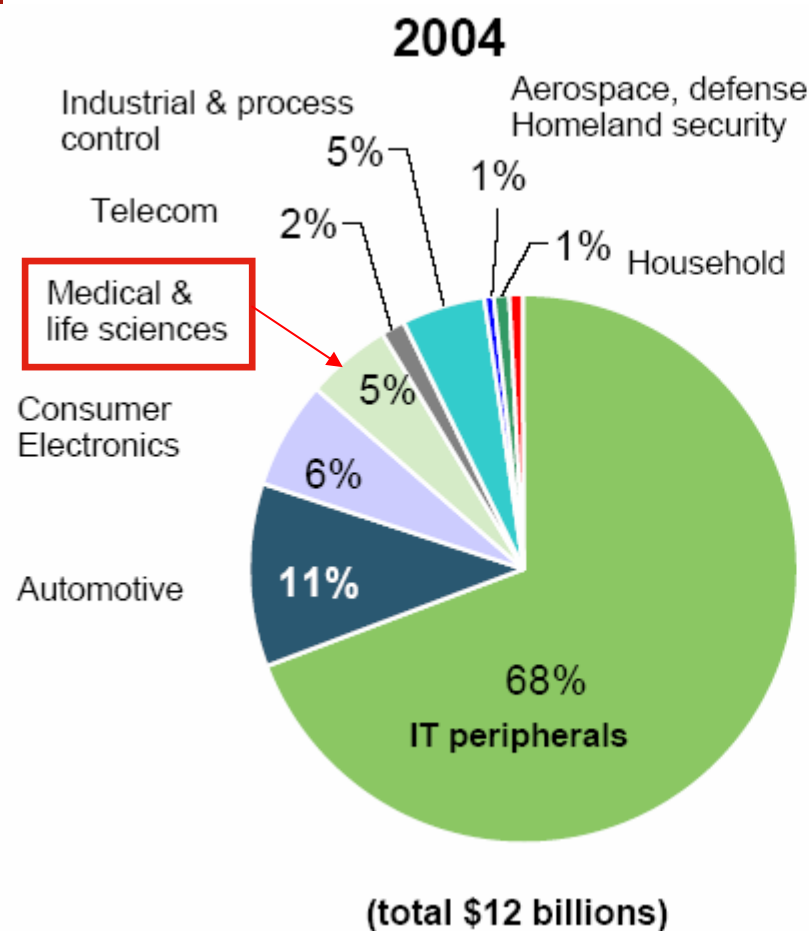
Światowy rynek mikrosystemów w latach 2004 - 2009



Micro Sensors and Microsystems – World Wide Markets and Economic Impact, NEXUS Report



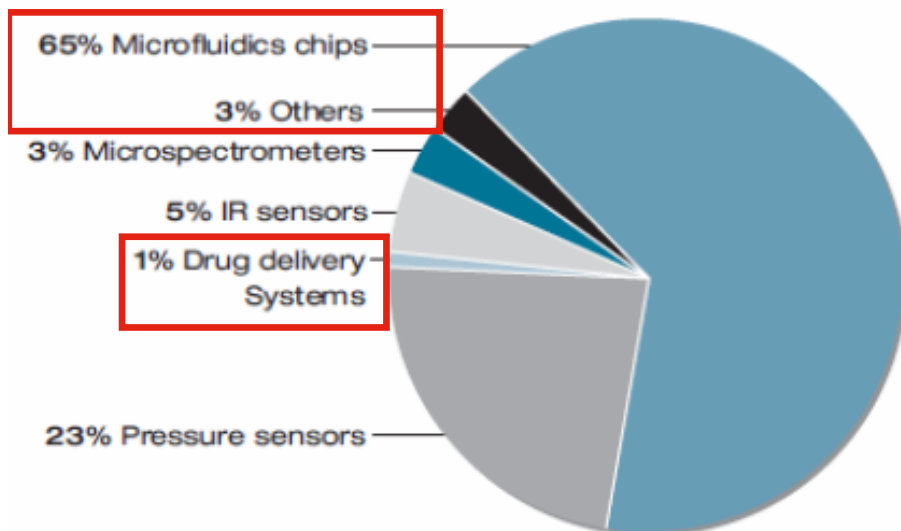
Podział światowego rynku mikrosystemów



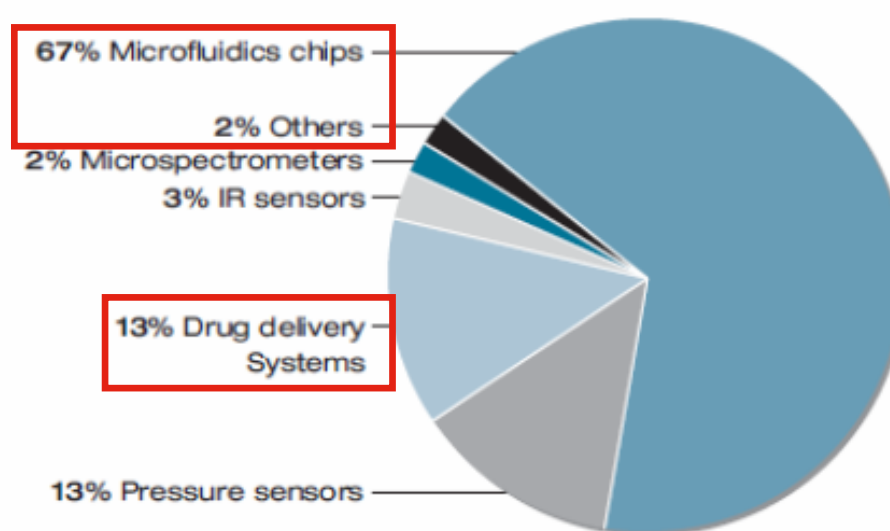


Składniki sektora „Medical and Life Sciences”

2004 \$ 615 million



2009 \$ 1.5 Billion



Blisko 70% w roku 2004 i ponad 80% w roku 2009 wartości rynku mikrosystemów typu M&LS to systemy mikrofluidyczne



System mikrofluidyczny

Komponenty mikrofluidyczne

Mikrokanaly
Mikrokolumny

Mikropompy
Mikrozawory
Mikrodozowniki

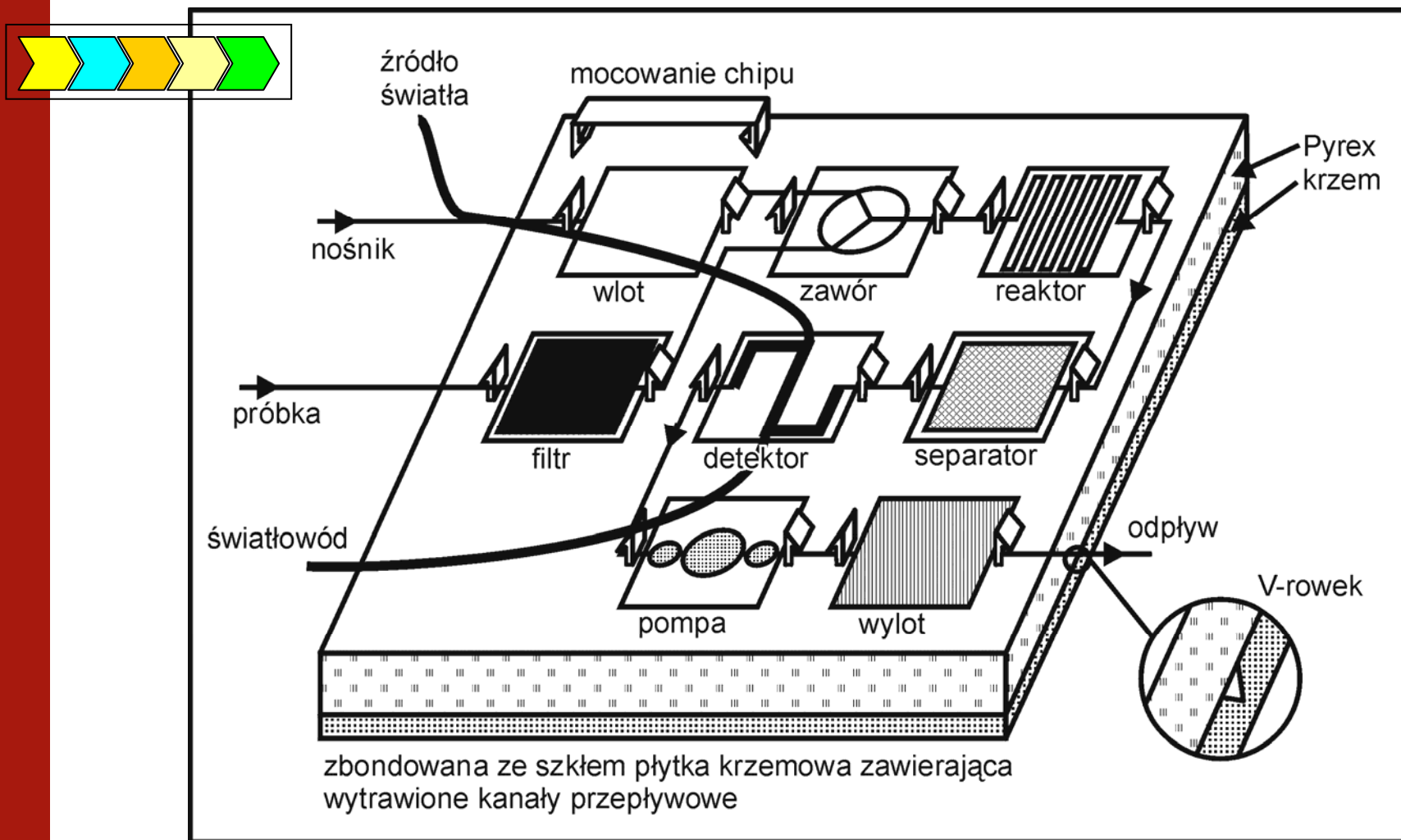
Mikrogrzejniki,
Mikrowymienniki
ciepla,
Mikrochlodziarki

Mikromieszalniki

MikroczuJNIKI



System mikrofluidyczny (wizja artystyczna)

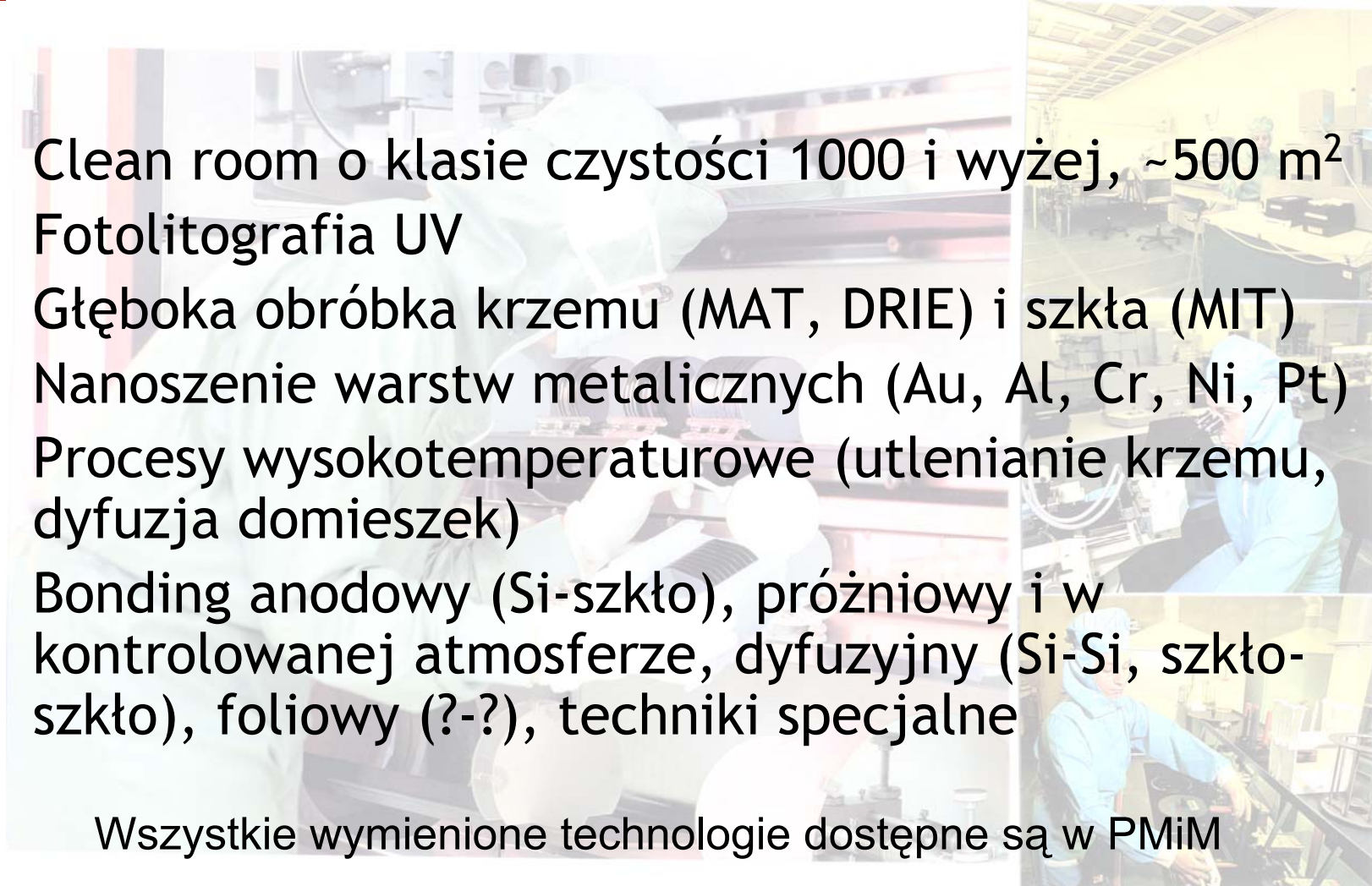




Technologie mikroinżynieryjne wykorzystywane do wytwarzania systemów mikrofluidycznych

- Clean room o klasie czystości 1000 i wyżej, ~500 m²
- Fotolitografia UV
- Głęboka obróbka krzemu (MAT, DRIE) i szkła (MIT)
- Nanoszenie warstw metalicznych (Au, Al, Cr, Ni, Pt)
- Procesy wysokotemperaturowe (utlenianie krzemu, dyfuzja domieszek)
- Bonding anodowy (Si-szkło), próżniowy i w kontrolowanej atmosferze, dyfuzyjny (Si-Si, szkło-szkło), foliowy (?-?), techniki specjalne

Wszystkie wymienione technologie dostępne są w PMiM



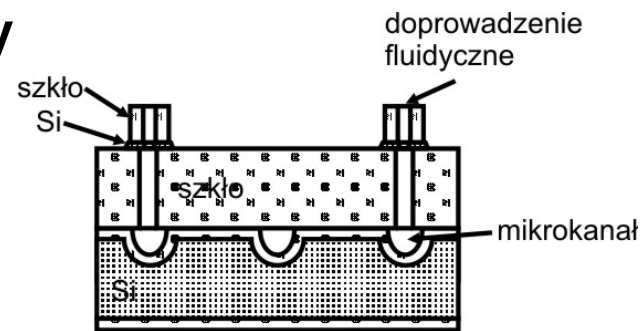


Komponenty mikrofluidyczne - przegląd

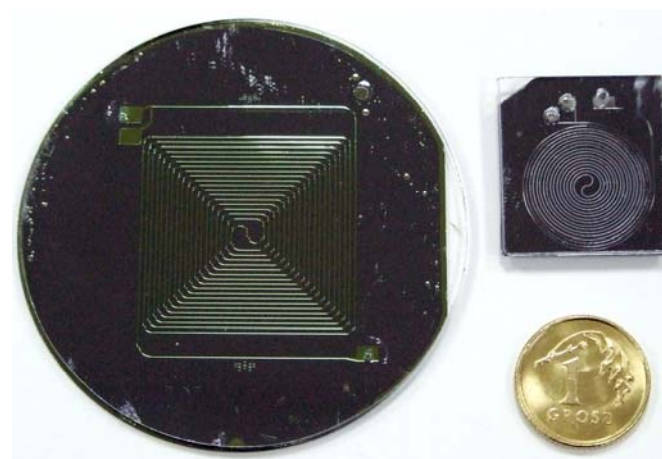
Mikrokolumny



Mikrokolumna chromatograficzna gazowa, ID=150 μ m, L=1,5 m



Przekrój mikrokolumny krzemowo-szklanej

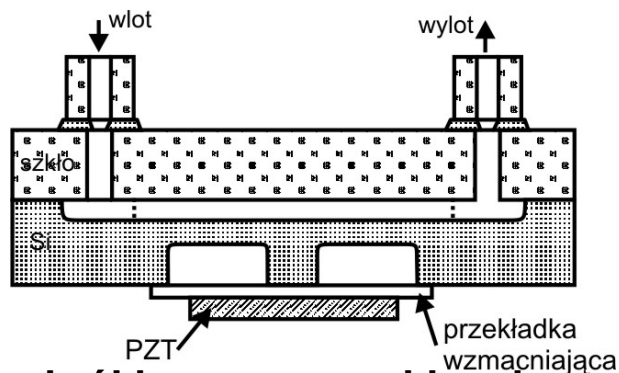


Mikrokolumny cieczowe (chromatograficzne i reakcyjne)

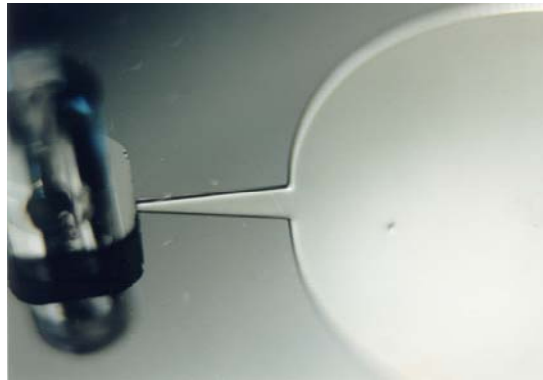


Komponenty mikrofluidyczne - przegląd

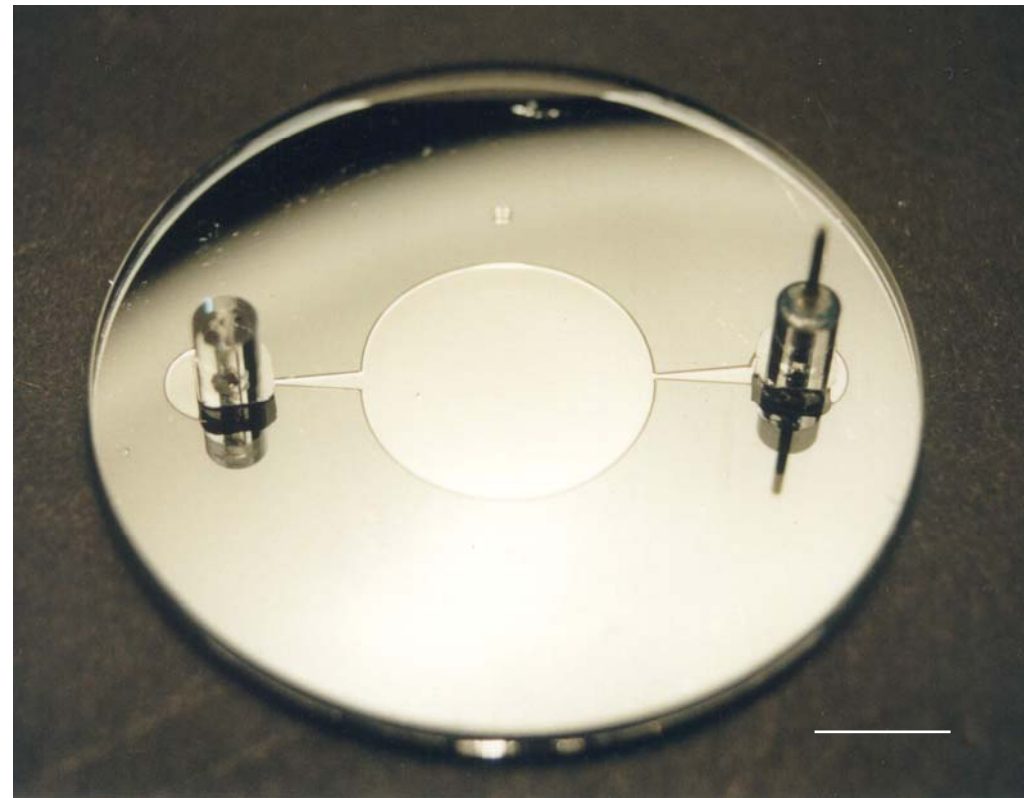
Mikropompa eżektorowa



Przekrój krzemowo-szklanej pompy



Detal konstrukcyjny - eżektor

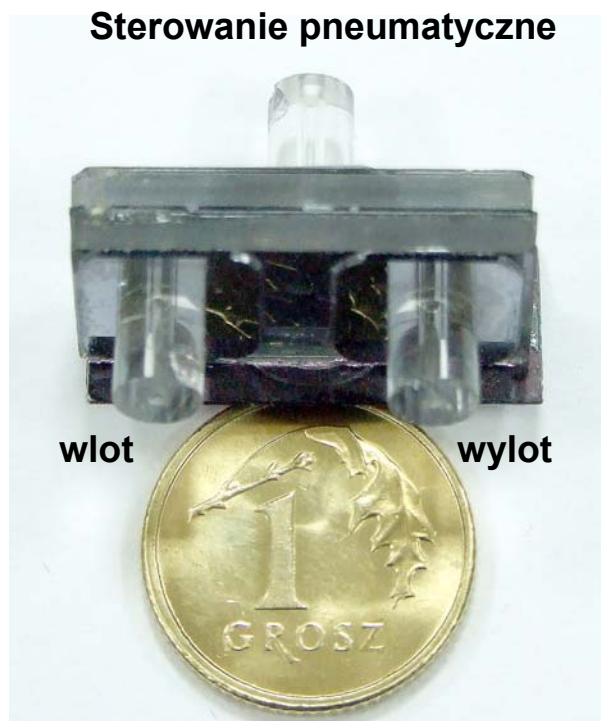


Widok mikropompy gotowej do pracy

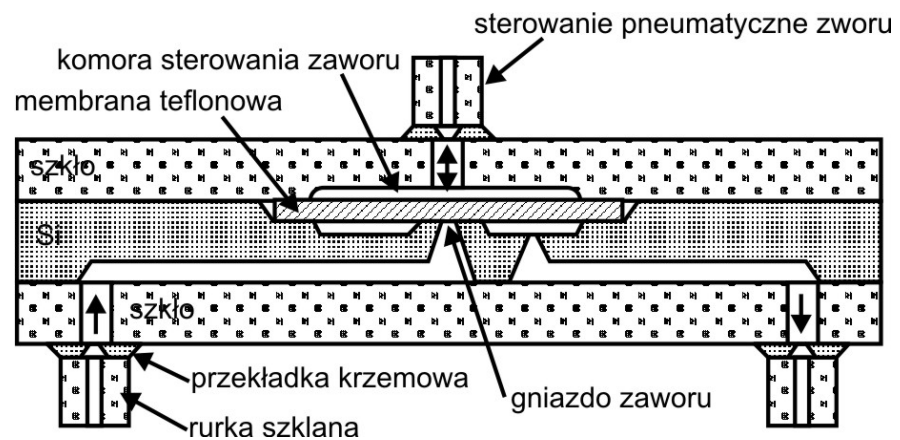


Komponenty mikrofluidyczne - przegląd

Mikrozawory



Krzemowo-szklany mikrozwór



Przekrój krzemowo-szklanego mikrozworu z membraną teflonową

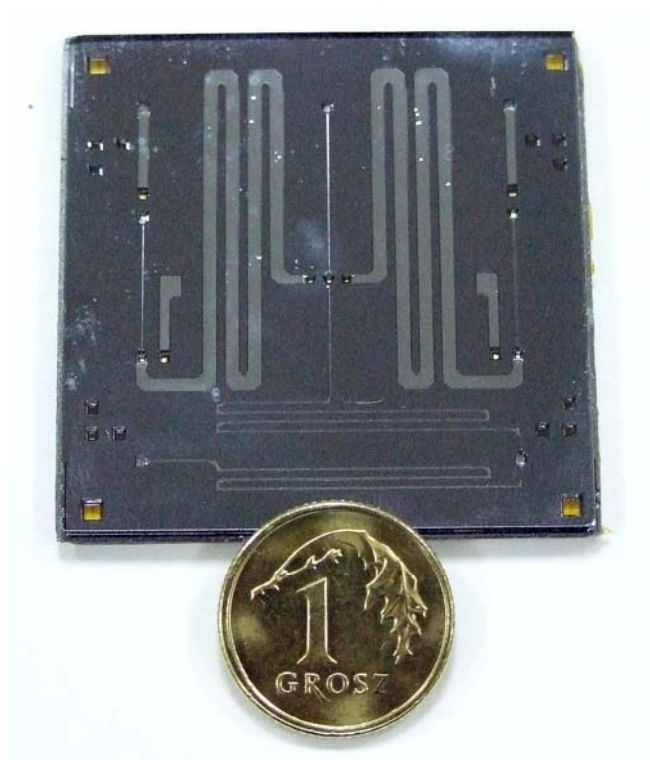


Widok gniazda mikrozworu i komory sterującej

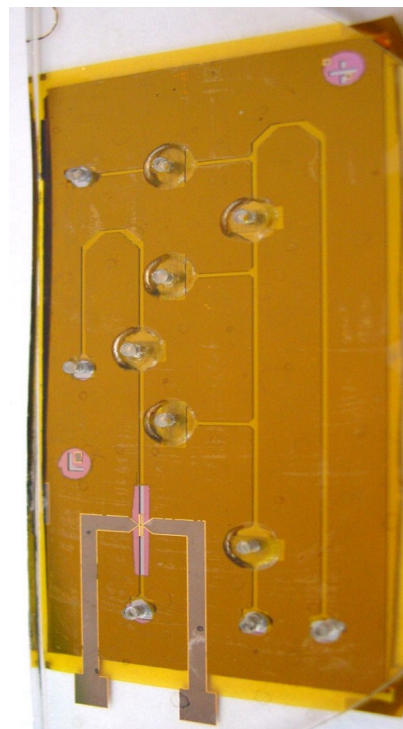


Komponenty mikrofluidyczne - przegląd

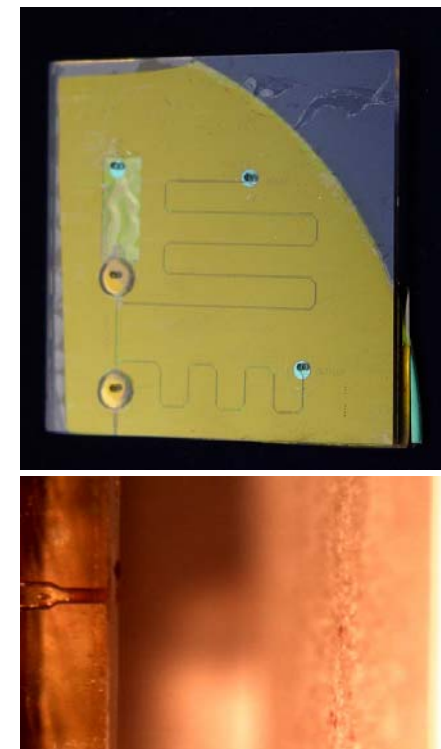
Mikrodozowniki



Mikrodozownik pięciozaworowy dla chromatografu gazowego



Mikrodozownik o otwartej architekturze



Mikrodozownik typu „plujka”

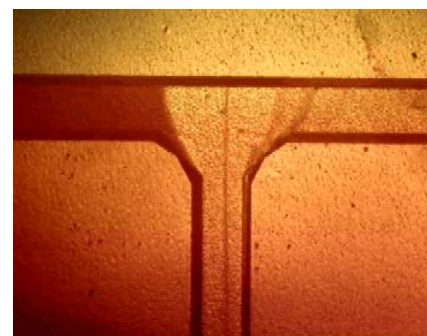
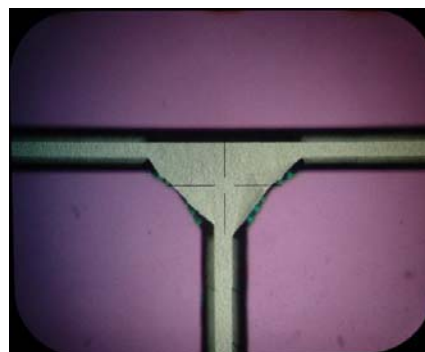


Komponenty mikrofluidyczne - przegląd

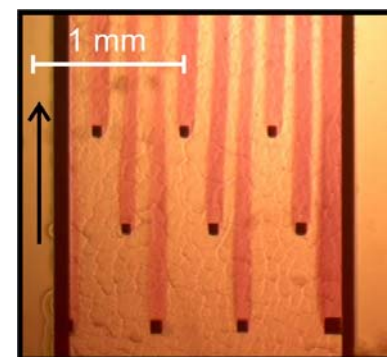
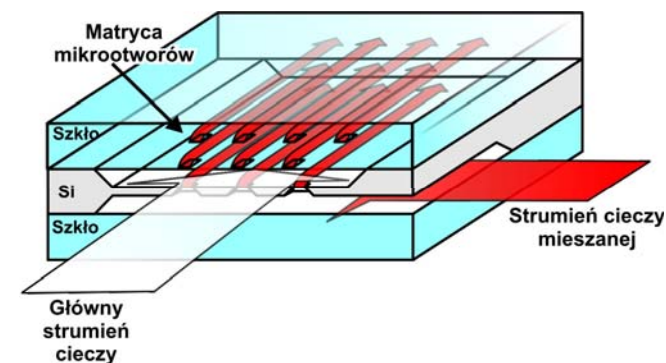
Mikromieszalniki pasywne



Mikromieszalnik typu Y



Mikromieszalnik typu T

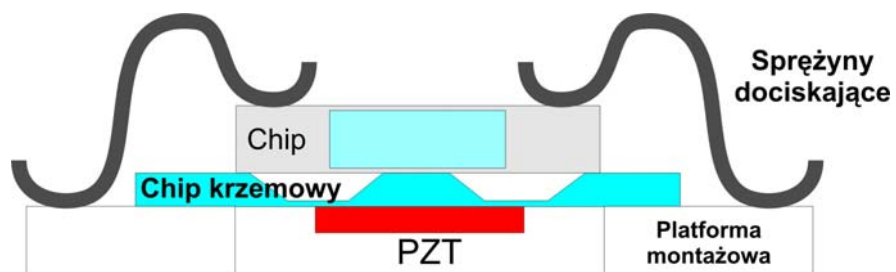


Mikromieszalnik wielostrumieniowy

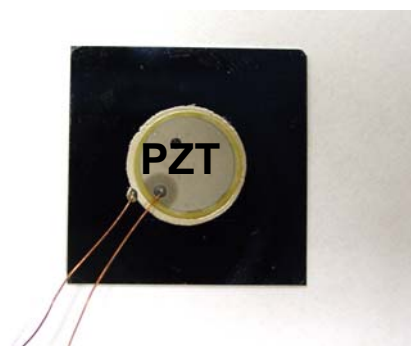


Komponenty mikrofluidyczne - przegląd

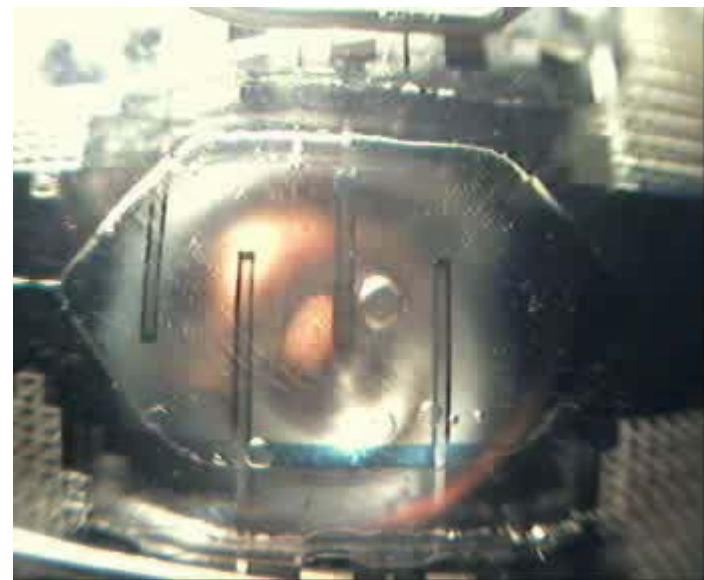
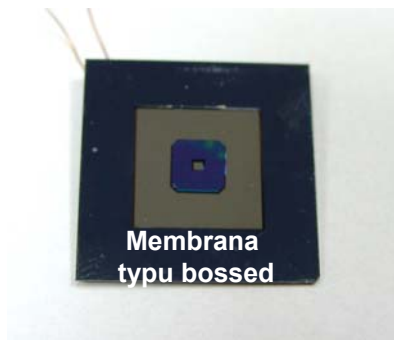
Mikromieszalnik aktywny



Schemat konstrukcji mikromieszalnika ultradźwiękowego



Widok mikromieszalnika od strony dysku PZT i membrany z wyspą



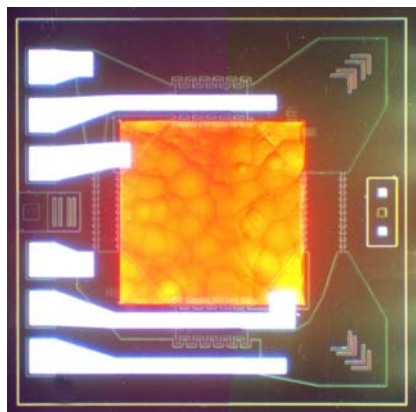
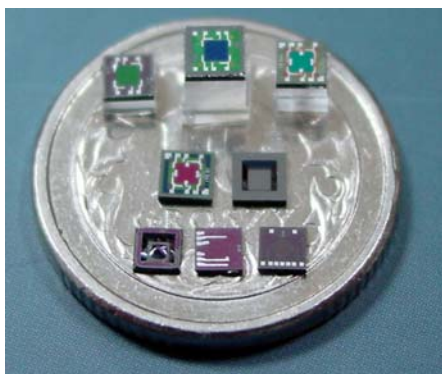
Bez mieszania →



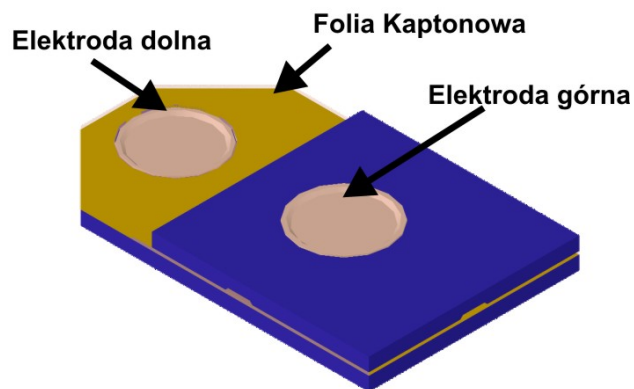
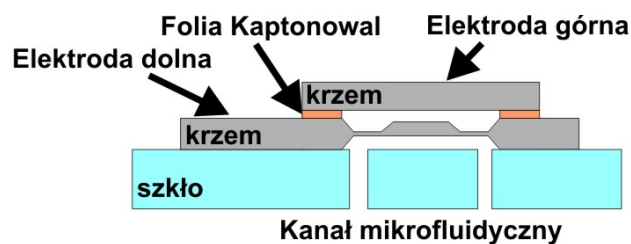


Komponenty mikrofluidyczne - przegląd

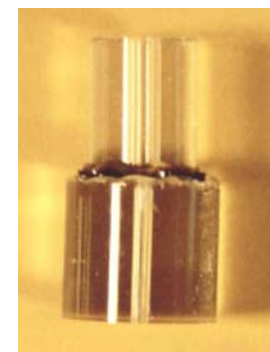
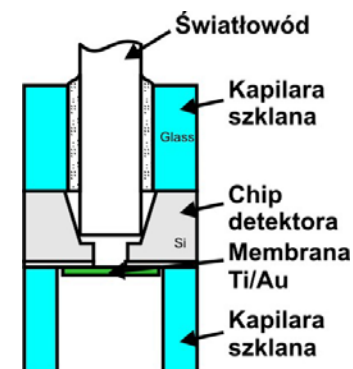
Mikroczujniki ciśnienia



Piezorezystancyjne czujniki ciśnienia



Pojemnościowy, przepływowy czujnik ciśnienia

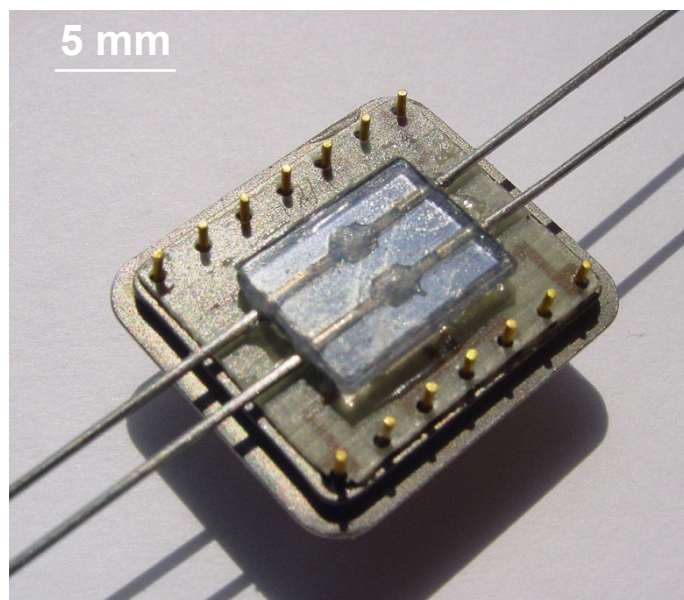


Optyczny czujnik ciśnienia

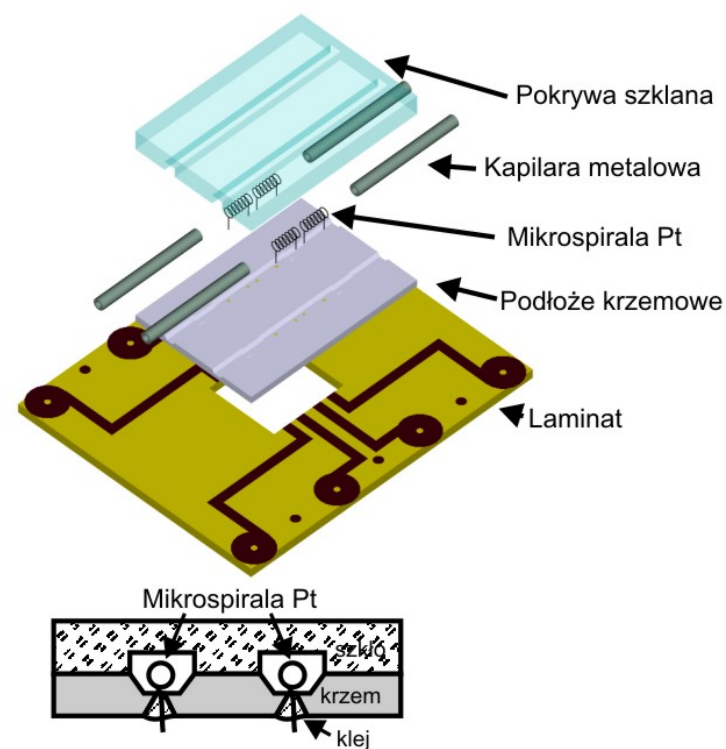


Komponenty mikrofluidyczne - przegląd

MikroczuJNIK przepływu termokonduktometryczny



Detektor TCD przed końcowym zamknięciem w metalowej obudowie

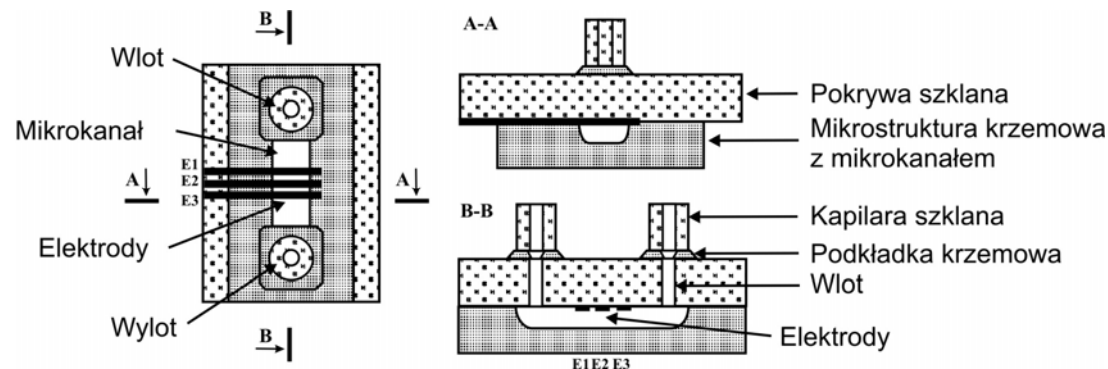


Elementy składowe oraz przekrój przez detektor termoprzewodnościowy



Komponenty mikrofluidyczne - przegląd

Mikroczujniki konduktometryczne



Schemat budowy i przekrój krzemowo-szklanego mikroczujnika konduktometrycznego

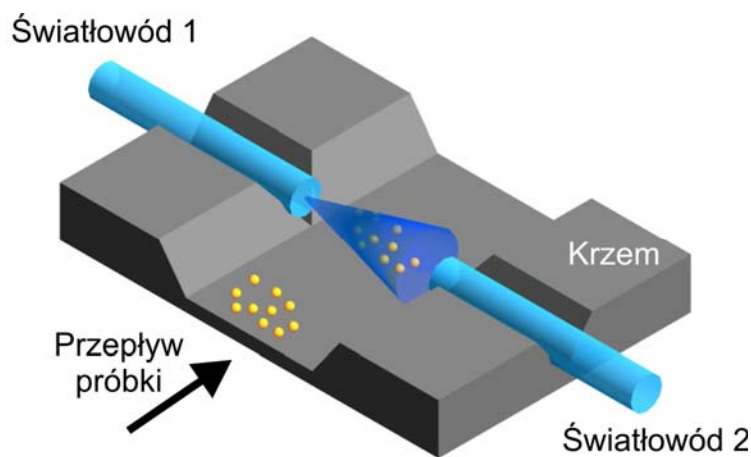


Mikroczujnik konduktometryczny w porównaniu do głowicy pomiarowej standardowego, makroskopowego czujnika

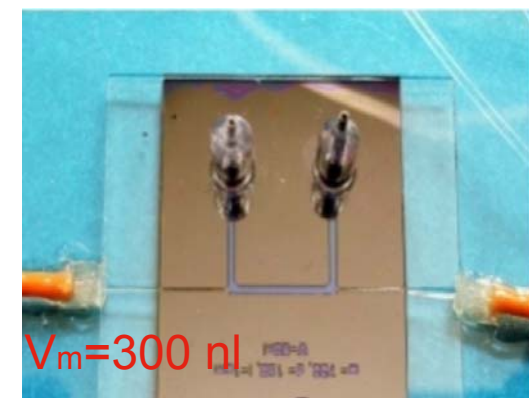
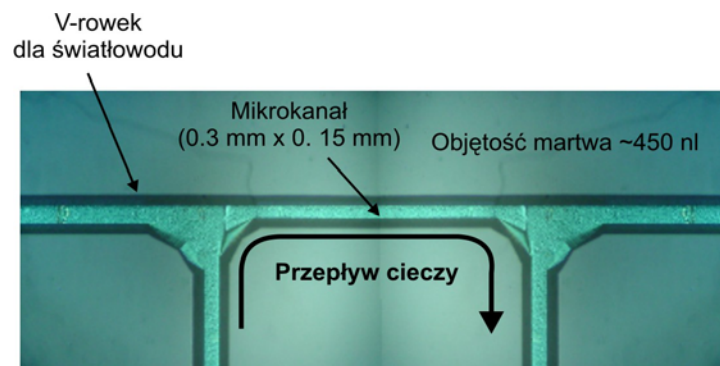


Komponenty mikrofluidyczne - przegląd

MikroczuJNIKI optyczne absorpcyjne



Schemat konstrukcji i zasady działania optycznego mikroczuJNIKA absorpcyjnego

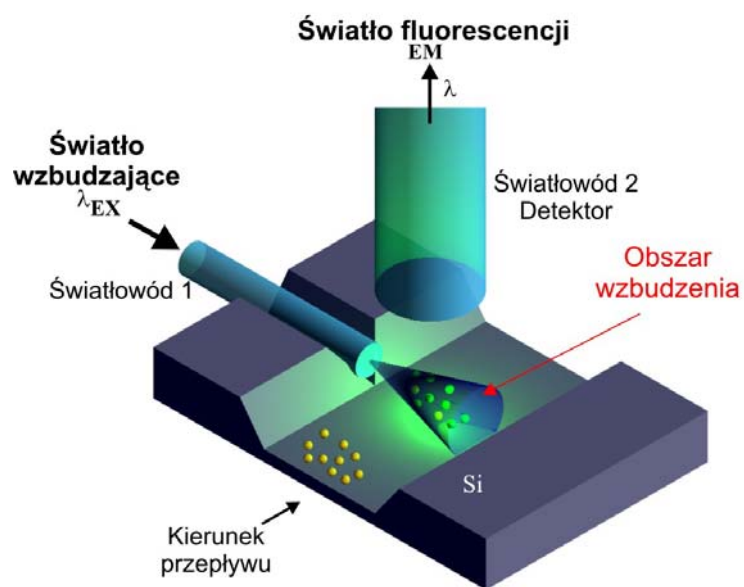


Widok mikrokanalu pomiarowego i gotowego mikroczuJNIKA absorpcyjnego

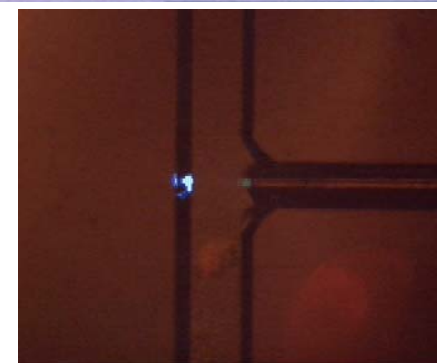
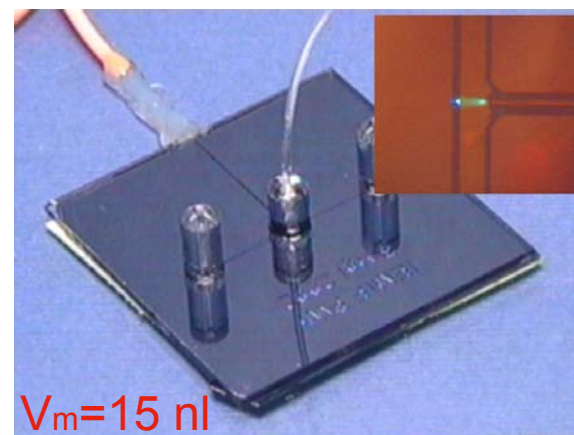


Komponenty mikrofluidyczne - przegląd

Mikroczipy optyczne spektrofluorescencyjne



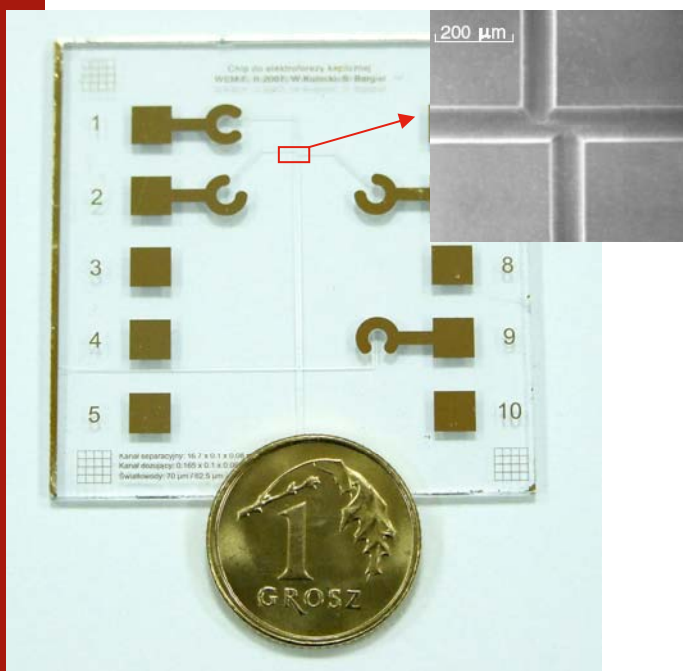
Schemat konstrukcji i zasady działania optycznego mikroczipa spektrofluorescencyjnego



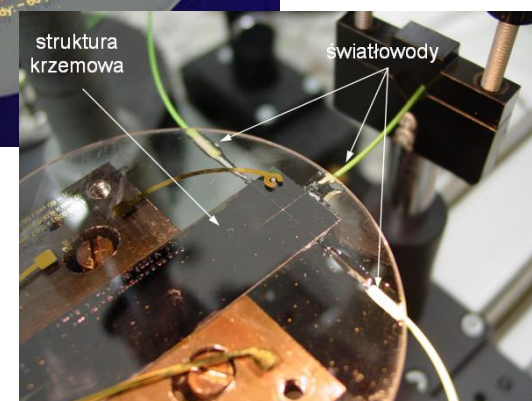
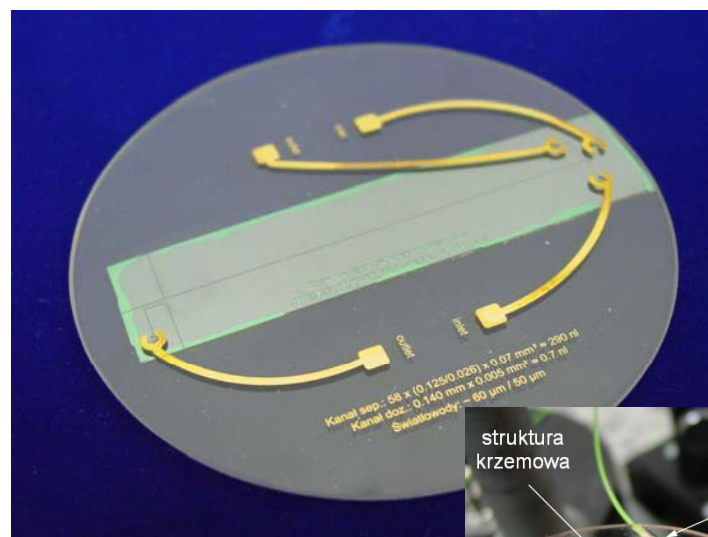
Widok czujnika i powiększony obszar wzbudzania i zbierania światła fluorescencji



Lab-chipy do elektroforezy kapilarnej



Szklany chip do elektroforezy kapilarnej i powiększony obszar dozownika (~5 nl)

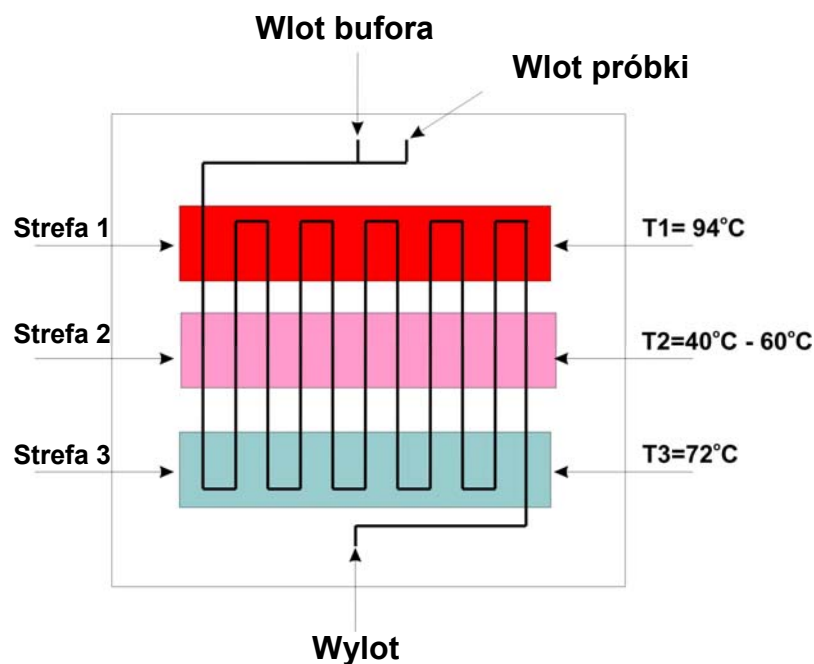


Krzemowo-szklany chip do elektroforezy kapilarnej ze zintegrowanym optycznym detektorem absorpcyjno-fluorescencyjnym,

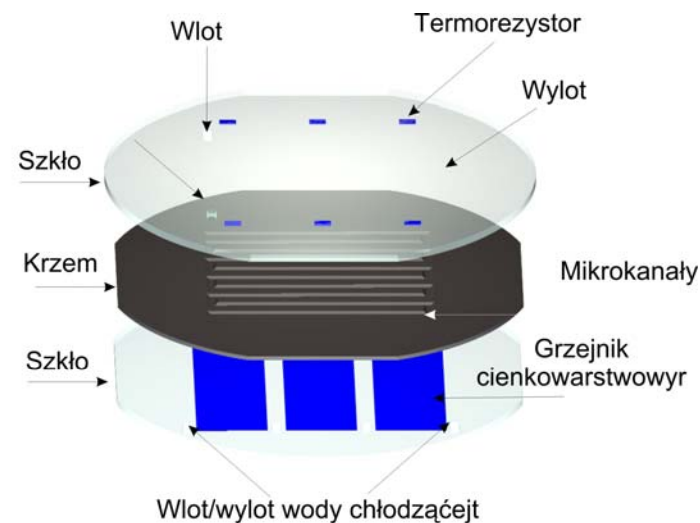
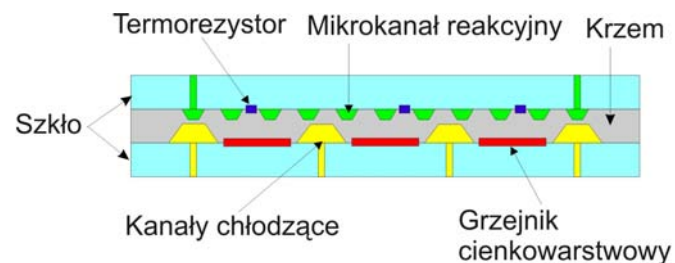


Lab-chipy DNA

Krzemowo-szklany przepływowy mikroreaktor PCR



Schemat konstrukcji mikroreaktora z trzema niezależnymi strefami grzewczymi

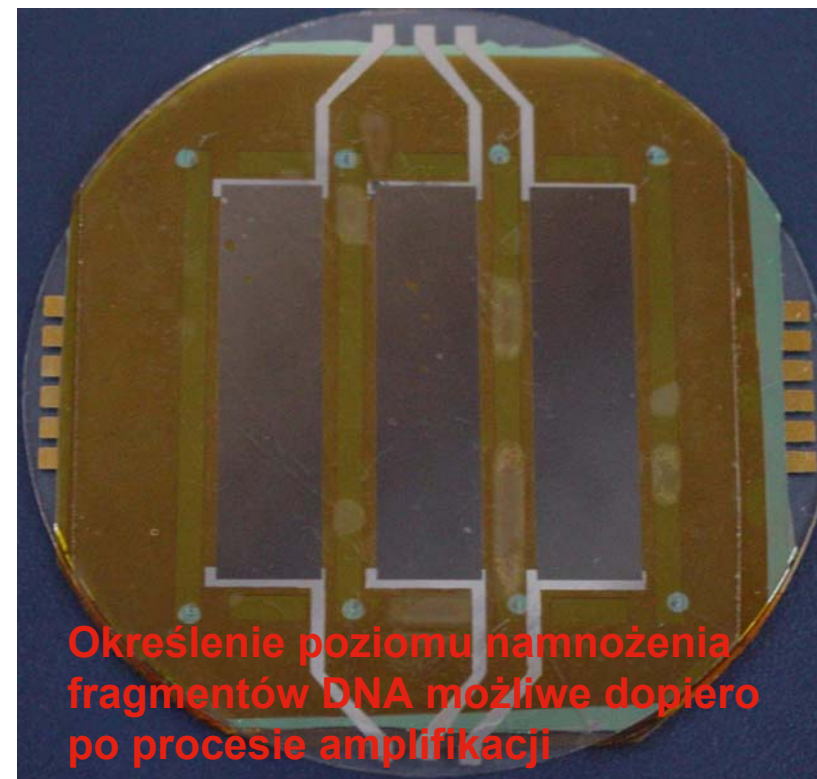
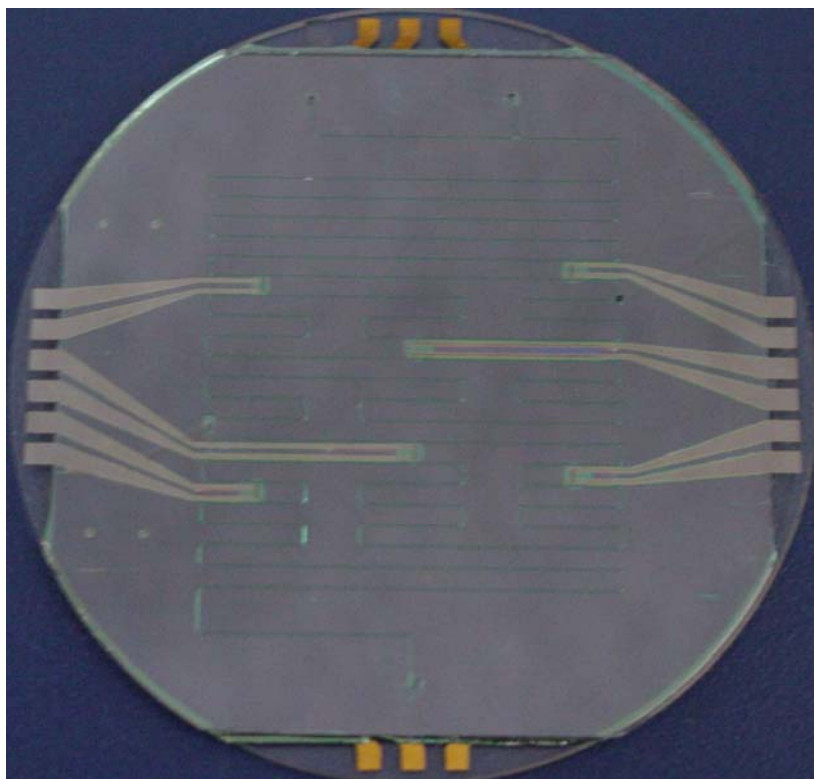


Przekrój i elementy składowe mikroreaktora



Lab-chipy DNA

Krzemowo-szkłany przepływowy mikroreaktor PCR

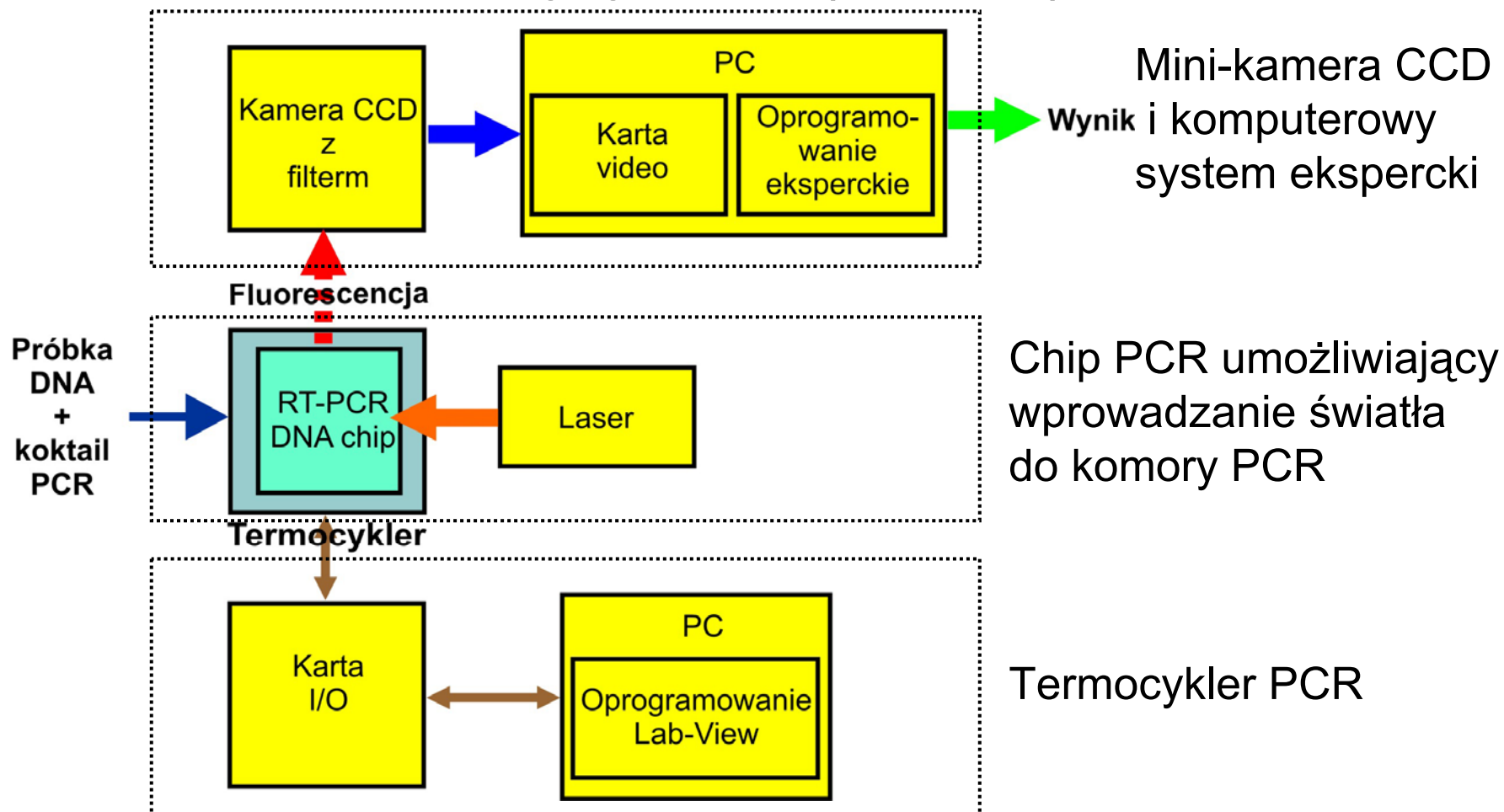


Widok mikroreaktora PCR od strony mikrokanalu reakcyjnego i od strony grzejników



Lab-chipy DNA

Miniaturowy system RT (Real Time) PCR

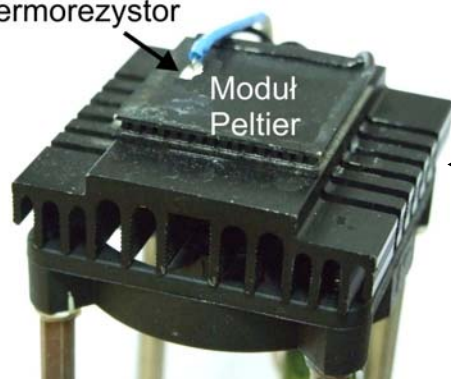




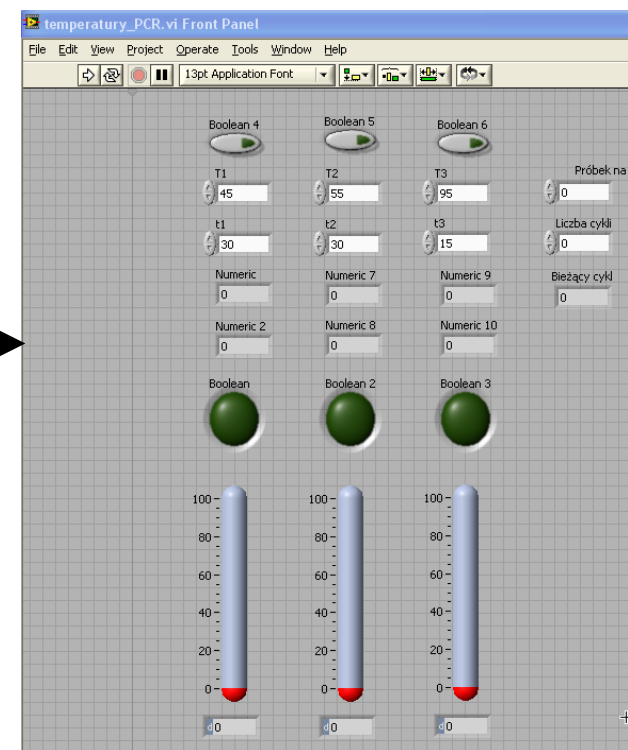
Lab-chipy DNA

Miniaturowy system RT-PCR – termocykler PCR

Termorezystor



Karta
komputerowa
A/C, I/O

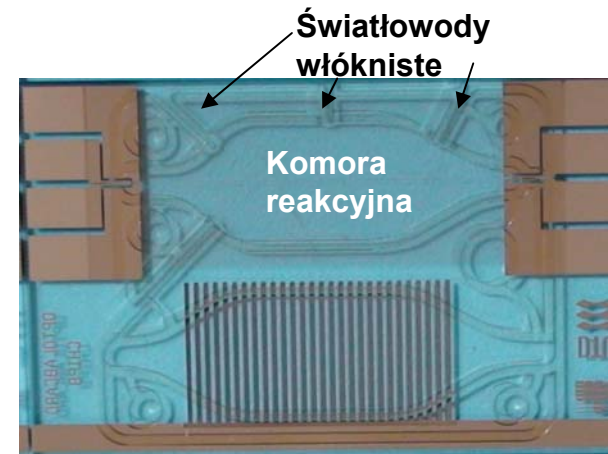
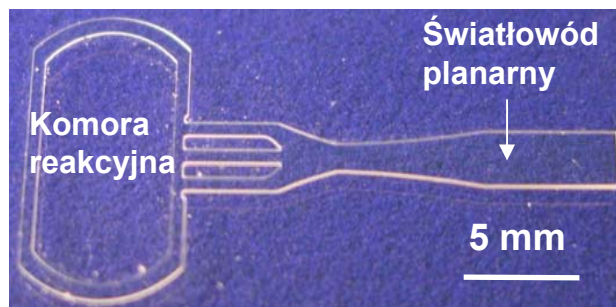
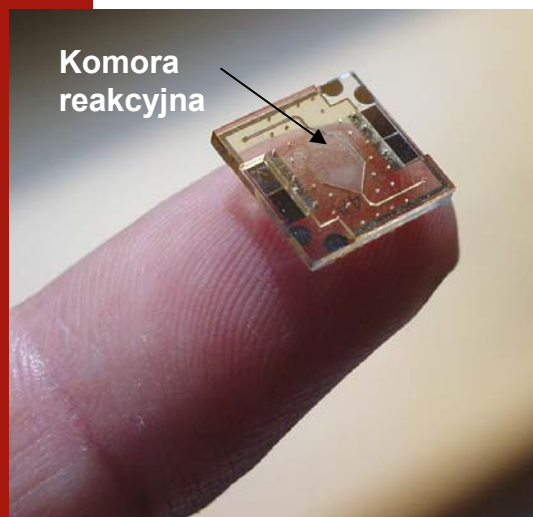


Oprogramowanie
kontrolno-sterujące

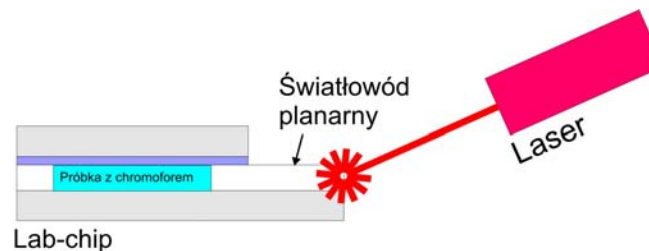


Lab-chipy DNA

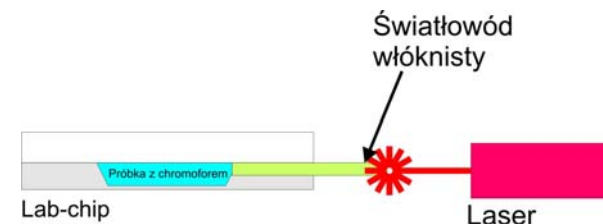
Miniaturowy system RT-PCR – chipy reakcyjne i sposoby wprowadzania światła do komory reakcyjnej



Chip DNA opracowany przez IKERLAN, Hiszpania



Chip DNA opracowany przez PMiM WEMiF PWr

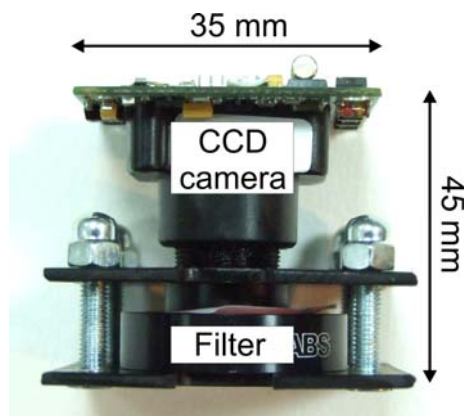


Chip DNA opracowany przez MIC DTU, Dania

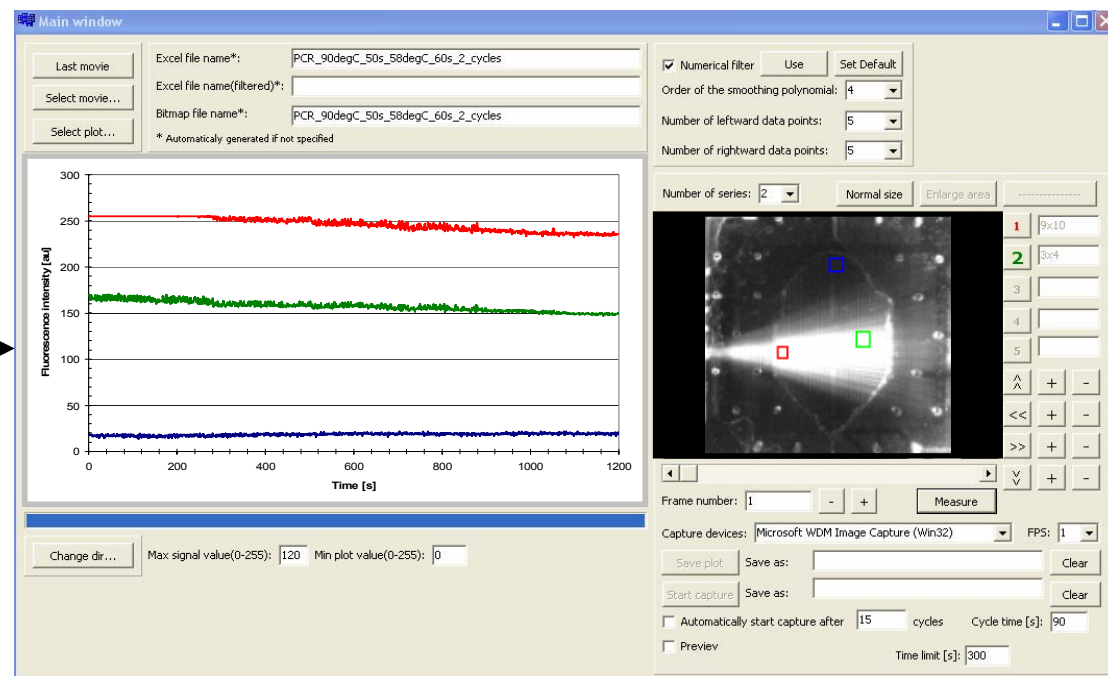


Lab-chipy DNA

Miniaturowy system RT-PCR – układ odczytu optycznego



Miniaturowa kamera CCD z układem optycznym i filtrem interferencyjnym



Oprogramowanie eksperckie prowadzące analizę obrazów (fluorescencji) w czasie rzeczywistym

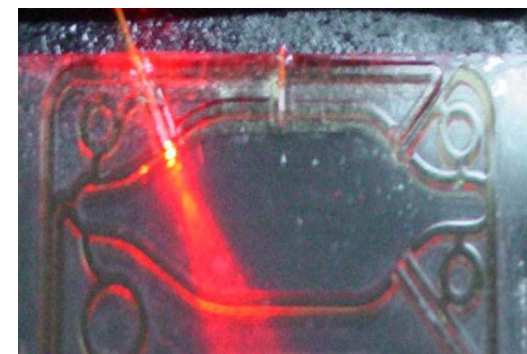
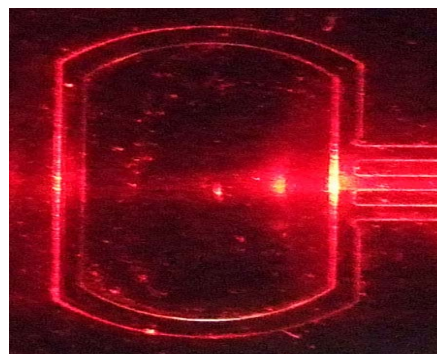
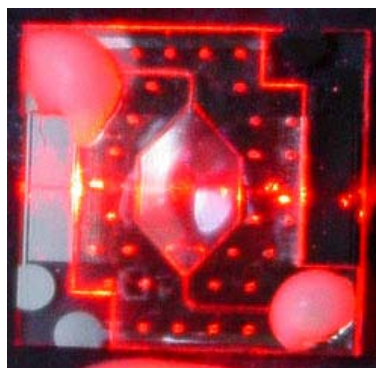


Lab-chipy DNA

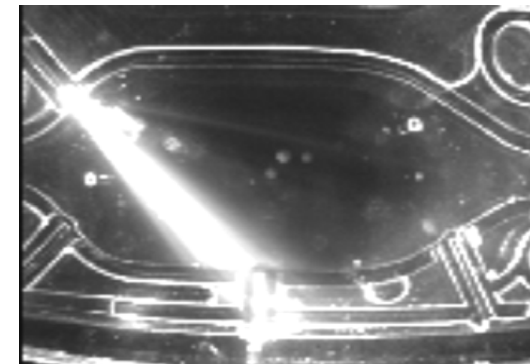
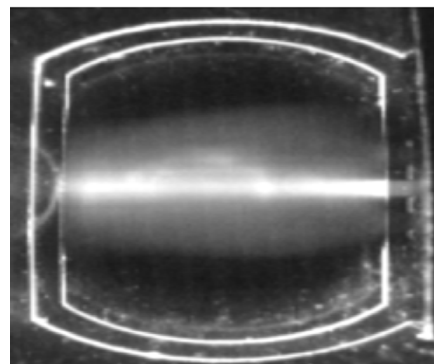
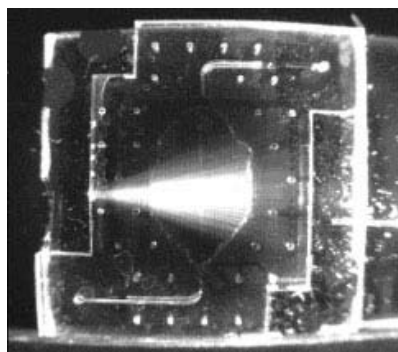
Miniaturowy system RT-PCR – obrazy chipów w trakcie analizy

Laser: 636 nm
Chromofor: TO-PRO 3

Ludzkie oko



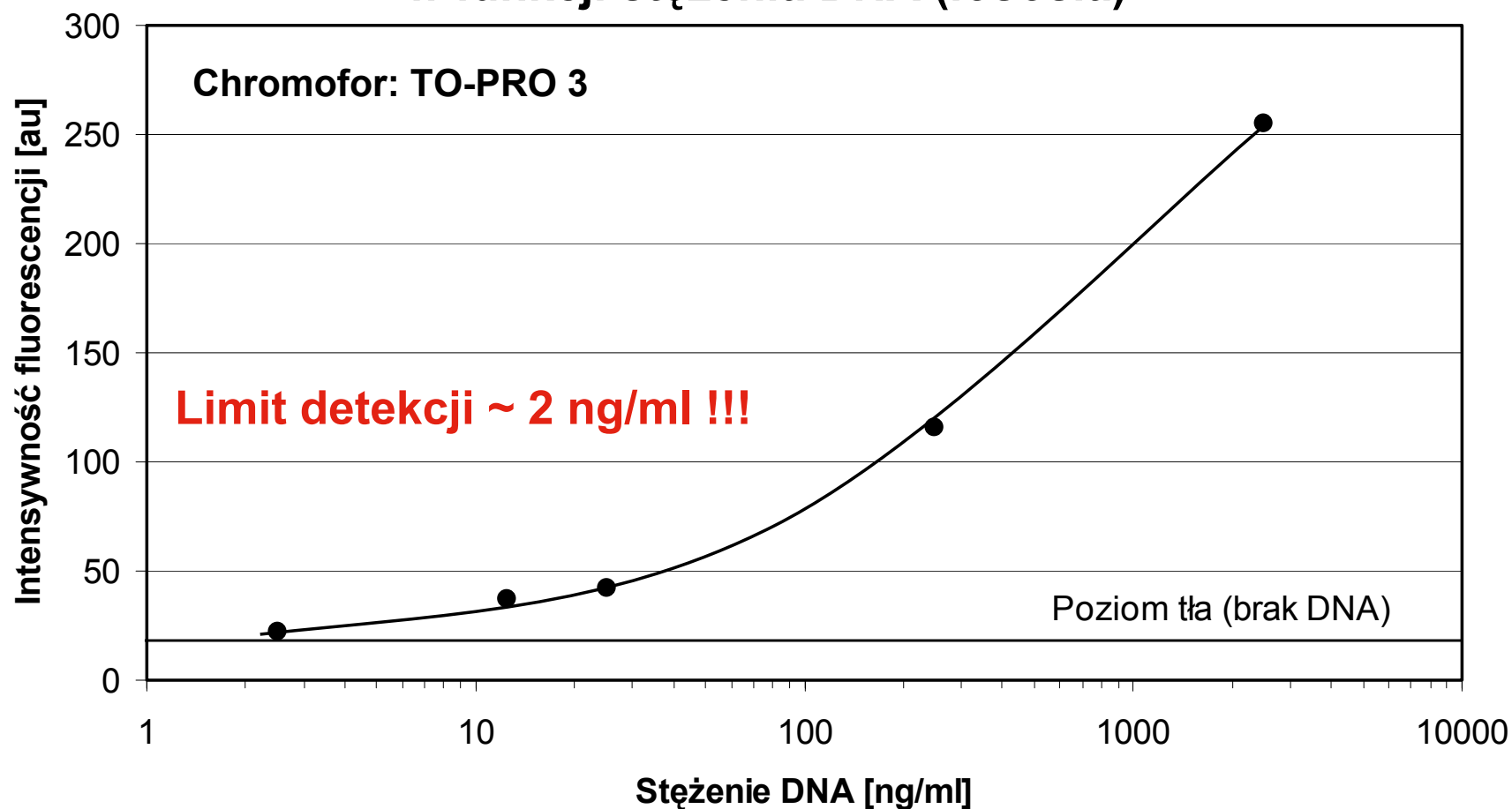
Układ odczytu optycznego





Lab-chipy DNA

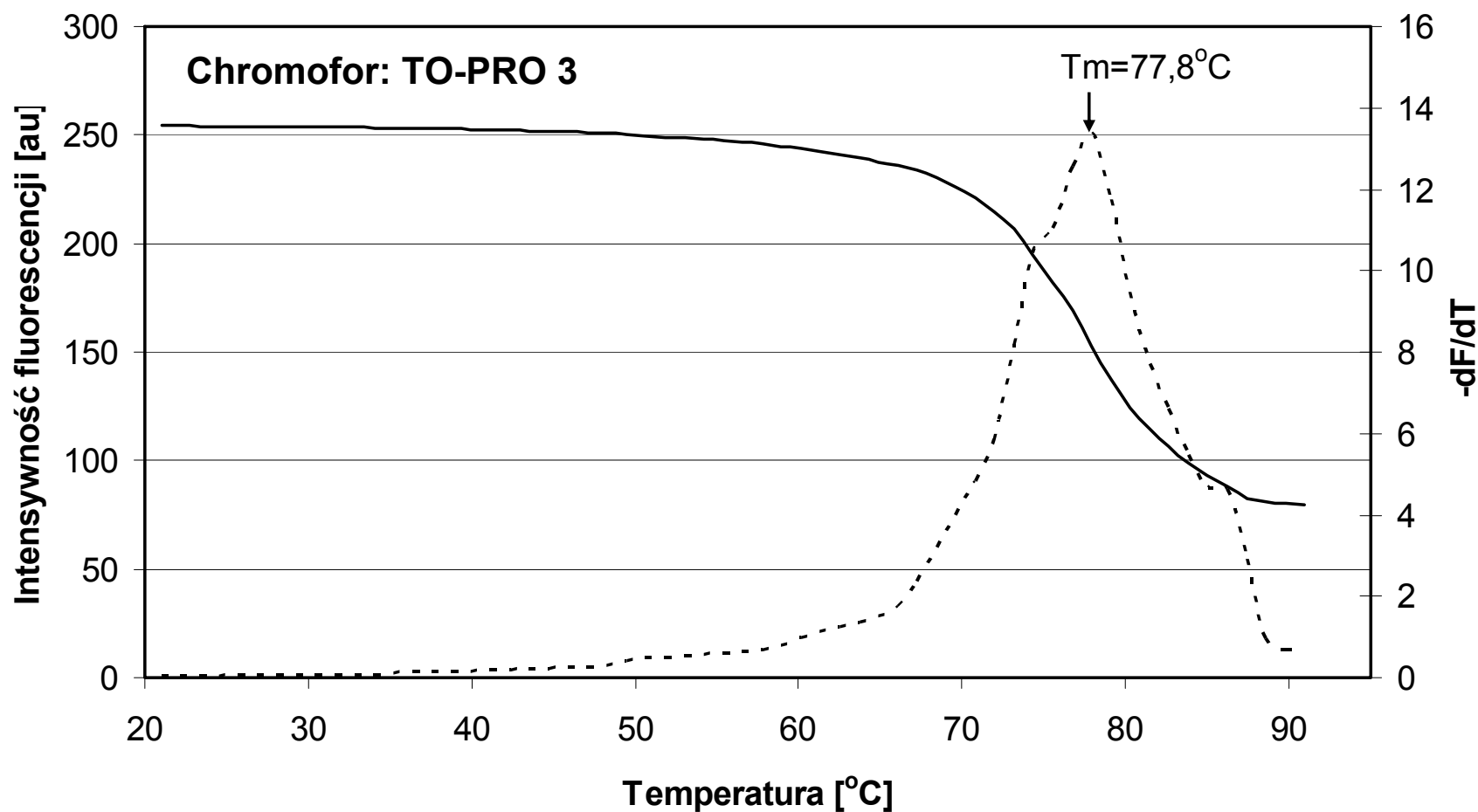
Miniaturowy system RT-PCR – intensywność fluorescencji w funkcji stężenia DNA (łososia)





Lab-chipy DNA

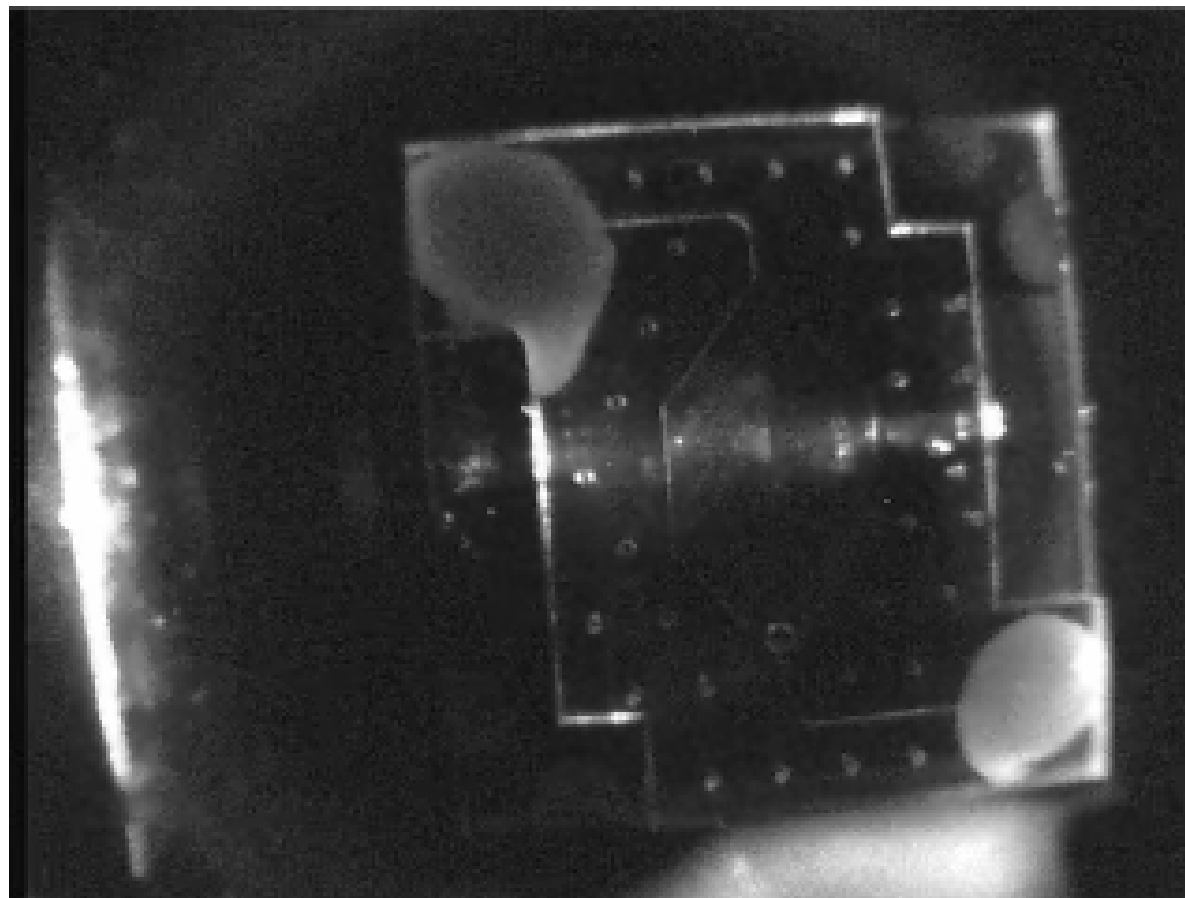
Miniaturowy system RT-PCR – krzywa mięknięcia DNA (łososia)





Lab-chipy DNA

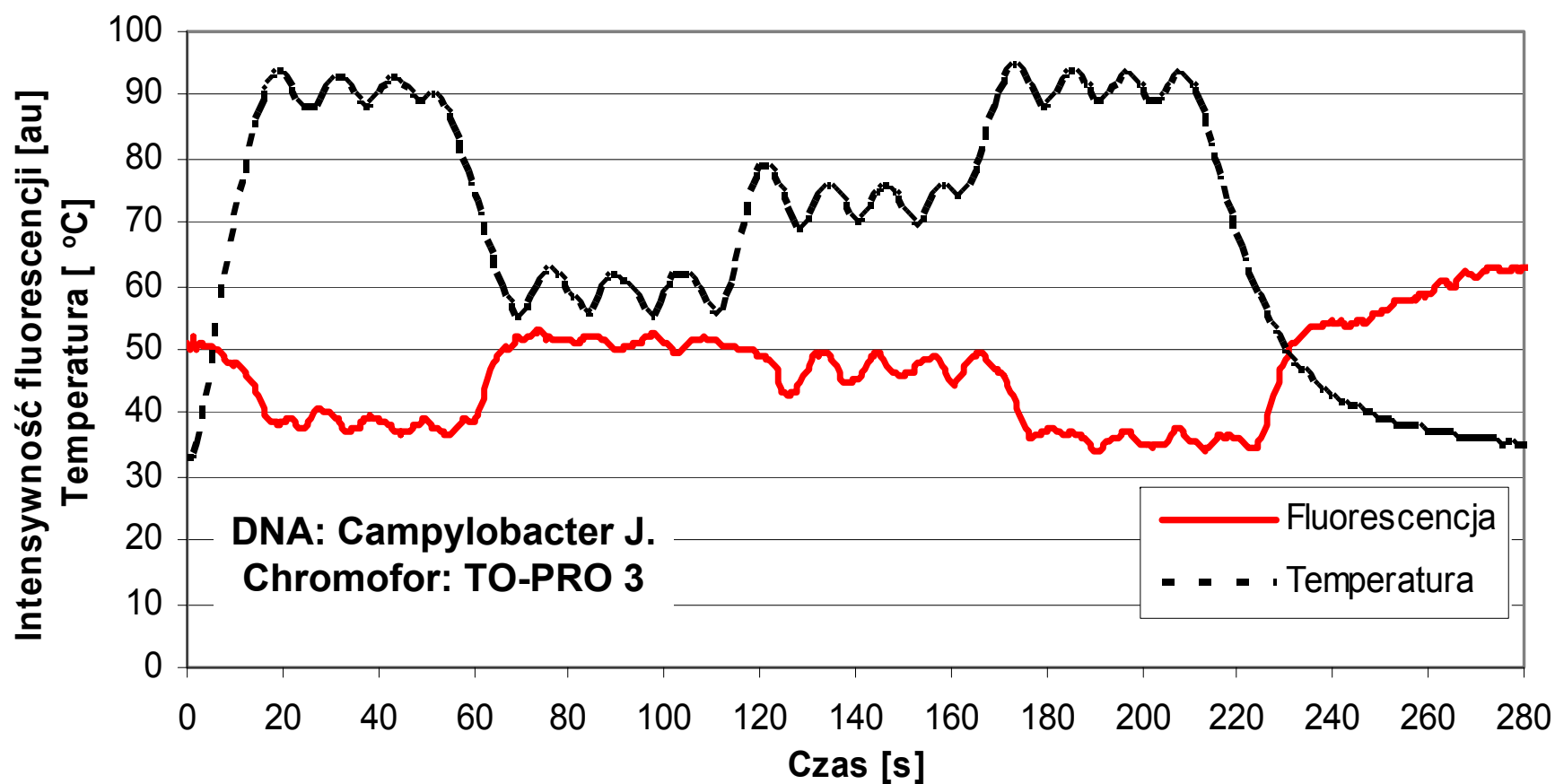
Miniaturowy system RT-PCR – rzeczywisty proces





Lab-chipy DNA

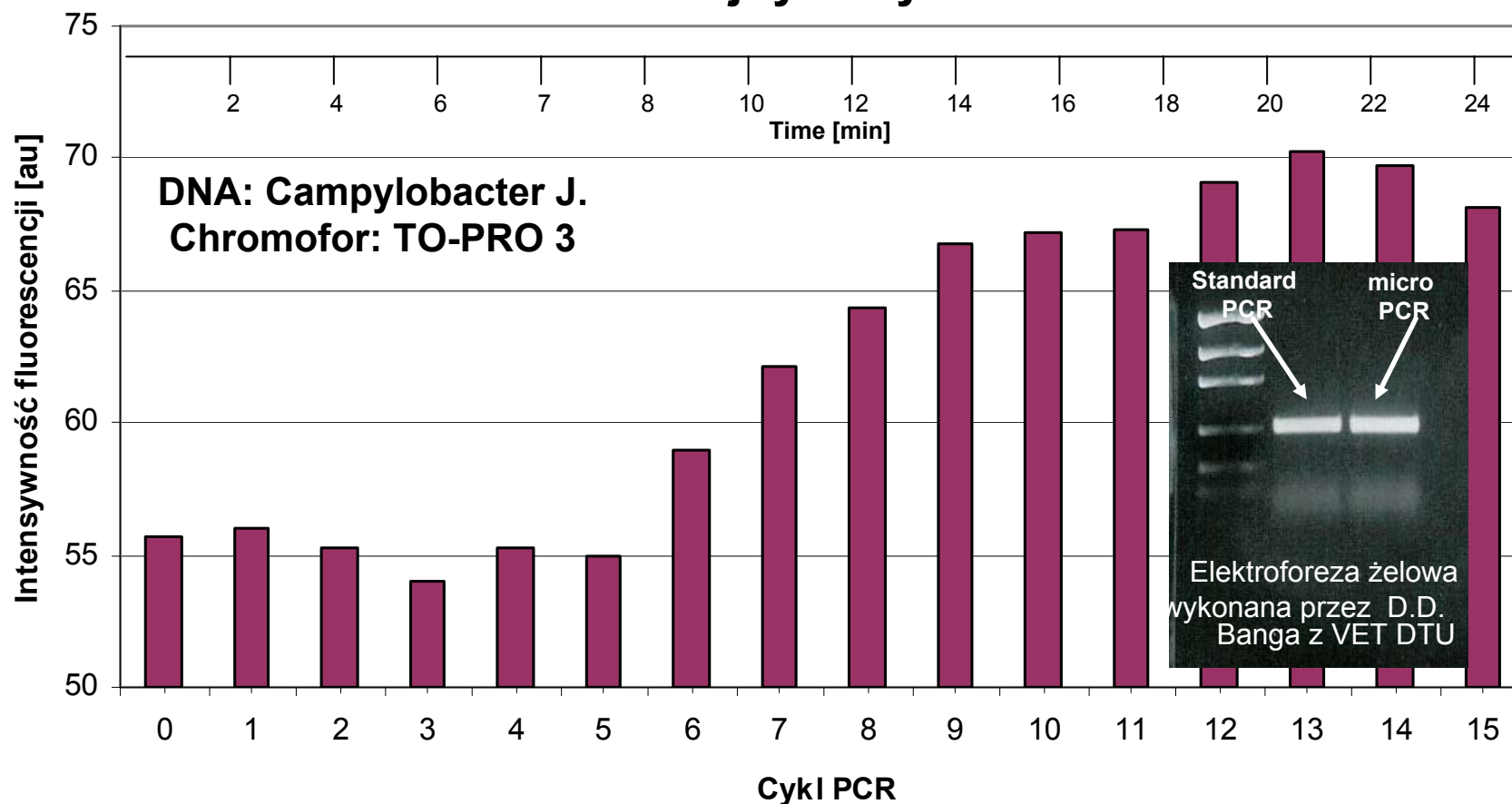
Miniaturowy system RT-PCR – rzeczywisty proces





Lab-chipy DNA

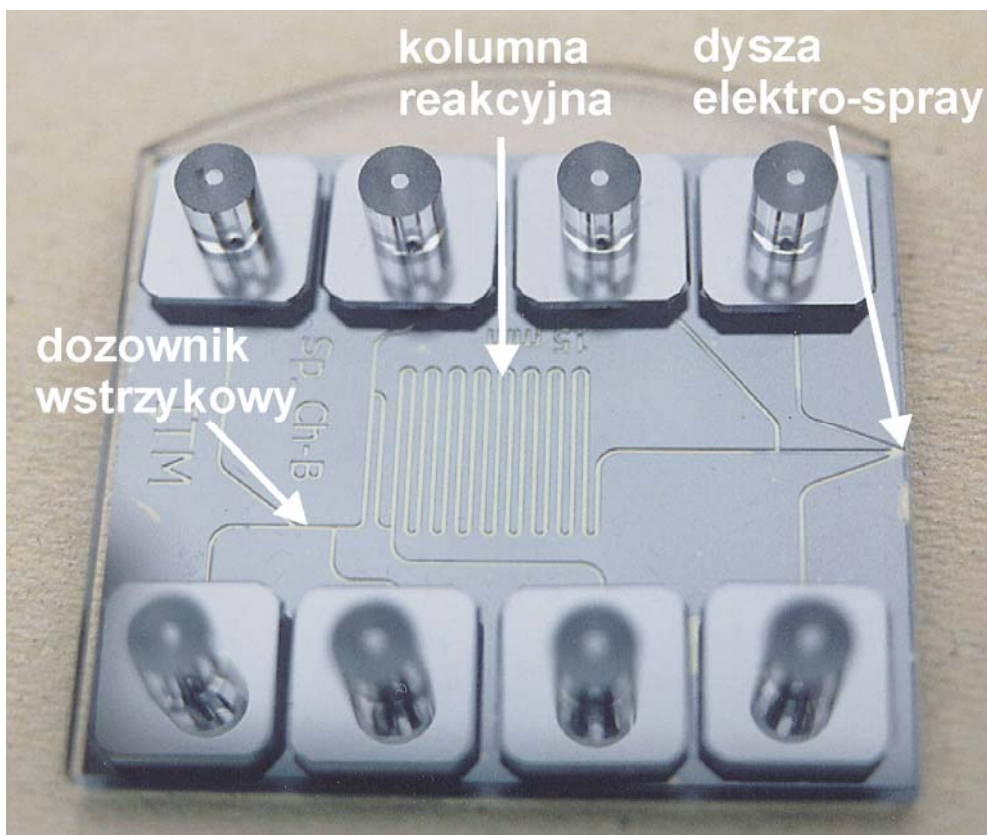
Miniaturowy system RT-PCR – intensywność fluorescencji w kolejnych cyklach



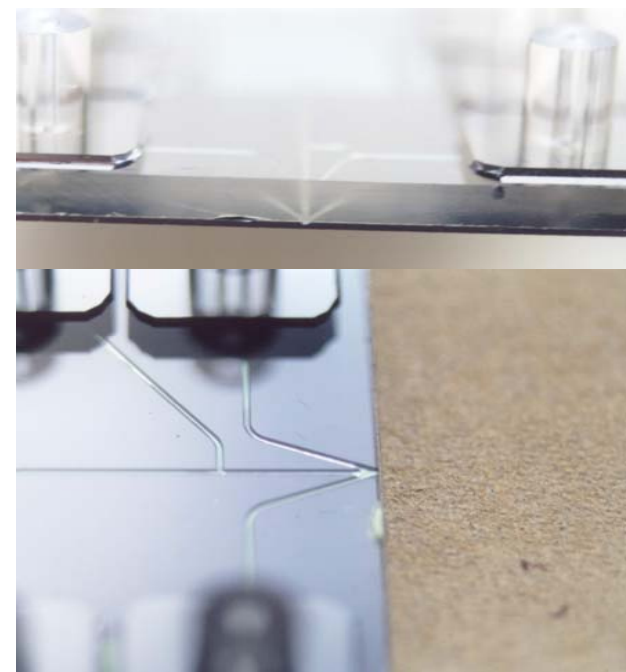


Mikroreaktory biochemiczne

Electro-spray chip – konstrukcja i detale



Widok mikroreaktora

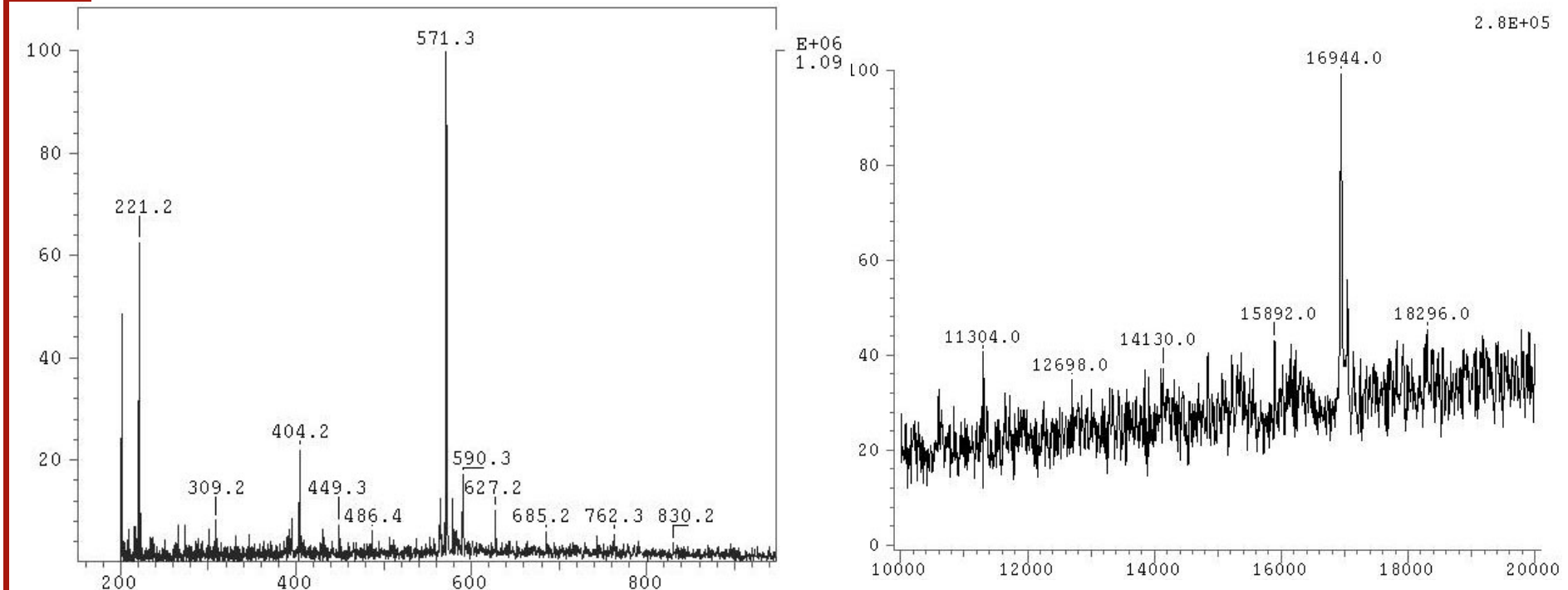


Detale konstrukcyjne – dysza electro-spray



Mikroreaktory biochemiczne

Electro-spray chip – wynik analizy masowej gramicydyny i mioglobiny

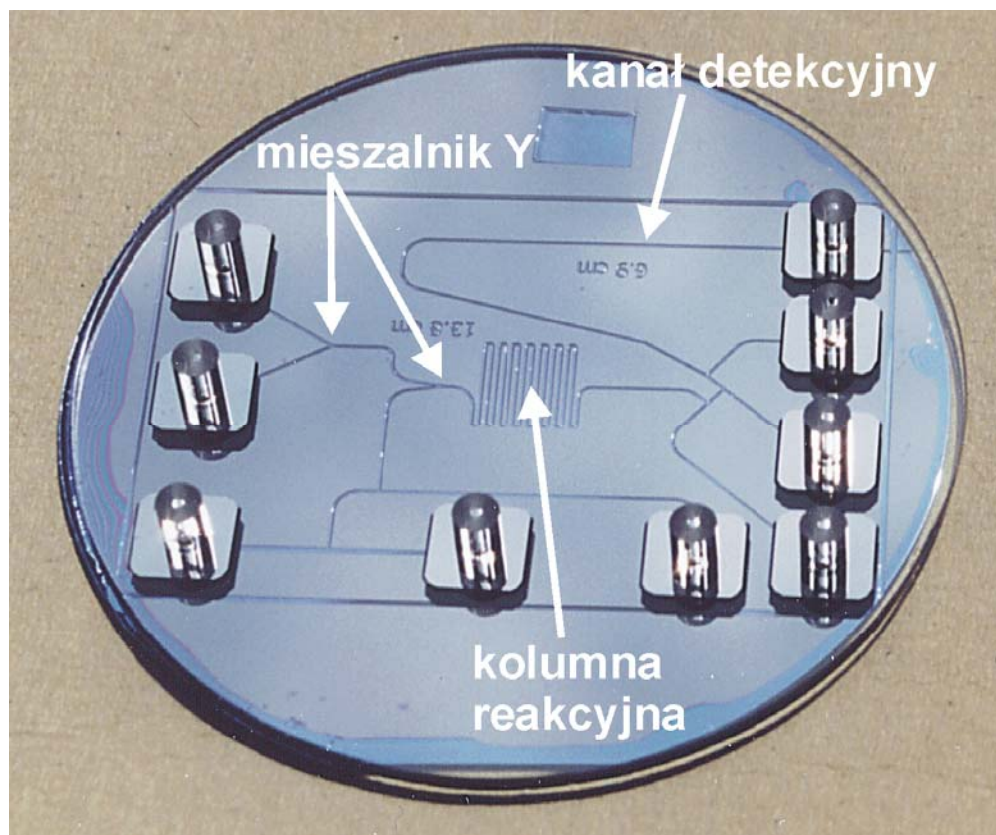


Testy przeprowadzono przy współpracy z prof. J. Silberringiem z Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

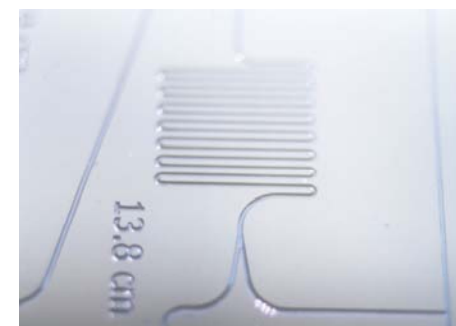
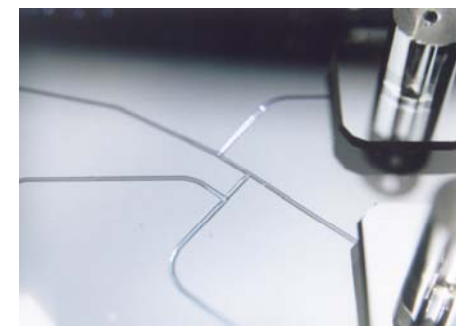


Mikroreaktory biochemiczne

Immunoassay chip – konstrukcja i detale



Widok mikroreaktora

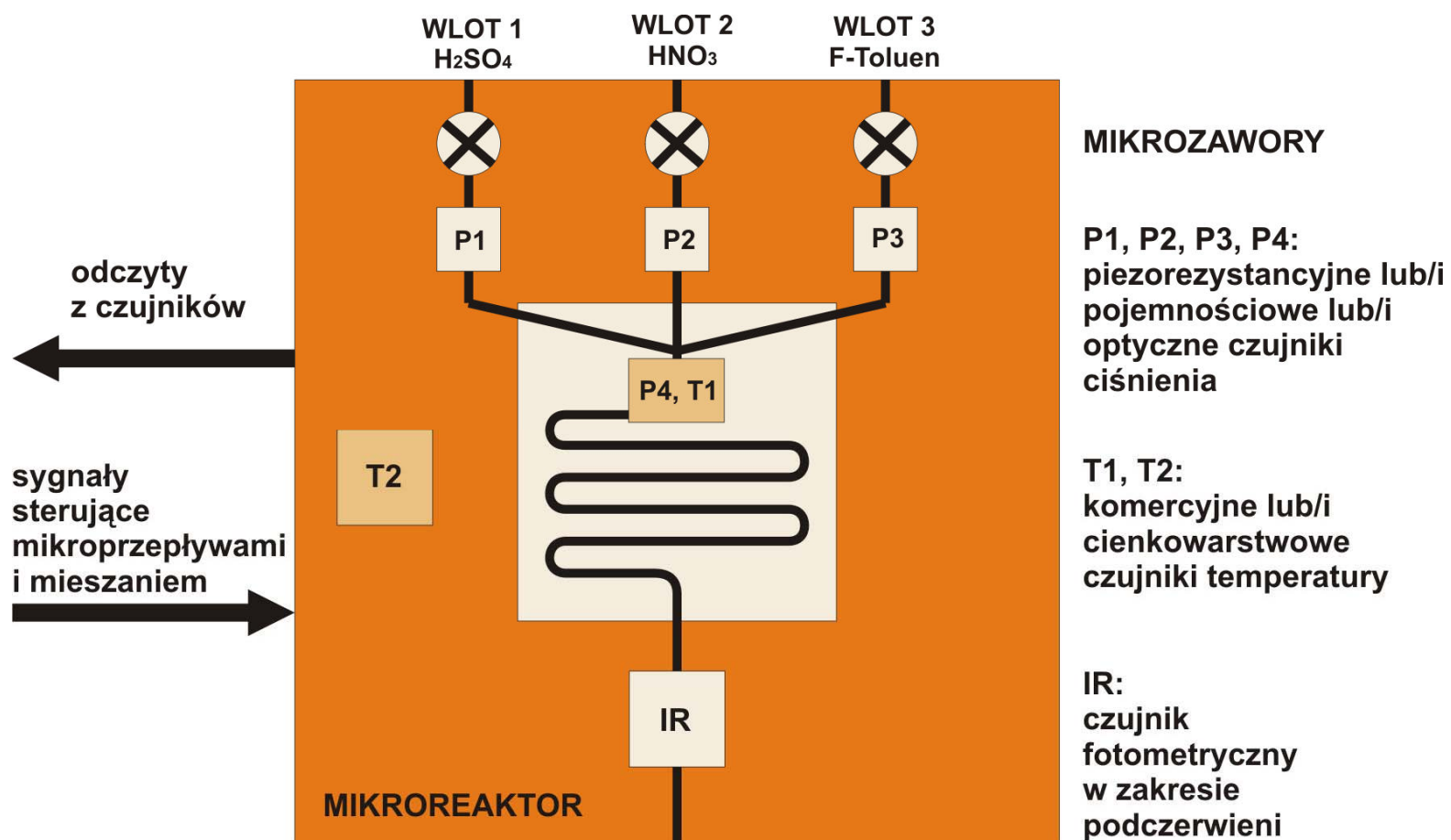


Detale konstrukcyjne – dozownik elektroforetyczny i mieszalnik typu Y wraz z mikrokolumną reakcyjną



Mikroreaktory chemiczne

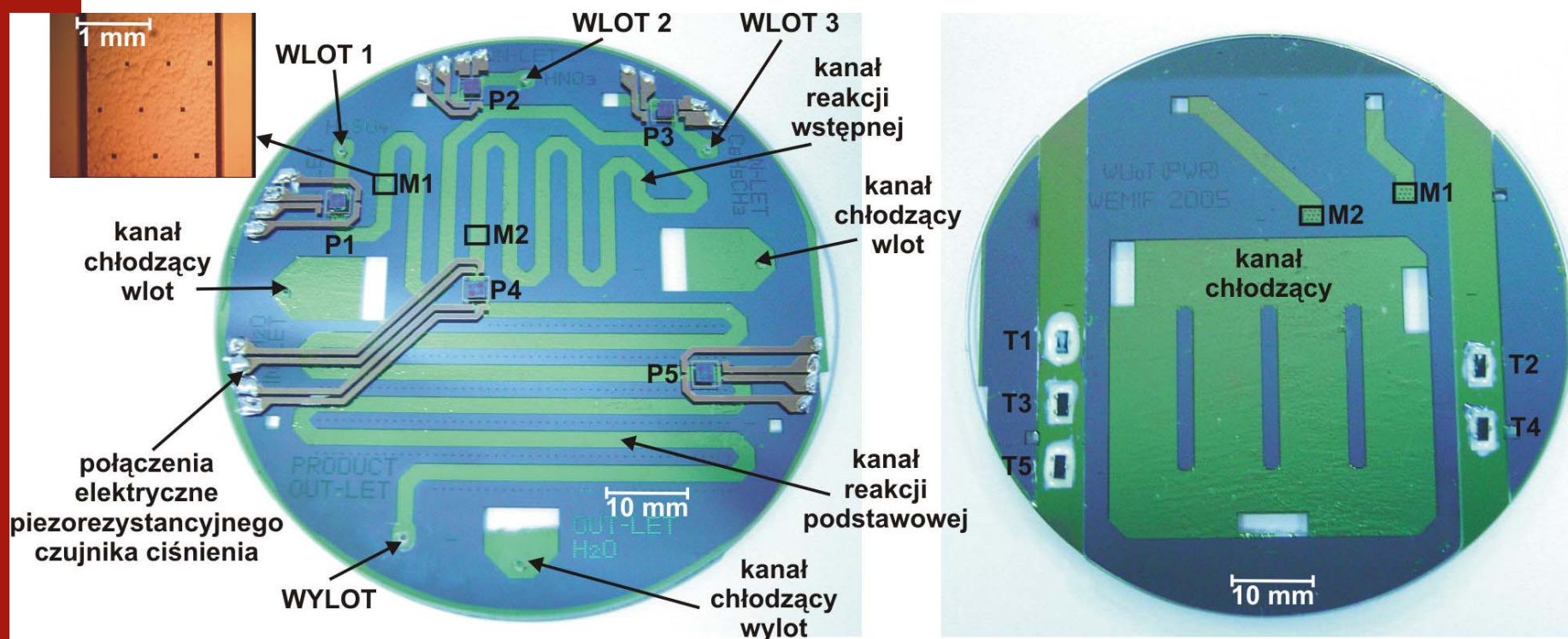
Inteligentny mikroreaktor – schemat budowy





Mikroreaktory chemiczne

Mikroreaktor krzemowo-szklany zintegrowany z czujnikami



Awers i rewers mikroreaktora chemicznego do prowadzenia reakcji nitracji, powiększony obszar mieszalnik wielostrumieniowego



Mikroreaktory chemiczne

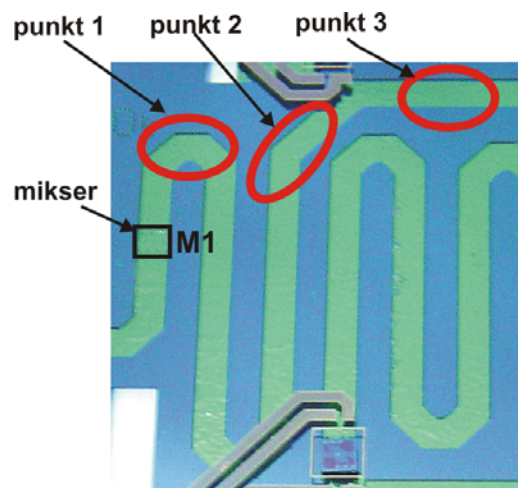
Mikroreaktor krzemowo-szklany zintegrowany z czujnikami – testy mieszania

Testy mieszania.

Widok z kamery
w różnych miejscach
meandra

Mieszanie

$KMnO_4 + H_2O$ (DI)



MICROREACTOR
FOR
NITRATION PROCESS
(TESTS)

carrier: WATER
dissaged liquid: $KMnO_4$ (H₂O)



Mikroreaktory chemiczne

Mikroreaktor krzemowo-szklany zintegrowany z czujnikami – testy mieszania

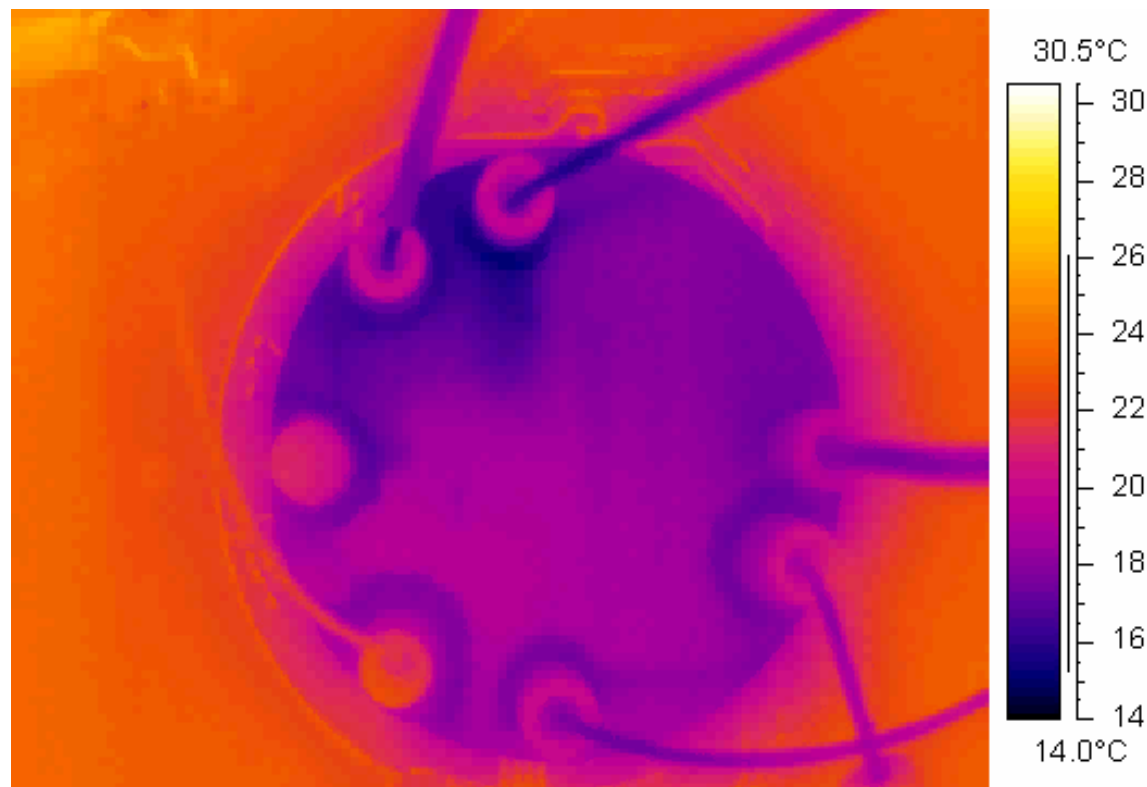
Testy mieszania

Widok z kamery IR

Mieszanie

H_2SO_4 (100%) + H_2O (DI)

Utrzymano temperaturę
poniżej $30,5^\circ\text{C}$
(zgodnie z założeniami)



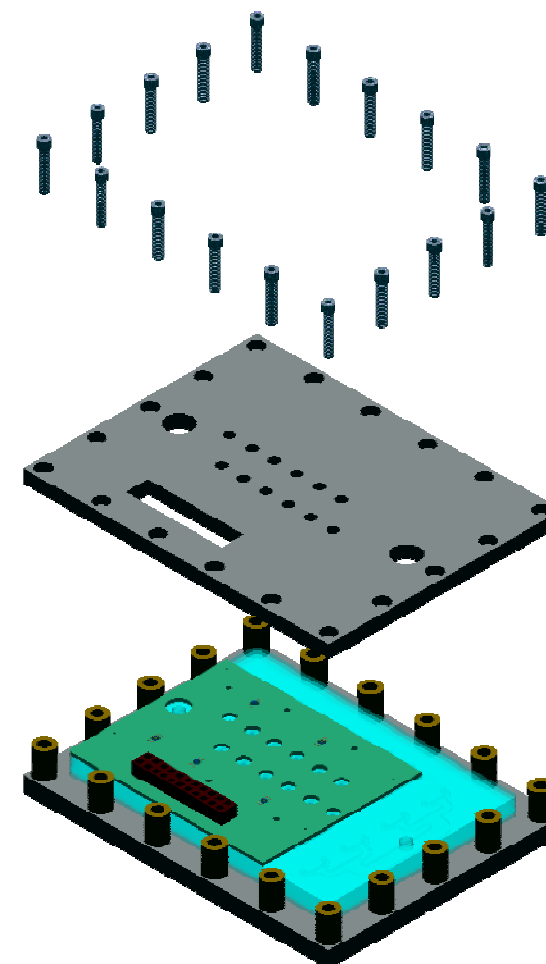


Mikroreaktory chemiczne

Mikroreaktor z „fotoszklą” (FOTURAN) z platformą mikroczuJNIKÓW



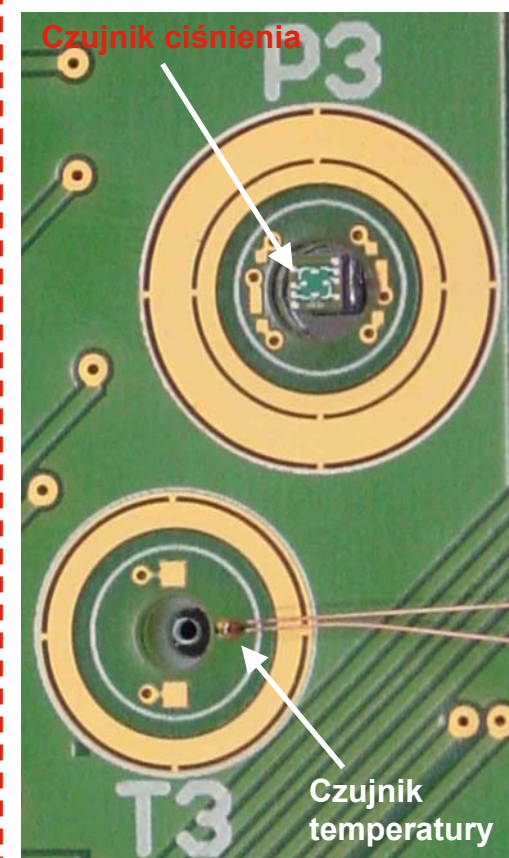
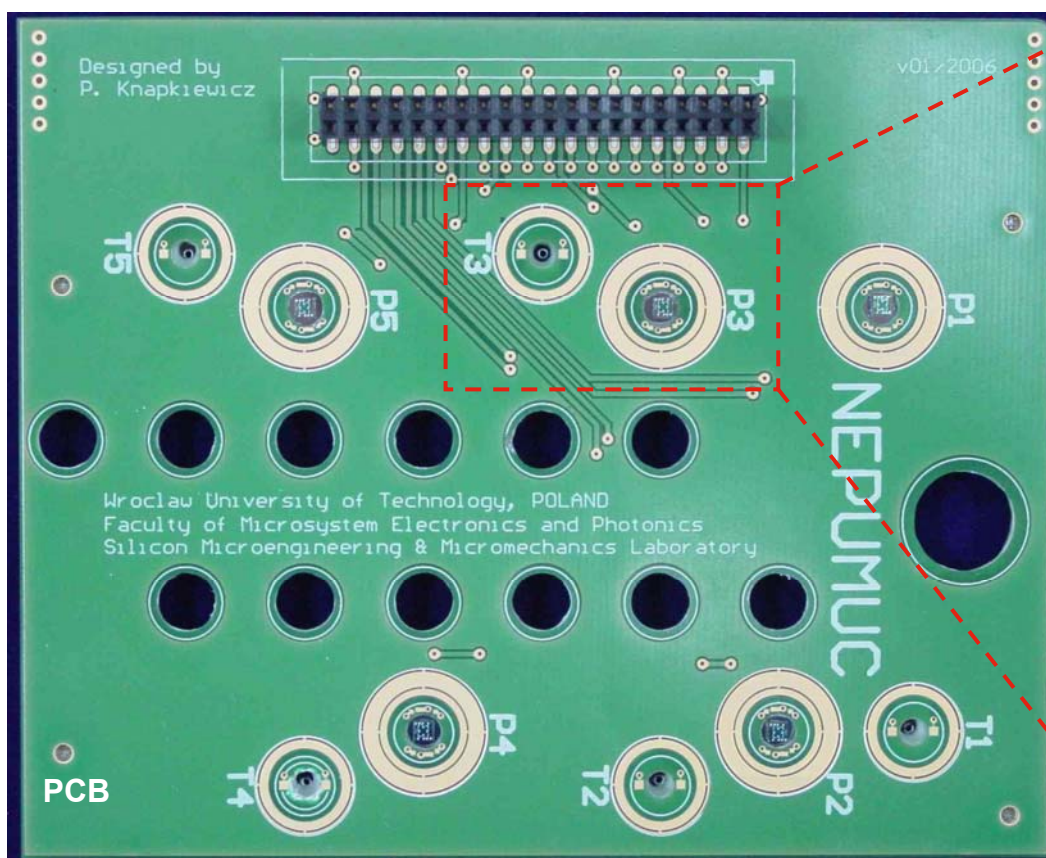
Widok mikroreaktora (mikroglas, Niemcy) oraz elementy obudowy wraz z platformą sensorową





Mikroreaktory chemiczne

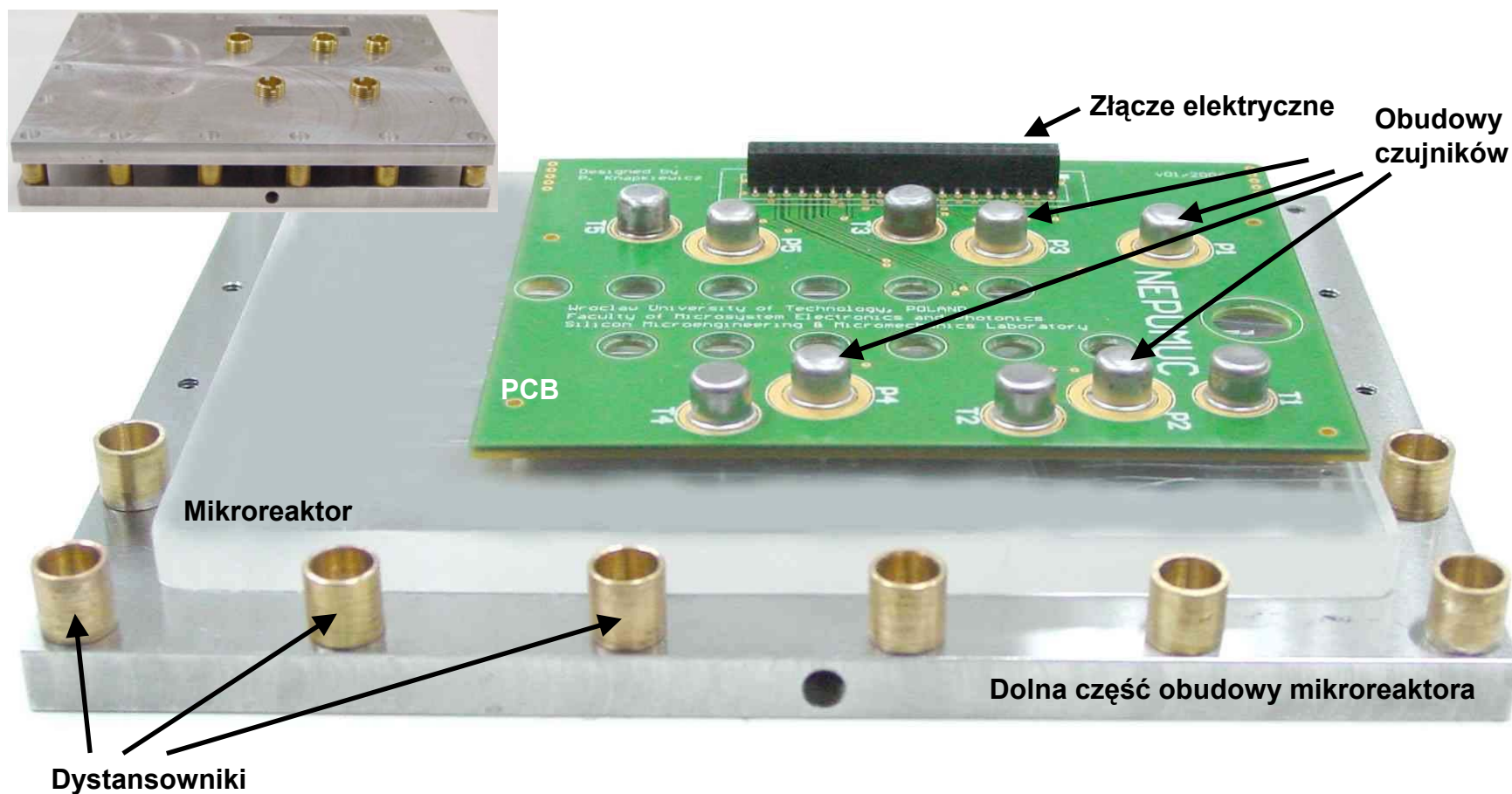
Platforma mikroczyjników dla mikroreaktora





Mikroreaktory chemiczne

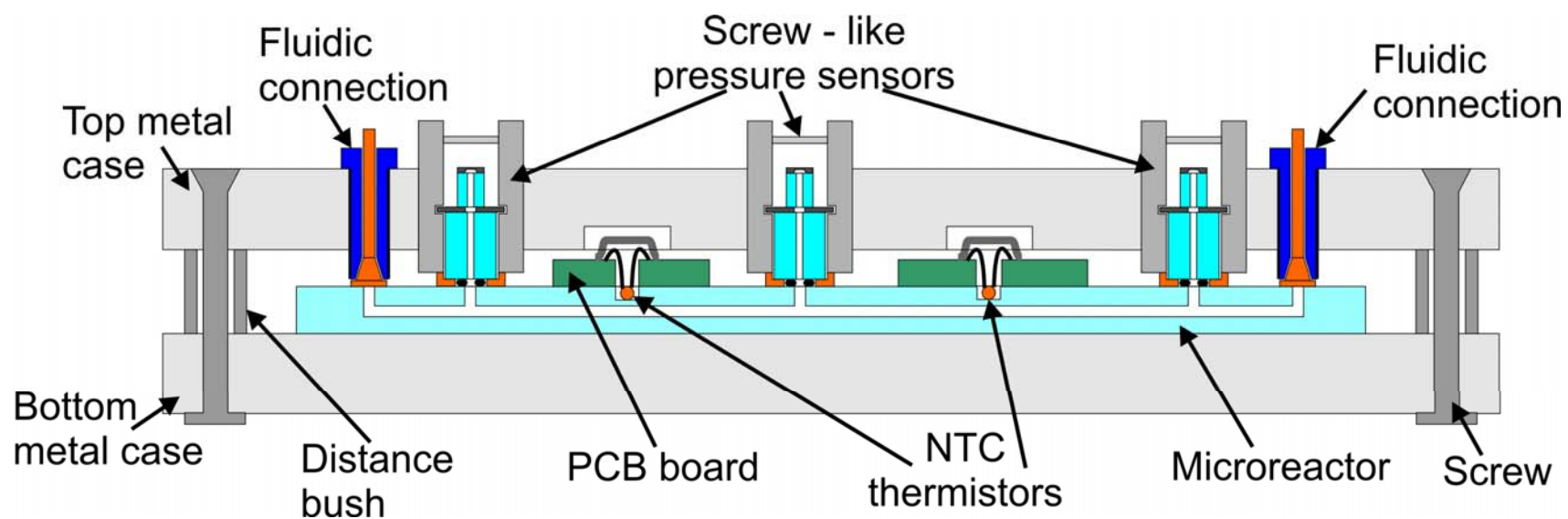
Mikroreaktor z FOTURANu z platformą mikroczujników





Mikroreaktory chemiczne

Mikroreaktor z FOTURANu z dyskretnymi mikroczujnikami

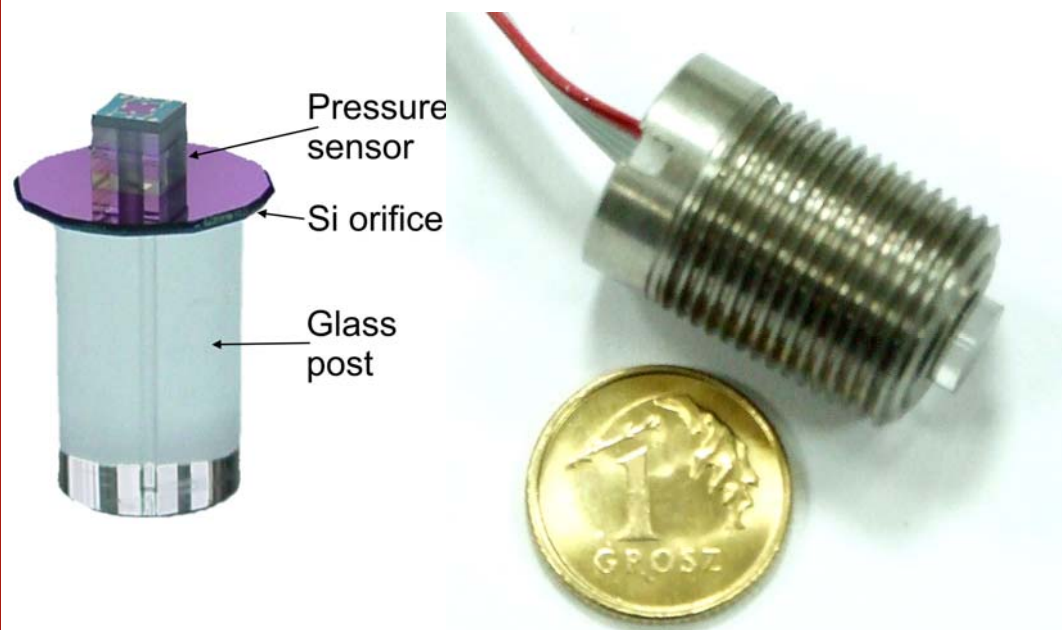


Przekrój przez mikroreaktor w metalowej obudowie i z czujnikami ciśnienia oraz temperatury



Mikroreaktory chemiczne

Dyskretne mikroczujniki ciśnienia dla mikroreaktora



Krzemowo-szklana struktura mikroczujnika oraz czujnik w metalowej obudowie gotowy do wkręcenia do obudowy mikroreaktora

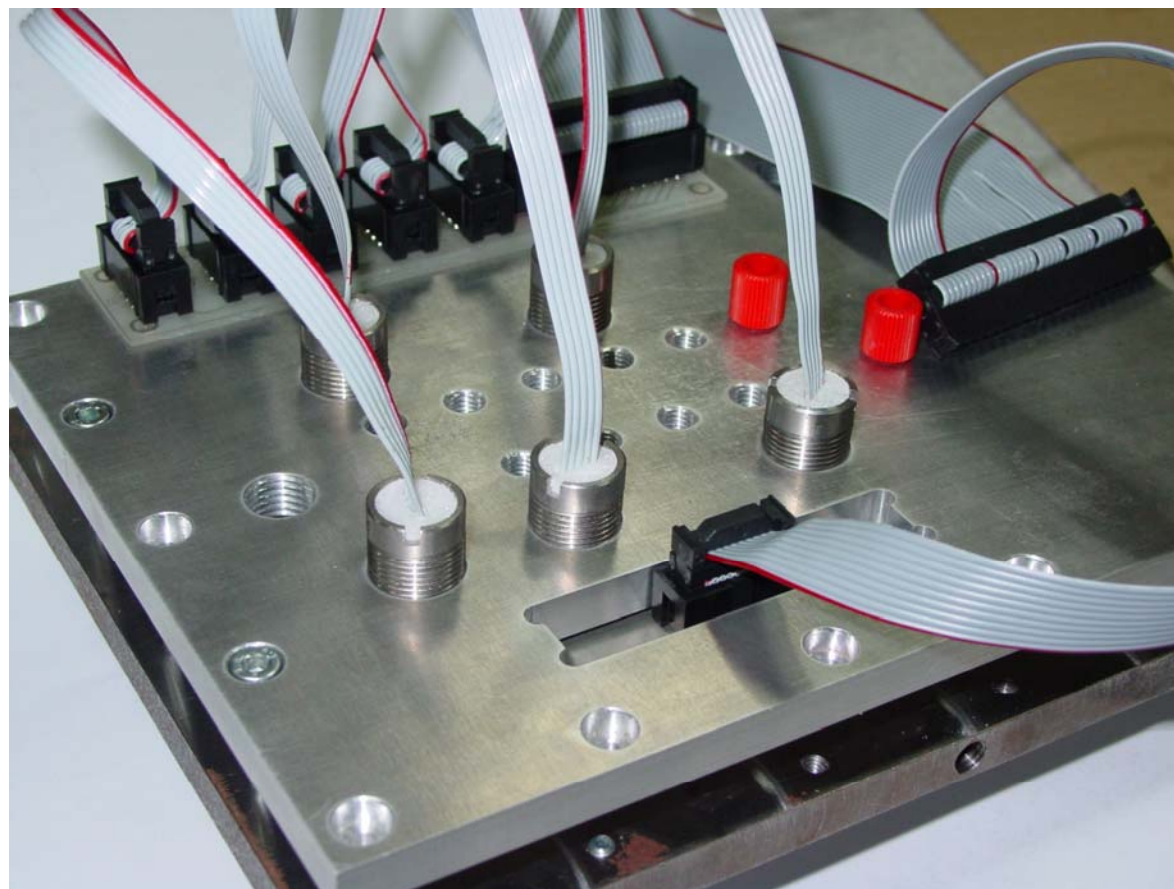
Parameter	Value	Unit
Full scale output voltage (FSO)*	285	mV
Offset voltage*	25,5	mV
Bridge resistance	5	k Ω
Non-linearity *	0,38	%
Pressure hysteresis *	0,33	%
Sensitivity coefficient *	9,7	mV/V/100kPa
Temperature offset coefficient **	0,1	%/°C
Temperature sensitivity coefficient **	0,32	%/°C
Total pneumatic error *	0,71	%

Główne parametry metrologiczne mikroczujnika



Mikroreaktory chemiczne

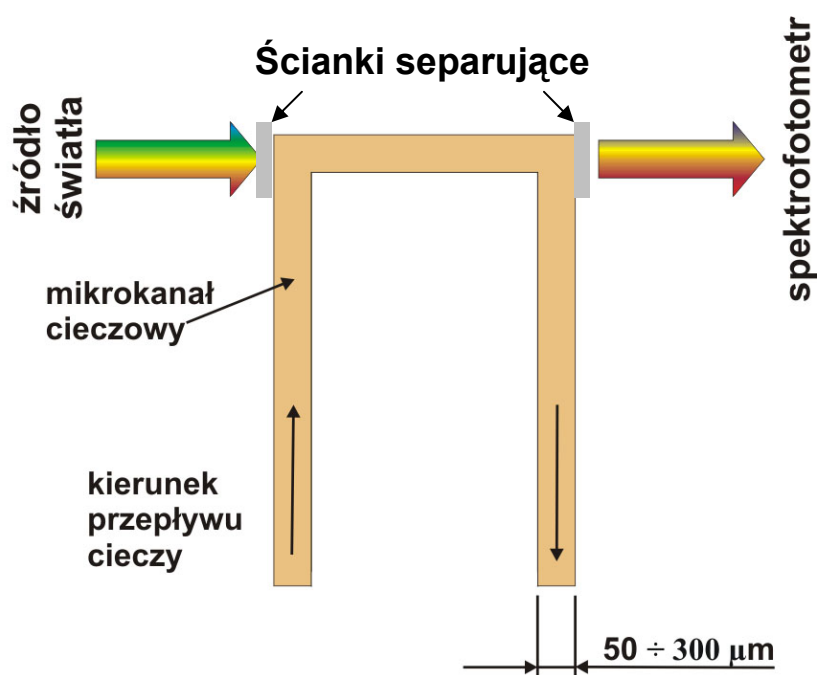
Mikroreaktor z FOTURANU z metalowej obudowie i wyposażony w dyskretne czujniki ciśnienia



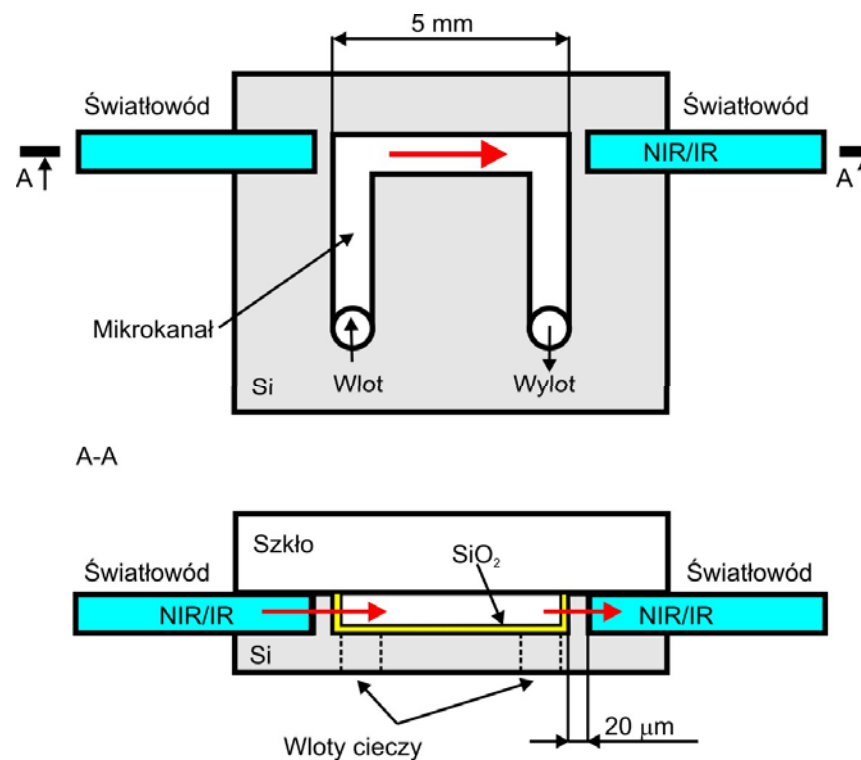


Mikroreaktory chemiczne

Krzemowo-szklany detektor optyczny absorpcyjny na zakres NIR/IR



Zasada działania i separacji toru optycznego i mikrofluidycznego

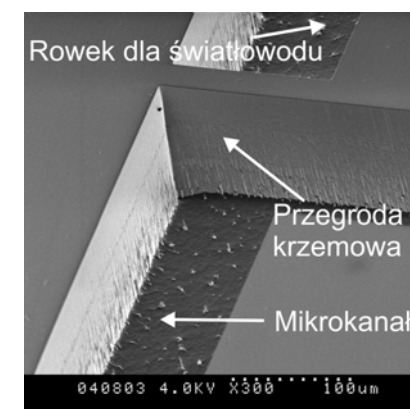
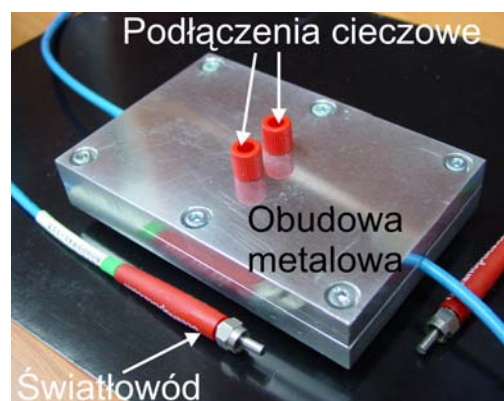
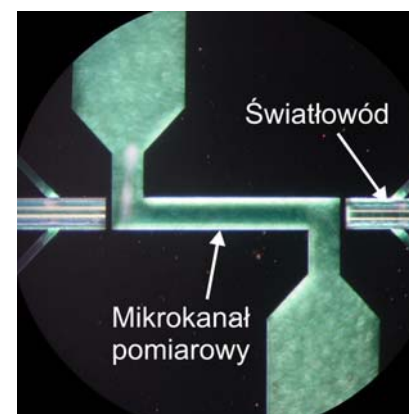
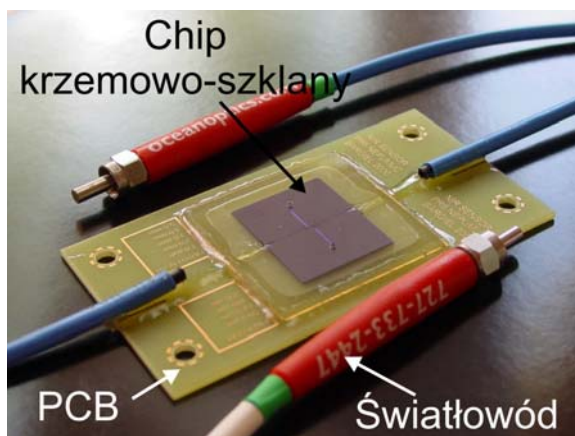


Widok z góry i przekrój mikrodetektora



Mikroreaktory chemiczne

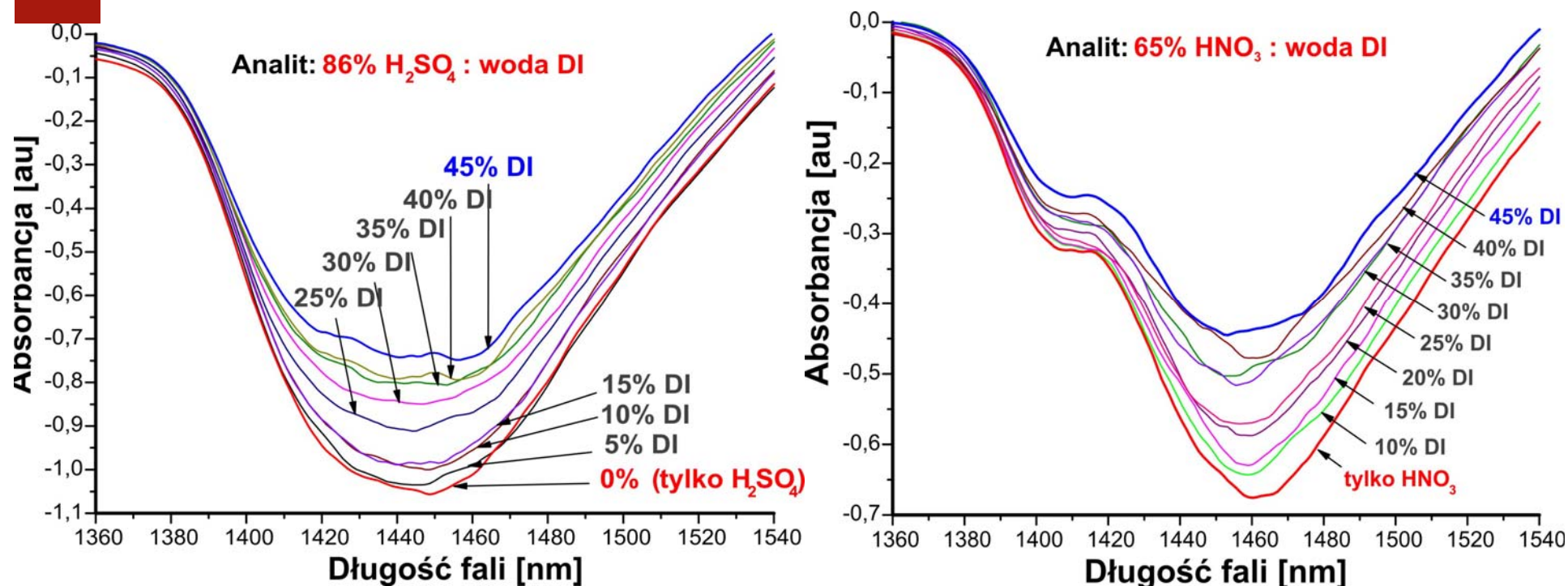
Krzemowo-szklany detektor optyczny absorpcyjny na zakres NIR/IR – wygląd struktury i detale konstrukcyjne





Mikroreaktory chemiczne

Krzemowo-szklany detektor optyczny absorpcyjny na zakres NIR/IR

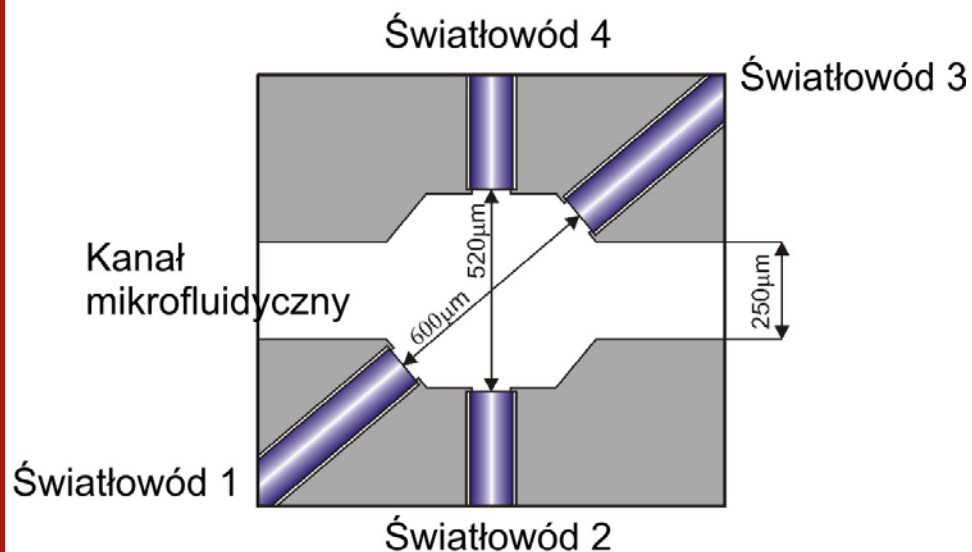


Wyniki analizy mieszanin kwasu siarkowego z wodą i azotowego z wodą



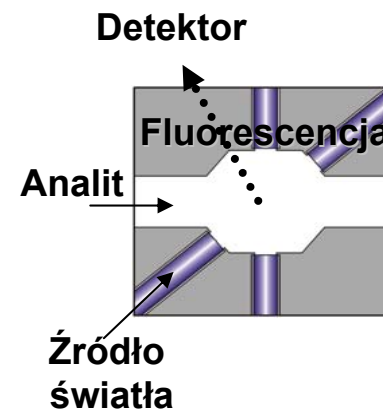
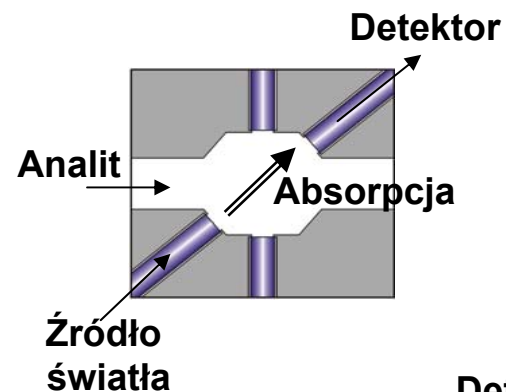
Zintegrowany cytometr

Krzemowo-szkłany mikrocytometr - konstrukcja



Kanał mikrofluidyczny: 250 μm szeroki, 155 μm głęboki
Mikrokomora pomiarowa: objętość 40 nL
Długość drogi optycznej 520 μm lub 600 μm
Światłowody włókniste: Ocean Optics 125/100 μm , ST

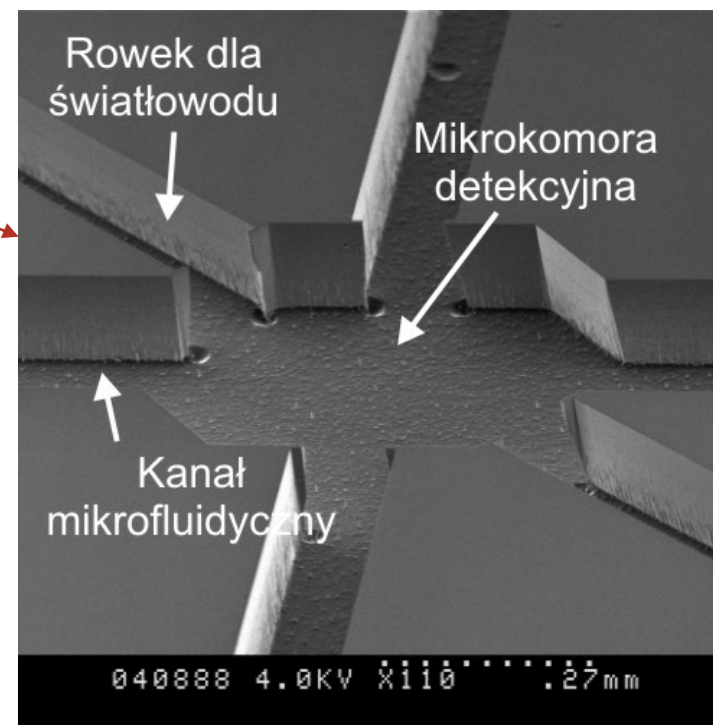
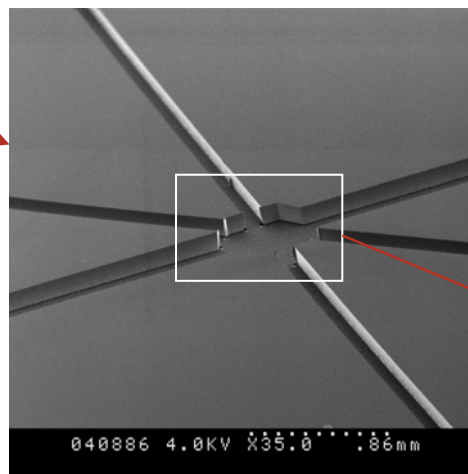
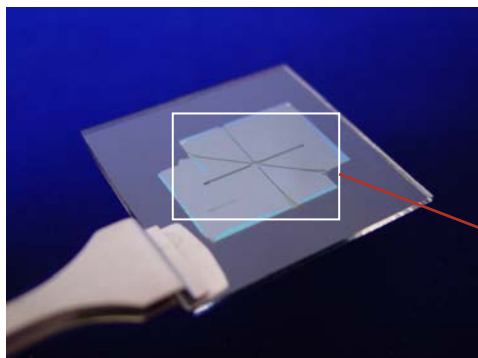
Możliwość jednoczesnej pracy
w trybie absorpcyjnym i fluorescencyjnym





Zintegrowany cytometr

Krzemowo-szklany mikrocytometr – widok struktury

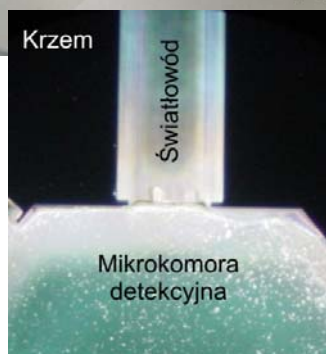
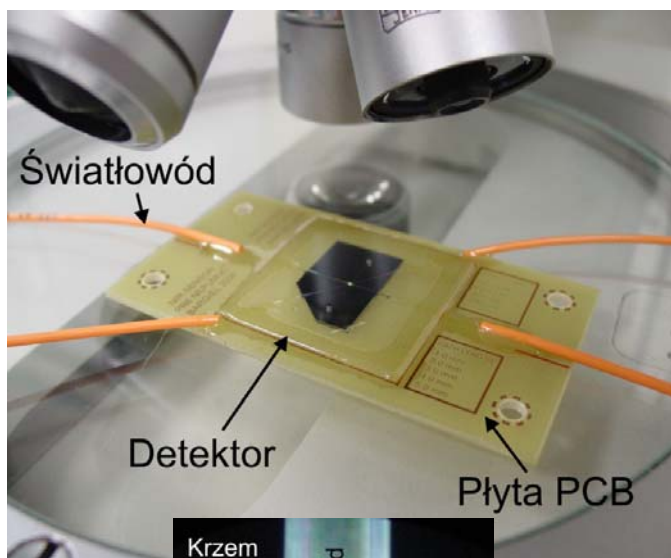


**Cytometr przed montażem światłowodów
i detale konstrukcyjne (zdjęcia SEM)**

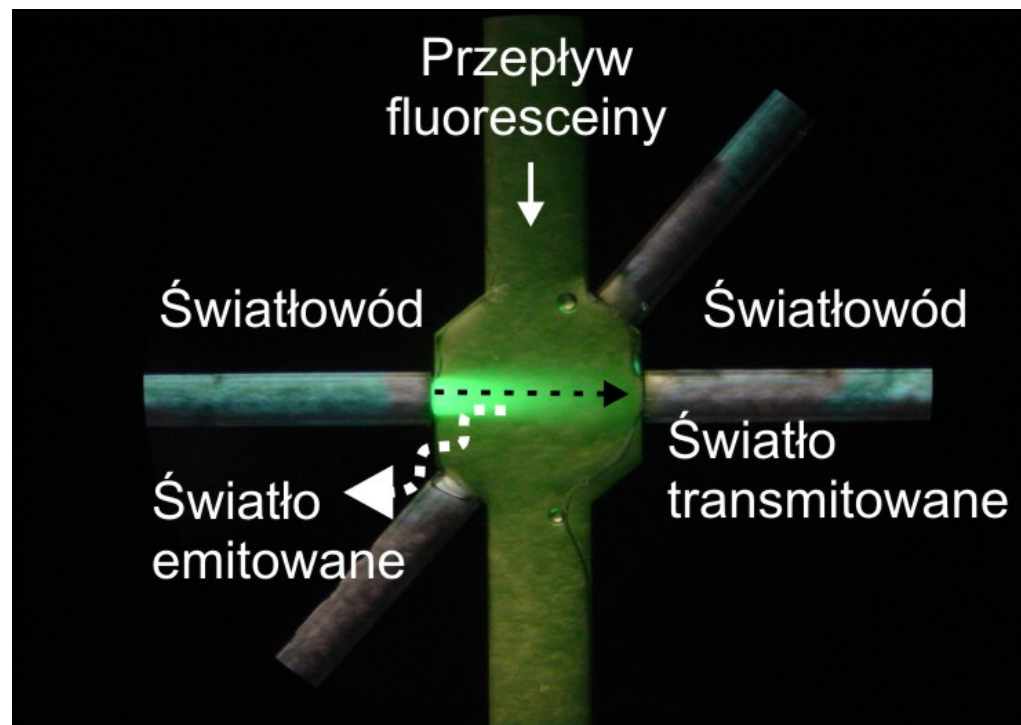


Zintegrowany cytometr

Krzemowo-szklany mikrocytometr gotowy do pracy



Cytometr po montażu światłowodów włóknistych

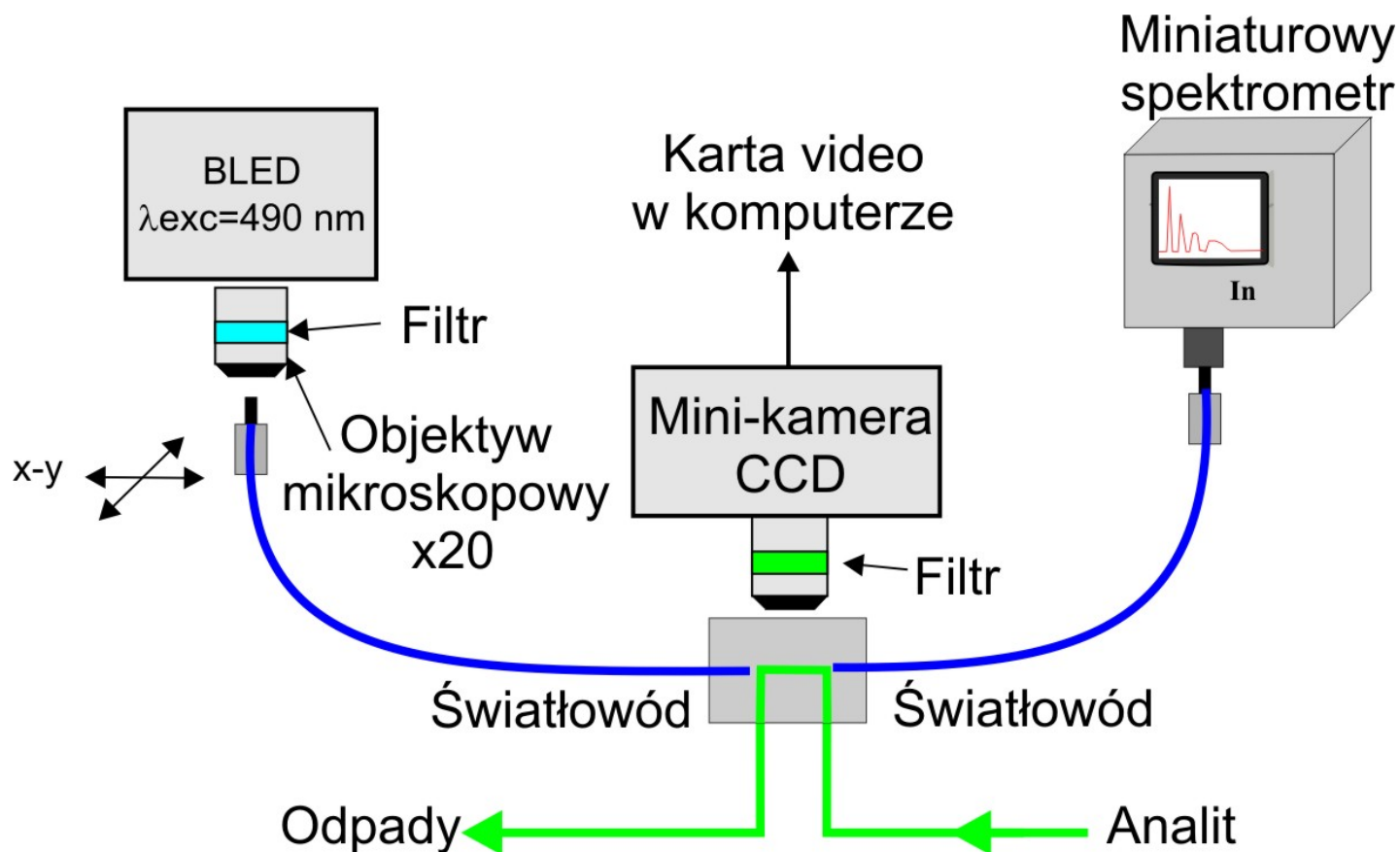


Testy optyczne cytometru



Zintegrowany cytometr

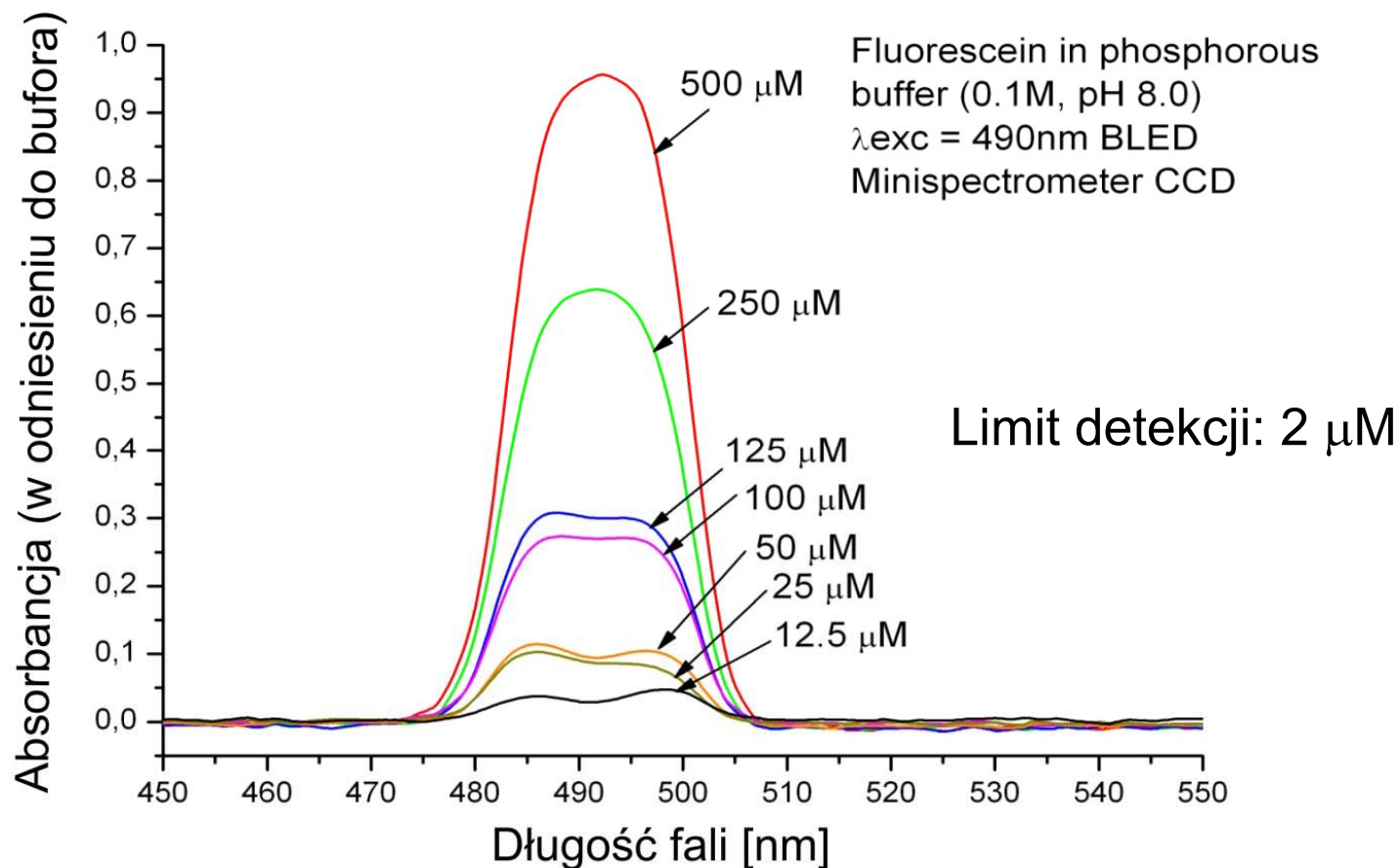
Krzemowo-szklany mikrocytometr – układ pomiarowy





Zintegrowany cytometr

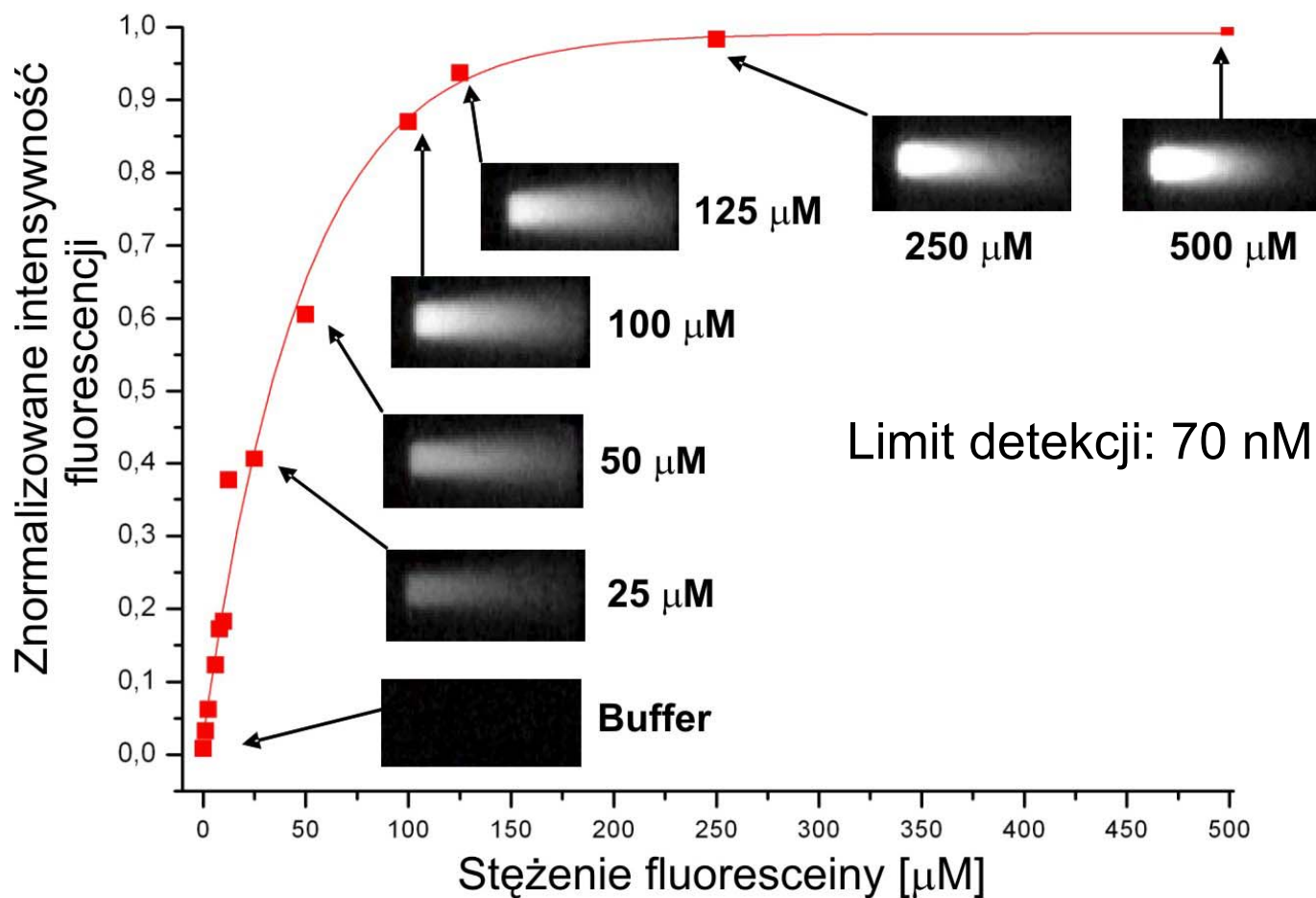
Krzemowo-szkłany mikrocytometr – wyniki pomiarów absorpcyjnych





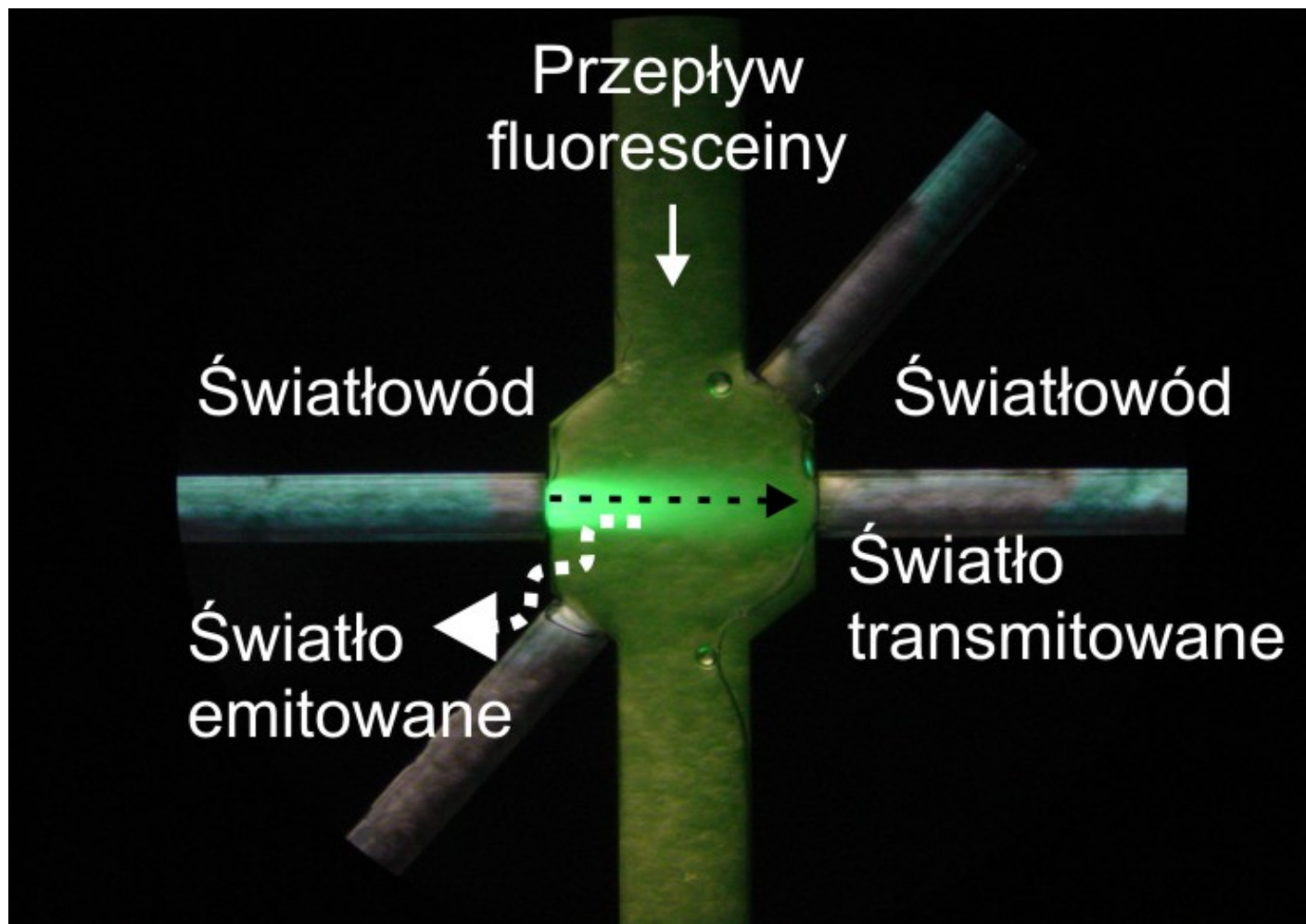
Zintegrowany cytometr

Krzemowo-szklany mikrocytometr – wyniki pomiarów fluorymetrycznych





To działa !!!





Podziękowania

Przedstawione wyniki są rezultatem wielu lat badań prowadzonych pod kierownictwem prof. *J. Dziubana* w zespole Pracowni Mikroinżynierii i Mikromechaniki w obecnym składzie:

dr inż. *A. Górecka-Drzazga*, dr inż. *R. Walczak*, mgr inż. *P. Knapkiewicz*,
oraz wieloletnich współpracowników: dr inż. *Ł. Nieradko*, dr inż. *S. Bargiel*,
obecnie z Universite Franche-Comte, Besancon, Francja.

Szczególne wyrazy wdzięczności dla mgr inż. *J. Koszura* i Jego Zespołu z
ITE w Warszawie

Dziękujemy wielu naszym współpracownikom i magistrantom.

Badania finansowane były/są przez zlecenia statutowe, granty krajowe i europejskie.