

Α. ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΚΡΗΤΗΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ ΣΠΟΥΔΩΝ ΕΠΙΛΟΓΗΣ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ



ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΙΑΤΡΙΚΕΣ ΜΙΚΡΟΣΥΣΚΕΥΕΣ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΤΣΙΠΣ



Εισηγητής: Σταυρακάκης Αντώνης

Σπουδάστρια: Μάλλιαρη Αικατερίνη
Α. ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΚΡΗΤΗΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ ΣΠΟΥΔΩΝ ΕΠΙΛΟΓΗΣ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΙΑΤΡΙΚΕΣ ΜΙΚΡΟΣΥΣΚΕΥΕΣ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΤΣΙΠΣ

Εισηγητής: Σταυρακάκης Αντώνης
Σπουδάστρια: Μάλλιαρη Αικατερίνη

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Για την εκπόνηση της πτυχιακής εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω, για τη συμβολή τους, τους:

- **κ. Σταυρακάκη Αντώνη, καθηγητής**
- **κ. Παπαχατζάκη Γιάννη, συμφοιτητής**
- **κ. Εμμανουηλίδη Εμμανουήλ, φίλος**

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	6
2. ΓΕΝΙΚΑ.....	8
2.1 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ	8
2.2 MEMS ΓΙΑ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ.....	9
2.3 ΠΡΟΚΛΗΣΕΙΣ ΣΤΗ ΠΑΡΟΧΗ ΦΑΡΜΑΚΩΝ.....	10
2.4 ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ	13
3. ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ.....	14
3.1 ΦΩΤΟΛΙΘΟΓΡΑΦΙΑ.....	14
3.1.1 Επεξεργασία Πυριτίου (<i>Silicon Processing</i>).....	16
3.1.2 Απαλή Λιθογραφία (<i>Soft Lithography</i>)	17
3.2 ΜΙΚΡΟΜΗΧΑΝΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ.....	19
3.2.1 Η Μικρομηχανική Όγκου (<i>Bulk Micromachining</i>)	19
3.2.2 Στη Μικρομηχανική Επιφάνειας (<i>surface micromachining</i>).....	19
3.2.3 Η Μικροδιαμόρφωση (<i>micro molding</i>).....	19
4. ΜΙΚΡΟΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΠΑΡΟΧΗΣ ΦΑΡΜΑΚΩΝ...21	
4.1 ΒΙΟΚΑΨΟΥΛΕΣ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΜΟΡΙΑ.....	21
4.2 ΜΙΚΡΟΒΕΛΟΝΕΣ	23
4.3 ΕΜΦΥΤΕΥΟΜΕΝΑ ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ.....	25
4.4 ‘ΕΞΥΠΙΝΑ’ ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΑ ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ	27
4.5 ΕΜΠΟΡΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ.....	30
5. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ	33
5.1 ΜΙΚΡΟΑΝΤΛΙΕΣ	33
5.2 ΒΙΟΑΙΣΘΗΤΗΡΕΣ	35
5.2.1 Εισαγωγή.....	35
5.2.2 Πιεζοηλεκτρικοί Βιοαισθητήρες: Ιστορικό	36
5.2.3 Τύποι Βιοαισθητήρων.....	38
5.2.3.1 Ιατρικοί Τηλε-Αισθητήρες.....	38
5.2.3.2 Μικροπρόβολοι	41
5.2.3.3 Βιοαισθητήρας Για Την Ανίχνευση Καρκίνου Και Άλλων Ανωμαλιών.....	42
5.2.3.4 Αισθητήρας Ως Ηλεκτρονική Μότη.....	43
5.2.3.5 Μικροσκοπικές Συσκευές	44
5.2.4 Βιοαισθητήρες Στην Ανάλυση DNA.....	46
5.3 ΕΜΦΥΤΕΥΟΜΕΝΑ ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΓΙΑ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΚΑΙ ΝΕΥΡΙΚΗ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ	53
5.3.1 Παρακολούθηση Πίεσης Αίματος Και Εγκεφάλου.....	53
5.3.2 Παρακολούθηση Ενδοφθάλμιας Πίεσης.....	54
5.3.3 Λειτουργική Νευρική Αποκατάσταση	55
5.3.4 Ένα Μικροσύστημα Στο Μάτι.....	56
5.3.5 Κατανεμημένα Εμφυτεύματα Και Ευφυή Ηλεκτρόδια.....	58
5.3.6 Βιοϋβριδικά Συστήματα.....	59
6. ΣΥΝΕΝΩΜΕΝΑ ΖΩΝΤΑΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ	61
6.1 ΤΙ ΕΙΝΑΙ ΕΝΑ ΒΙΟΤΣΙΠ (BIOCHIP);.....	63
6.1.1 Συνοπτικά Παραδείγματα	64

6.2 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΤΩΝ ΤΣΙΠ.....	66
6.3 ΝΑΝΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ	70
6.3.1 Εισαγωγή.....	70
6.3.2 Νανοαντλίες Για Προγραμματιζόμενα Βιοτσιπς	71
6.4 ΡΕΥΣΤΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ	72
6.4.1 Δισδιάστατη Ρευστομηχανική	72
6.4.2 Η Απώτερη Πλευρά Της Μικρορευστομηχανικής Τεχνολογίας.....	73
6.5 ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑΤΑ	75
6.5.1 Τσιπ Για Τη Παρακολούθηση Κάθε Βήματος Μας (Περπάτημα) Και Των Σωματικών Υγρών Μας.....	75
6.5.2 Εγχείρηση Εγκεφάλου Με Διακόπτη On-Off.....	78
6.5.3 Επαναφορά Των Αισθήσεων	78
6.5.4 Διάγνωση Πάνω Σε Τσιπ.....	81
6.6 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΜΙΚΡΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΙΣΤΩΝ ΒΑΣΙΣΜΕΝΩΝ ΣΕ ΤΡΙΧΟΕΙΔΙΚΑ ΤΣΙΠ	83
6.6.1 Η Ανάγκη Για Συστήματα Βασισμένα Σε Ιστούς.....	83
6.6.2 Χαρακτηρισμός Κυττάρων Χωρίς Επισήμανση (Marker-Free Cell Characterization).....	84
6.6.3 Ευπαθή Και Αναπαραγόμενη Μέτρηση Της Αντίστασης.....	85
6.6.4 Σχεδιασμός Της Μέτρησης Των Τριχοειδικών Κυττάρων.....	86
6.6.5 Αξιολόγηση Αντικαρκινικών Θεραπειών	86
6.7 DNA CHIPS.....	88
6.7.1 Κατασκευή.....	88
6.7.2 Χρήση Των Τσιπ.....	89
6.7.3 Ιδιαιτερότητα Στις Ασθένειες.....	90
6.7.4 Γονιδιακή Έκφραση.....	92
6.7.5 Σχεδιασμός Φαρμάκων	93
6.8 GENE CHIP.....	93
6.8.1 Τεχνολογία Των Gene Chip.....	95
6.8.2 Χρήση Των Βιοτσιπ Στην Εξέταση Του Καρκίνου	96
6.8.3 Η Χρήση Των Gene Chips Σύντομα Θα Είναι Καθολική	97
6.8.4 Τα Βιοτσιπ Προκαλούν Κρίσιμα Ζητήματα Για Την Προσωπική Ζωή.....	97
6.9 LAB ON A CHIP.....	98
6.10 VERICHIP	101
6.10.1 Τι Είναι Το Verichip, Και Πώς Εισάγεται	101
6.10.2 Άλλες Χρήσεις Του VeriChip	101
6.10.3 Τεχνολογία Του VeriChip.....	102
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	105
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	107
ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ.....	107
ΕΝΤΥΠΗ	108

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Σκοπός της πτυχιακής εργασίας είναι η ανάλυση του θέματος: Ιατρικές μικροσυσκευές και Μικροτσίπς.

Στο κεφάλαιο 2 περιγράφονται κάποια γενικά πράγματα για τα μικροηλεκτρομηχανικά συστήματα (MEMS). Πρώτα γίνεται μια ιστορική ανασκόπηση για το πώς έχει εξελιχτεί η τεχνολογία στα τελευταία χρόνια. Η τεχνολογία ακολουθεί πάντα τις ανάγκες της κοινωνίας και κάθε τόσο εφευρίσκονται προϊόντα, εργαλεία, και μέθοδοι καινούργιες ειδικά στη κατασκευή των βιομηχανικών προϊόντων. Αναφέρονται επίσης κάποιες προκλήσεις που έχουν να αντιμετωπίσουν οι ερευνητές προκειμένου να εντάξουν τη λειτουργία των μικροηλεκτρομηχανικών συστημάτων στον μακρόκοσμο και να μπορέσουν να τα χειριστούν.

Στο κεφάλαιο 3 αναλύονται οι μέθοδοι κατασκευής των MEMS. Οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία τους είναι οι ίδιες σχεδόν με αυτές που χρησιμοποιούνται για την κατασκευή των υπολογιστικών τσιπ. Οι τεχνικές αυτές προέρχονται από τη μικροηλεκτρονική βιομηχανία ημιαγωγών. Η κατασκευή τους βασίζεται στη συγχώνευση των μικροηλεκτρονικών κατασκευαστικών επεξεργασιών και των μικρομηχανικών τεχνικών έτσι ώστε να δημιουργηθούν τα επιθυμητά μικρο-εξαρτήματα. Οι κύριες κατηγορίες είναι δύο: η φωτολιθογραφία και οι μικρομηχανικές τεχνικές. Σε αυτό το κεφάλαιο αναλύονται λοιπόν λεπτομερειακά οι διάφορες τεχνικές κατασκευής και οι επιμέρους υποκατηγορίες στις οποίες χωρίζονται.

Στο κεφάλαιο 4 αναλύονται διεξοδικά τα συστήματα χορήγησης φαρμάκων. Περιγράφονται οι συσκευές των bioMEMS της τωρινής γενιάς που χρησιμοποιούνται στις εφαρμογές παροχής φαρμάκων. Ανάμεσα τους είναι συσκευές όπως βιοκάψουλες και μικρομόρια, μικροβελόνες, εμφυτευόμενα μικροσυστήματα και 'έξυπνα' ολοκληρωμένα μικροσυστήματα εκ των οποίων όλα αναλύονται λεπτομερώς. Επίσης στο τέλος του κεφαλαίου αναφέρονται κάποιες εμπορικές εφαρμογές οι οποίες είναι είτε ήδη χρησιμοποιούνται είτε είναι ήδη σε εξέλιξη.

Στο κεφάλαιο 5 περιγράφονται βασικές εφαρμογές των MEMS. Το σημαντικότερο τμήμα του κεφαλαίου ανήκει στους βιοαισθητήρες. οι τύποι των βιοαισθητήρων που αναλύονται είναι οι πιεζοηλεκτρικοί, οι ιατρικοί τηλε-αισθητήρες, οι μικροπρόβολοι, καθώς και κάποια συστήματα για την παρακολούθηση της πίεσης του αίματος και του εγκεφάλου, και της ενδοφθάλμιας πίεσης. Επιπλέον γίνεται αναφορά σε καταναμεημένα εμφυτεύματα- ευφυή ηλεκτρόδια και σε βιοϋβριδικά συστήματα. Αναλύονται επίσης διεξοδικά οι χρήσεις των βιοαισθητήρων όσον αφορά την ανίχνευση του καρκίνου και άλλων ανωμαλιών, και την ανάλυση του DNA.

Στο κεφάλαιο 6 γίνεται ανάλυση για τα βιοτσιπς. Εξηγείται τι είναι το βιοτσιπ και αρχικά αναφέρονται παραδείγματα τέτοιων τσιπ. Έπειτα ακολουθεί μια μικρή αναφορά στη νανοτεχνολογία και αναλύεται πιο λεπτομερώς η ρευστομηχανική τεχνολογία. Και οι δύο παίζουν σημαντικότατο ρόλο για την διαμόρφωση των βιοτσιπ. Ακολουθούν κάποια παραδείγματα και στη συνέχεια οι κυριότερες κατηγορίες των βιοτσιπ, η κάθε μια ανεπτυγμένη σε ξεχωριστή ενότητα. Τα κυριότερα βιοτσιπ που απασχολούν την ιατρική στις μέρες μας και που αναλύονται σε αυτό το κεφάλαιο είναι: το τριχοειδικό τσιπ, το DNA Chip, το Gene-Chip, το Lab-on-a-Chip και το VeriChip.

Στο κεφάλαιο 7 αναφέρονται κάποια συμπεράσματα που έχουν προκύψει από το σύνολο της πτυχιακής εργασίας.

Στο κεφάλαιο 8 που είναι και το τελευταίο, αναφέρεται η βιβλιογραφία, έντυπη και ηλεκτρονική.

2. ΓΕΝΙΚΑ

2.1 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

Η τεχνολογία αυτές τις μέρες παρακολουθεί τις ανάγκες της κοινωνίας. Προϊόντα, εργαλεία και μέθοδοι εφευρίσκονται και τελειοποιούνται πριν πολύ συχνά μάθουμε την δυνατότητα εκμετάλλευσής τους. Αυτό είναι αλήθεια στα βιομηχανικά προϊόντα, ειδικά στα ιατρικά προϊόντα. Οι ζωές εξαρτώνται από την συγκράτηση γερά δεμένων ανοχών σε μικρά όργανα.

Από το 1960 οι επιστήμονες έχουν βρεί ότι διατάσσοντας ένα μεγάλο αριθμό μικροσκοπικών τρανζίστορ σε ένα μόνο τσιπάκι επέτρεπε την δημιουργία μικροηλεκτρονικών κυκλωμάτων που ήταν μικρότερα, και περισσότερο λειτουργικά. Περισσότερο πρόσφατα, οι επιστήμονες έχουν χρησιμοποιήσει την ίδια θεωρία για να αναπτύξουν μικροκατασκευαστικές μεθόδους στο μικρό-επίπεδο, όχι τόσο μικρές όπως η νανοτεχνολογία (δισεκ. της μιας ίντσας) αλλά μικρότερες από τις ήδη συμβατικές και ταχείες υπάρχουσες.

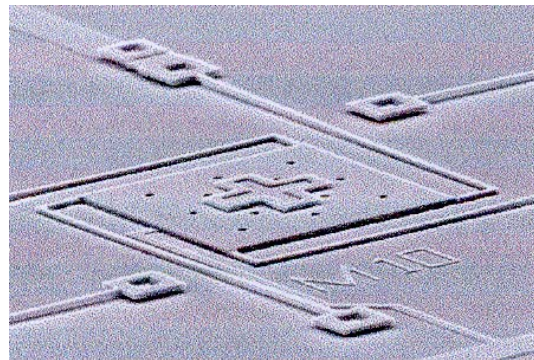
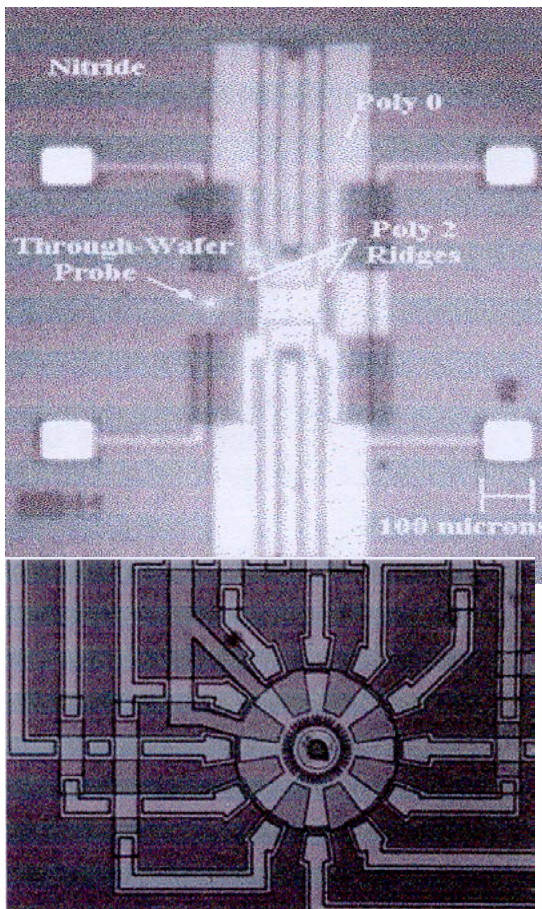
Τα Μικροηλεκτρομηχανικά Συστήματα (MEMS) είναι ολοκληρωμένα συστήματα που συνδυάζουν και ηλεκτρικά και μηχανικά εξαρτήματα. Ανήκουν γενικά στη μικροσκοπική κλίμακα, αλλά μπορούν να είναι τόσο μεγάλα όσο μερικά χιλιοστά. Τα συστήματα είναι κατασκευασμένα χρησιμοποιώντας τεχνολογίες ολοκληρωμένων κυκλωμάτων. Οι μηχανικές συσκευές απαιτούν τυπικά πιο πολύπλοκες μεθόδους από τις ηλεκτρικές. Έτσι υπάρχει μια συνεχή ανάγκη για μια δημιουργική έρευνα σε μια προσπάθεια να ενσωματωθούν και οι δύο τύποι εξαρτημάτων. Από την στιγμή που τα MEMS είναι ένας σχετικά νέος τομέας έρευνας, υπάρχει χώρος για αρκετή δημιουργικότητα και ερευνητική προσπάθεια.

Οι συσκευές MEMS μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν μικρογραφημένοι αισθητήρες, ελεγκτές, ή ενεργοποιητές. Αλλά μέχρι τώρα υπάρχουν λίγες εφαρμογές στο εμπόριο. Μερικές που είναι αυτή την στιγμή στην αγορά είναι αισθητήρες πίεσης και ανιχνευτές συγκρούσεων (που χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη των αερόσακων). Πάντως υπάρχει ένα τεράστιο ποσό ερευνητικής προσπάθειας για να κάνει αυτούς τους τύπους των MEMS συσκευών διαθέσιμες για εμπορική χρήση:

- Αισθητήρες: πίεσης, χημικοί, κινήσεως, ροής υγρών και αερίων.
- Αντλίες υγρών και βαλβίδες.
- Μικρο-οπτική: οπτικούς ανιχνευτές και διατάξεις κατόπτρων.

Η χαμηλή τους μάζα και η γρήγορη τους απόκριση, τους δίνει ένα αισθητό πλεονέκτημα

για μια ποικιλία εφαρμογών όσον αφορά τα εμφυτευόμενα συστήματα. Η μεγαλύτερη πρόκληση για την επιτυχή εμπορευματοποίηση αυτής της επαναστατικής νέας τεχνολογίας είναι η αξιοπιστία και η ικανότητα ελέγχου της.



Εικόνες 1,2,3: Φωτογραφίες μικροηλεκτρομηχανικών συσκευών.

2.2 MEMS ΓΙΑ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Τα μικροκατασκευαστικά συστήματα λοιπόν, έχουν επιφέρει επανάσταση στη βιολογία και την ιατρική με πολυάριθμες τεχνολογίες. Η πληθώρα των βιοϊατρικών μικροηλεκτρομηχανικών συστημάτων (bioMEMS) που αναδύεται σήμερα κυμαίνεται από συναρπαστικούς μοριακούς κινητήρες που πλέουν μέσα στο κύτταρο αξιοποιώντας τα ενδοκυτταρικά πλούσια σε ενέργεια ATP μόρια μέχρι τις εξελιγμένες διαγνωστικές συσκευές, που είναι ικανές να προλέγουν την προδιάθεση του καθενός στις ασθένειες διαβάζοντας τις πληροφορίες που είναι κωδικογραφημένες σε ένα μικρό τμήμα του DNA. Από συσκευές που κατευθύνουν μόρια σε συστήματα που μπορούν να αναλύσουν ολόκληρη τη κυτταροπλασματική περιεκτικότητα ενός ελεύθερου κυττάρου, Από εξαιρετικά ευαίσθητους αισθητήρες που μπορούν να ακολουθήσουν μαζικά ίχνη της τάξης του 10^{-18} μιας βιοχημικής ουσίας μέχρι υψηλά ολοκληρωμένες μικροεμετάβλητες συσκευές που μπορούν να εκτελέσουν πολλαπλή σειριακή επεξεργασία σε δείγματα έντασης εκατομμυριοστά του λίτρου με ένα αυτόματο τρόπο. Με την επέλευση υπο-

εκατομμυριοστόμετρων τεχνικών λιθογραφίας στη μικροηλεκτρονική βιομηχανία, αυτές οι συσκευές bioMEMS θα βελτιώσουν την προσαρμοστικότητα, την αποδοτικότητα και την φιλικότητα τους προς τον χρήστη. Ένας από τους τομείς όπου αυτές οι συσκευές προορίζονται να προσφέρουν οφέλη είναι η θεραπευτική.

Γενικά το πεδίο των βιοϊατρικών_εφαρμογών περιλαμβάνει διαγνωστικά όργανα, χειρουργικές διατάξεις ελέγχου ηλεκτρονικών συστημάτων, τεχνητά όργανα και συσκευές παροχής φαρμάκων.

Δύο πανταχού παρόν βιοϊατρικές συσκευές MEMS περιλαμβάνουν την αίσθηση της πίεσης και την επιτάχυνση. Τυπικά, το στοιχείο της αίσθησης αποτελείται από μια μικρομηχανική μεμβράνη, η οποία αποκλίνει σε αναλογία με την μέτρηση. Ο βαθμός της παραμόρφωσης μετατρέπεται τότε σε ένα ηλεκτρονικό σήμα το οποίο έπειτα στέλνεται σε μια διάταξη κυκλωμάτων μικροεπεξεργασίας για περαιτέρω επεξεργασία ή απεικόνιση.

Η πιο σημαντική βιοϊατρική εφαρμογή για αισθητήρες πίεσης MEMS είναι η μέτρηση της πίεσης του αίματος. Σε μια εφαρμογή ενός εξωτερικού καταγραφικού συστήματος της πίεσης του αίματος, ο αισθητήρας πίεσεως είναι ένα ενιαίο και αναπόσπαστο κομμάτι ενός οργάνου που αποτελείται από ένα σωλήνα αλατούχου διαλύματος, με τον οποίο επισυνάπτεται ο αισθητήρας. Τα συστατικά στοιχεία συνδέονται τότε με τον ασθενή για να παρέχουν σήματα σε μια οθόνη. Υγρά περνούν από τον σωλήνα στον ασθενή και όταν η καρδιά χτυπάει, ένα κύμα πίεσεως κινείται κατά πάνω στη γραμμή κίνησης του υγρού και ανιχνεύεται από τον αισθητήρα. Σε άλλες εφαρμογές, ειδικά όταν η πίεση του αίματος πρέπει να μετρηθεί εσωτερικά, το στοιχείο της αίσθησης επιστρώνεται με ένα αδρανές τζέλ το οποίο μεταβιβάζει το σήμα πίεσεως, αλλά αποφεύγει την άμεση επαφή μεταξύ της συσκευής MEMS και των σωματικών υγρών και ιστών.

2.3 ΠΡΟΚΛΗΣΕΙΣ ΣΤΗ ΠΑΡΟΧΗ ΦΑΡΜΑΚΩΝ

Οι μοντέρνες θεραπευτικές τεχνικές βασίζονται στο λογικό σχεδιασμό και στην υψηλής εστίασης χορήγηση συγκεκριμένων φαρμακευτικών συστατικών. Ενώ αυτές οι τεχνικές έχουν αποδειχτεί να είναι πολύ περισσότερο ανώτερες και αποτελεσματικές απ' ό,τι οι παραδοσιακές θεραπευτικές μέθοδοι που χρησιμοποιούν κοκτέιλ φαρμάκων, απαιτείται μια πιο διεξοδική προσπάθεια στο σχεδιασμό φαρμάκων, στο τοξικολογικό έλεγχο και στην επιλογή των κατάλληλων φορέων παροχής. Οι πρόοδοι στη μικροκατασκευή και στη βιοπληροφορική έχουν επιταχύνει σε μεγάλο βαθμό την εξέλιξη της χορήγησης

φαρμάκων τα τελευταία χρόνια εκσυγχρονίζοντας την διαδικασία αναγνώρισης μορίων στόχων και των ανταγωνιστών τους. Η ανάλυση των δεδομένων του γονιδιώματος και του mRNA μπορεί να παρέχει ενδείξεις που θα βοηθούσαν να αναγνωρίσουμε τα βιολογικά μόρια που σχετίζονται με μια συγκεκριμένη ασθένεια. Οι συνδυαστικές προσεγγίσεις συσχετιζόμενες με υψηλής εξόδου μέσα προβολής όπως μικροσύνολα πεπτιδίων και πρωτεϊνών έχουν οδηγήσει σε ένα τεράστιο κύμα δεδομένων για να βοηθήσουν στην αναγνώριση των στόχων. Από την στιγμή που προσδιοριστεί ο μοριακός στόχος, συμβατικοί οργανικοί φορείς που περιλαμβάνουν τριχοειδή ηλεκτροφόρηση, φασματομετρα μάζας και NMR μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να διευκρινίσουν το δευτεροταγές σύμπλεγμα και τις τριτοταγείς δομές που σχετίζονται με τις πρωτεΐνες στόχους. Αυτές οι δομικές πληροφορίες των στόχων μπορούν τότε να χρησιμοποιηθούν για την αναζήτηση μέσω του ηλεκτρονικού αρχείου γνωστών φαρμακευτικών μορίων ή θα μπορούσαν να συνδεθούν με συνθετικές βιοχημικές μεθόδους για το προσδιορισμό πιθανών θεραπευτικών ουσιών. Αυτά τα βήματα, απαιτούν τεράστιες επενδύσεις κεφαλαίων, υποδομή και υψηλά εκπαιδευμένο προσωπικό.

Αυτές οι προσπάθειες ανακάλυψης φαρμάκων εστιάζονται γενικά στο προσδιορισμό ένα συγκεκριμένο ζεύγος φαρμάκου-στόχου και σπανίως περιλαμβάνει τις τοξικολογικές πληροφορίες στη διαδικασία έρευνας. Στις περισσότερες περιπτώσεις, ένα επαρκές ποσό τοξικολογικών πληροφοριών δεν έχει ακόμα συλλεχθεί για φαρμακευτικές ουσίες που έχουν συντεθεί πρόσφατα, κάνοντας έτσι δύσκολη την επιλογή ενός κατάλληλου μέσου χορήγησης. Για παράδειγμα, τα κυτοτοξικά φάρμακα που ήδη χρησιμοποιήθηκαν για τη θεραπεία ασθενειών όπως ο καρκίνος και η νόσος HIV είναι πολύ αποδοτικά στη καταστροφή των εισβαλλόμενων ιών και των καρκινικών κυττάρων, αλλά επίσης έχουν βρεθεί να προκαλούν απόπτωση στα γειτονικά φυσιολογικά κύτταρα. Ακόμα και τα φάρμακα με χαμηλότερα επίπεδα κυτοτοξικότητας συχνά πρέπει να λειτουργούν μέσα σε ένα στενό θεραπευτικό πλαίσιο με σκοπό να διατηρήσουν τη βιοδιαθεσιμότητα μεταξύ μιας ελάχιστου λειτουργικού ορίου συγκέντρωσης και της κρίσιμης τοξικής συγκέντρωσης πάνω από την οποία θα μπορούσε να συμβεί μη αναστρέψιμη βλάβη στα λειτουργικά όργανα.

Στο μοριακό επίπεδο, τα φαρμακευτικά μόρια συχνά κατέχουν μη συγκεκριμένη συνάφεια προς τους υποδοχείς στην κυτταρική επιφάνεια εκτός από αυτή των πρωτεϊνών στόχων, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε ανεπιθύμητες παρενέργειες όπως στη περίπτωση των ηρεμιστικών φαρμάκων και των αναστολέων ισταμίνης. Επιπλέον, η συγκέντρωση που είναι απαραίτητη για να επιφέρει μια επιθυμητή θεραπευτική αντίδραση σε ένα

συγκεκριμένο φάρμακο μπορεί να ποικίλει μεταξύ των ατόμων κάνοντας το ζήτημα ακόμα πιο προβληματικό.

Η σταθερότητα και η βιοδιαθεσιμότητα είναι επίσης σημαντικοί συντελεστές στο σχεδιασμό των συστημάτων χορήγησης φαρμάκων, ειδικά για τα πρωτεϊνικά φάρμακα. Τέτοια φάρμακα πάσχουν από έναν αριθμό περιορισμών περιλαμβάνοντας τη διάσπαση από πρωτεολυτικά ένζυμα, τις ανοσο-αντιδράσεις και την έλλειψη ευελιξίας για κατασκευαστικές τροποποιήσεις.

Πρόσφατα, έχει υπάρξει ένα μεγάλο ενδιαφέρον στη γονιδιακή/DNA θεραπεία για την επεξεργασία αρκετών κληρονομικών ανωμαλιών. Εντούτοις, όπως και οι πρωτεΐνες, το γυμνό DNA είναι εξαιρετικά ασταθές και συνεπώς πρέπει να ολοκληρωθεί γρήγορα στο γονιδίωμα του ξενιστή για να είναι δραστικό. Οι ιοί σαν ξενιστές έχουν αποδειχτεί να είναι από τις πιο επιτυχημένες μεθόδους παροχής DNA στα κύτταρα ξενιστές, αν και ακόμα χρειάζεται να επιληφθούν πολλά ζητήματα ασφάλειας.

Διάφοροι τρόποι χορήγησης περιλαμβάνοντας το στοματικό, τον ενδοφλέβιο, τις διαδερμικές και πνευμονικές πορείες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να εξασφαλίσουν επαρκή βιοδιαθεσιμότητα. Ωστόσο, πολλά φάρμακα επίσης απαιτούν ένα πιο ελεγχόμενο και συνεχές προφίλ διάχυσης. Ένα συνηθισμένο παράδειγμα για αυτή την εκδοχή είναι το συμπλήρωμα ινσουλίνης που δίνεται ως ενδοφλέβιες ενέσεις σε ασθενείς που πάσχουν από διαβήτη Τύπου 1. Ιδανικά, το χορηγούμενο συμπλήρωμα ινσουλίνης θα πρέπει να μιμείται στενά το προφίλ απελευθέρωσης της ινσουλίνης από τα παγκρεατικά νησίδια. Συνδυασμοί πολλαπλών δόσεων και αντλίες συνεχούς έγχυσης έχουν χρησιμοποιηθεί για τη κατόρθωση αυτού του στόχου, αλλά υπήρξε μόνο περιορισμένη επιτυχία στην απόκτηση ενός υψηλά ελεγχόμενου επιπέδου απελευθέρωσης. Μια άλλη εφαρμογή που απαιτεί ένα μη γραμμικό προφίλ απελευθέρωσης φαρμάκου είναι η αναγέννηση ιστού σε θύματα με έντονη οργανική αποτυχία ή μερική οργανική απώλεια, όπου οι παράγοντες ανάπτυξης πρέπει να χορηγηθούν με ακρίβεια με σκοπό να προάγουν την ανάπτυξη και το πολλαπλασιασμό του γηγενή ιστού και, εάν είναι απαραίτητο, να διευκολύνουν τη διαφοροποίηση των κυττάρων στο κατάλληλο κυτταρικό τύπο με μια χρονικά εξαρτώμενη μέθοδο.

Όλες αυτές οι μέθοδοι χορήγησης φαρμάκων που απαιτούν περιορισμούς με υψηλή ιδιαιτερότητα, διασφαλίζουν κατάλληλη βιοδιαθεσιμότητα των λειτουργικών φαρμάκων. Πρόσφατες τεχνολογικές πρόοδοι αρχίζουν να επιτρέπουν την ανάπτυξη συσκευών που είναι αρκετά ισχυρές για να παρέχουν στο έπακρο δραστικά φάρμακα με ένα ακριβώς ελεγχόμενο τρόπο. Αυτές οι συσκευές θα είναι επίσης αρκετά έξυπνες ώστε να ανταποκρίνονται στη συμπεριφορά του περιβαλλόμενου φυσιολογικού περιβάλλοντος,

και αρκετά συνεπτυγμένες ώστε να εφαρμόζουν μέσα στα αιμοφόρα αγγεία. Τέτοιες συσκευές εμπεριέχουν πολύπλοκα συμπλέγματα μικροσκοπικής κλίμακας ρευστών και ηλεκτρονικών συστατικών ικανών να χειριστούν με ένα ολοκληρωμένο τρόπο. Αυτή η νέα γενιά των καινοφανών συσκευών παροχής φαρμάκων οφείλει πολλά από την ανάπτυξη του στις προόδους στη μικροκατασκευαστική και μικρομηχανική τεχνολογία για τη κατασκευή των μικρορευστομηχανικών συστημάτων.

2.4 ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ

Μια από τις μεγαλύτερες προκλήσεις στα MEMS είναι ο σχεδιασμός του πώς θα μπορέσει το μικροσύστημα να μεταχειριστεί στο μακροσκοπικό κόσμο. Θα ήταν αντιπαραγωγικό και δύσκολο να μειώσουμε κλιμακωτά την εισροή ενέργειας στην κλίμακα των MEMS. Ας φανταστούμε ένα σύστημα τροχαλίας που μεταφέρει ενέργεια από μια μακροσκοπική τροχαλία σε μια μικροσκοπική. Οι δυνάμεις που μπορεί να αντέξει η μεγαλύτερη τροχαλία είναι πολύ μεγαλύτερες από αυτές που μπορεί η μικρότερη. Σαν αποτέλεσμα, είναι απαραίτητο να εκμεταλλευτούμε άλλες φυσικές αρχές για να παρέχουμε ενέργεια. Οι ηλεκτρομαγνητικές δυνάμεις χρησιμοποιούνται συχνά, καθώς ηλεκτρικά μονοπάτια μπορούν να σχεδιαστούν εντός του συστήματος στο μικροσκοπικό επίπεδο και τότε να διαβαθμιστούν στο σημείο που οι τάσεις μπορούν να εφαρμοστούν από ένα μακροσκοπικό ελεγκτή. Ένα παράδειγμα αυτού είναι η συνήθη χρήση των πιεζοηλεκτρικών υλικών στις συσκευές MEMS. Αυτά τα υλικά αλλάζουν μέγεθος όταν εφαρμόζεται μια τάση, ή δημιουργούν μια τάση εάν κάπως μεταβληθεί μηχανικά το μέγεθος τους. Ένας ελάχιστου πλήθους σπειρών MEMS κινητήρας είναι ένα απλό παράδειγμα του πως μπορούν να χρησιμοποιηθούν τα πιεζοηλεκτρικά υλικά.

Σε μια τέτοια συσκευή, το πιεζοηλεκτρικό υλικό είναι προσκολλημένο σε δύο ολισθηρές ηλεκτρικές επαφές. Οι επαφές περιορίζονται στην ολίσθηση σε μια μόνο διεύθυνση, διατηρώντας έτσι επανάληψη. Κάθε επαφή είναι επίσης ικανή να μπορεί να καθηλωθεί στο κύριο πλακίδιο χρησιμοποιώντας ηλεκτροστατικές δυνάμεις. Το πλακίδιο φέρει μερικό αμιγές ηλεκτρικό φορτίο- όταν το αντίθετο φορτίο εφαρμόζεται σε μια από τις επιφάνειες, η ελκτική δύναμη μεταξύ της επιφάνειας και του πλακιδίου είναι αρκετή για εμποδίσει την επιφάνεια να κινηθεί. Η βασική διαδικασία για ένα μόνο βήμα μπροστά είναι να ακινητοποιήσουμε τη μια επαφή, να εφαρμόσουμε μια τάση κατά πλάτος του υλικού, να καθηλώσουμε την δεύτερη επιφάνεια, να "ξεκλειδώσουμε" την πρώτη επαφή, και τότε να απομακρύνουμε την τάση.

3. ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ

Η κατασκευή των συσκευών MEMS βασίζεται στη συγχώνευση των μικροηλεκτρονικών μεθόδων κατασκευής (μικροκατασκευή) και των μικρομηχανικών τεχνικών για να δημιουργήσουν τα επιθυμητά μικροκατασκευαστικά στοιχεία.

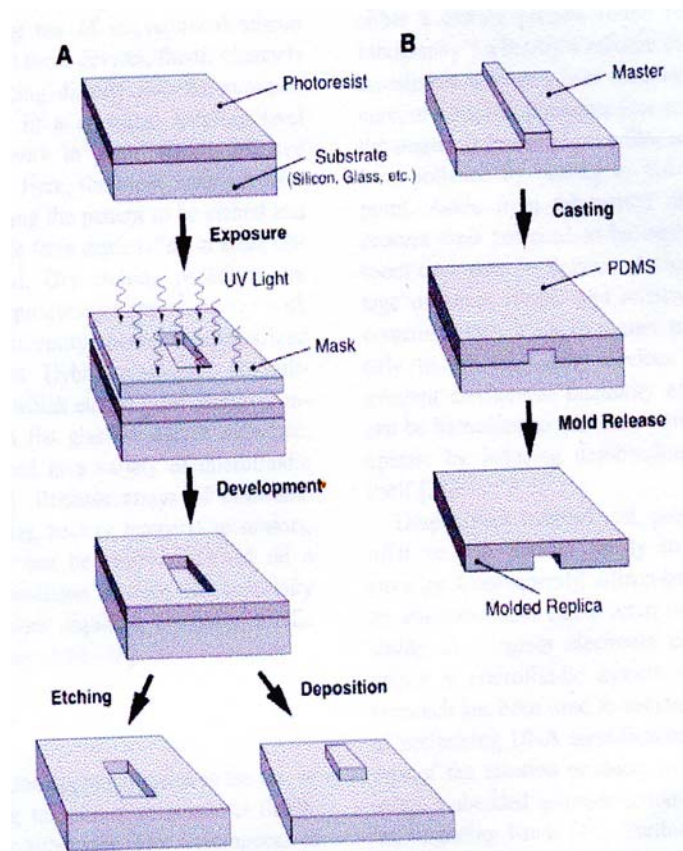
Οι μικρορευστές συσκευές γενικά παράγονται χρησιμοποιώντας μικρομηχανικές τεχνικές προσαρμοσμένες σε πρότυπη τεχνολογία επεξεργασίας ημιαγωγών. Αυτές οι τεχνικές βασίζονται στη φωτολιθογραφία σαν το κυριότερο μέσο μεταβίβασης με ακρίβεια λεπτομερών γνωρισμάτων στην επιφάνεια του επιθυμητού υποστρώματος.

3.1 ΦΩΤΟΛΙΘΟΓΡΑΦΙΑ

Η φωτολιθογραφία είναι μια από τις παλιότερες και απλούστερες μεθόδους κατασκευής MEMS. Το πρώτο βήμα είναι να συρρικνώσουμε μια εικόνα σε ένα εκμαγείο. Το εκμαγείο τοποθετείται σε ένα υλικό που είναι καλυμμένο με ένα χημικό που λέγεται φωτοαντιδραστικό υλικό. Όταν αυτά μαζί εκτεθούν στο φως, τα χαρακτηριστικά στην προσωπίδα εμποδίζουν το φως από το να φωτίσει το φωτοαντιδραστικό αποκάτω. Οι περιοχές που φωτίζονται από φως τροποποιούνται χημικά. Το φωτοαντιδραστικό υλικό καλείται αρνητικό εάν οι τροποποιημένες περιοχές έχουν ενισχυθεί και θετικό εάν έχουν εξασθενήσει. Οποιοσδήποτε περιοχές είναι πιο αδύναμες θα μεταφερθούν στην ακόλουθη κατεργασία. Τα χημικά που χρησιμοποιούνται σε αυτή την επεξεργασία πρέπει να συνταιριάζουν με τον τύπο του φωτοπαθές υλικού που χρησιμοποιήθηκε έτσι ώστε μόνο οι εκτεθειμένες (θετικό φωτοαντιδραστικό) ή οι μη εκτεθειμένες (αρνητικό φωτοαντιδραστικό) περιοχές να μεταφερθούν.

Το φωτοπαθές υλικό που είναι ακόμα ενεργεί σαν μάσκα για το υλικό που βρίσκεται αποκάτω. Εάν το υλικό τοποθετηθεί σε οξύ, το οξύ θα διαβρώσει μόνο τις περιοχές που δεν έχουν προστατευτικό στρώμα αντίστασης. Αυτό καταλήγει σε δομές που φτιάχνονται με τον ίδιο τρόπο που ένα ς καλλιτέχνης φτιάχνει ένα άγαλμα από μάρμαρο- ξεκινώντας από ένα τεμάχιο στερεού υλικού, τα χαρακτηριστικά σχηματίζονται σπάζοντας επιλεκτικά περιοχές. Το φωτοπαθές υλικό είναι απλά ο οδηγός στο ποιες περιοχές θα απομακρυνθούν.

Τα χαρακτηριστικά μπορούν να κατασκευαστούν στην αντίθετη κατεύθυνση εναποθέτοντας άλλο υλικό στην κορυφή του δείγματος μετά αφού το φωτοαντιδραστικό



έχει ήδη εκτεθεί στο φως. Εάν το φωτοαντιδραστικό μεταφερθεί, το εναποθετημένο υλικό πηγαίνει μαζί του. Ωστόσο, στις περιοχές όπου το φωτοαντιδραστικό υλικό έχει ήδη απομακρυνθεί από την αντίδραση με το φως, το εναποθετημένο υλικό θα μείνει πίσω. Επιλέγοντας προσεκτικά τις εικόνες που θα εισχωρήσουν στο φωτοπαθές υλικό, οι μηχανικοί

Εικόνα 4: Απεικόνιση μερικών τυπικών μικρομηχανικών μεθόδων. (Α) Η φωτολιθογραφία χρησιμοποιείται αρχικά για τη μεταφορά μιας διαμόρφωσης στην

επιφάνεια ενός υποστρώματος επιστρωμένου με φωτοευαίσθητη αντίσταση. Έπειτα, η αναπτυσσόμενη μέθοδος απομακρύνει επιλεκτικά το φωτοαντιδραστικό υλικό, κάτι που εξαρτάται από το εάν ή όχι έχει εκτεθεί στο φως. Τα επακόλουθα βήματα συνίστανται είτε στην εναπόθεση είτε στην απομάκρυνση υλικού στις διαμορφωμένες περιοχές, μετά αφού το υπόλοιπο φωτοαντιδραστικό υλικό έχει αφαιρεθεί. (Β) Οι συσκευές που είναι βασισμένες σε πολυμερή παράγονται γενικά χρησιμοποιώντας μια μέθοδο 'απαλής λιθογραφίας', στην οποία παράγεται αρχικά ένας 'αφέντης' που περιλαμβάνει την αρνητικά εικόνα των επιθυμητών δομών χρησιμοποιώντας τις μικρομηχανικές τεχνικές που περιγράφονται στο (Α). Αυτός ο 'αφέντης' τότε εξυπηρετεί σαν καλούπι που χρησιμοποιείται επακόλουθα (και ξαναχρησιμοποιείται) για την παραγωγή πανομοιότυπων καλούπιών του αρχικού σχεδίου.

μπορούν να δημιουργήσουν περίπλοκες δομές σε μια πολύ μικρή κλίμακα.

Η φωτολιθογραφία από μόνη της έχει πολλές προκλήσεις. Χρησιμοποιώντας οξύ για να δημιουργηθούν οπές είναι σχετικά ανακριβές- είναι απλά θέμα έκθεσης του υλικού στο οξύ και προσπάθειας υπολογισμού του κατάλληλου ποσού του χρόνου που θα πάρει το οξύ για να κάνει μια οπή αναγκαίου βάθους. Επιπρόσθετα, οι τοίχοι μιας τέτοιας οπής είναι πιθανό να μην είναι ομαλοί, μειώνοντας έτσι την ακρίβεια της σχισμής. Υπάρχουν έμφυτα προβλήματα εντός της διαδικασίας που μόνο επιδεινώνουν την ήδη δύσκολη πρόκληση της μετατροπής των δύο διαστατών εικόνων σε τρεις διαστατές μηχανικές δομές.

Ενώ πολλές από τις μεθόδους δανείζονται απευθείας στοιχεία από την ήδη υπάρχουσα τεχνολογία κατασκευής ημιαγωγών, τα συστήματα μικρορευστομηχανικής παρουσιάζουν έναν αριθμό δικών τους μοναδικών προκλήσεων κατασκευής. Για παράδειγμα, το μέγεθος της κλίμακας των δομών που υποβάλλονται σε μηχανουργική επεξεργασία είναι της τάξεως δέκατα των μικρών, ενώ αυτών των ημιαγωγών είναι τυπικά της τάξεως των μικρών ή μικρότερες. Η κατάθεση χοντρών στρωμάτων υλικού απαραίτητων για να κατασκευαστούν αυτές τις δομές εισάγουν δυσκολίες στη διατήρηση της ομοιομορφίας της επιφάνειας εγκαρσίως της συσκευής και του/ή wafer, ενώ η απομάκρυνση μεγάλων ποσών υλικού απαιτεί την χρήση μεθόδων χαρακτηριστικής που επιτρέπουν την άσκηση ικανού ελέγχου σε τέτοια χαρακτηριστικά όπως η επιφανειακή τραχύτητα. Οι μικροκατασκευαστικές τεχνικές απαιτούν επίσης ρευστές διατάξεις κυκλωμάτων (αντλίες, βαλβίδες κλπ) για την ακριβή μέτρηση και τον έλεγχο της κίνησης των υγρών εντός ενός μικροδιαλυτικού δικτύου, καθώς και μιας αποτελεσματικής διασυνδετικής διάταξης H/Y με το εξωτερικό περιβάλλον. Η επιτυχημένη μικρομηχανική μέθοδος μπορεί επίσης να εφαρμοστεί για την παραγωγή συσκευών που θα ενσωματώνουν πολύπλοκες δομές πολλαπλών στοιβάδων.

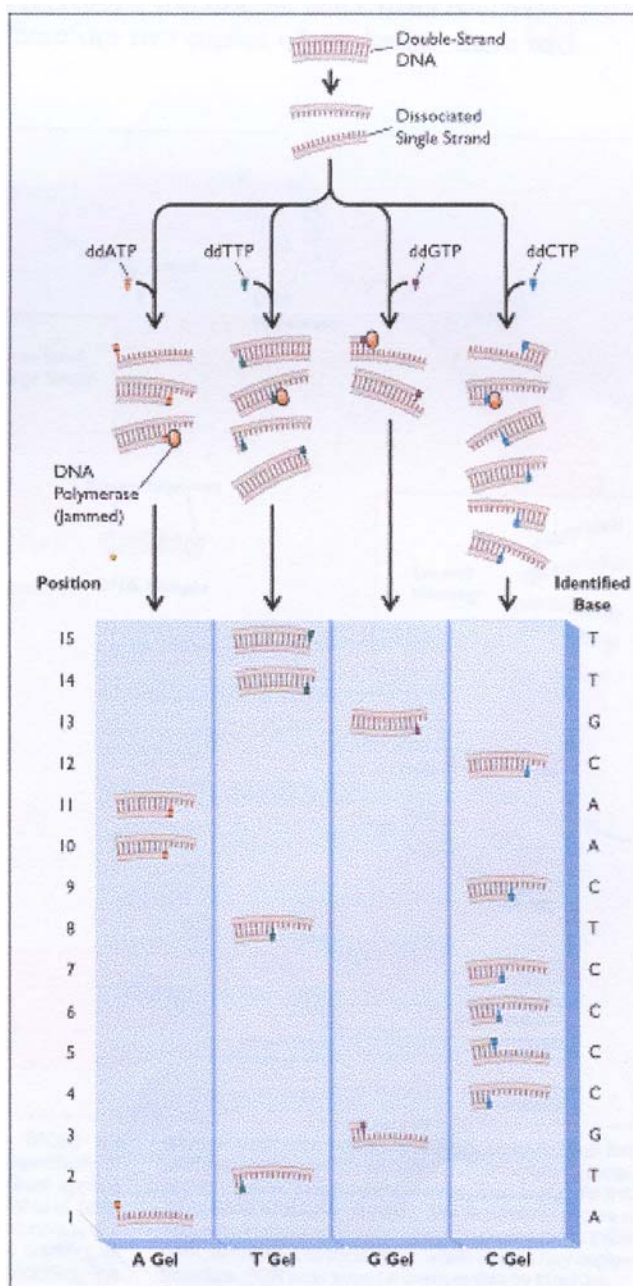
3.1.1 Επεξεργασία Πυριτίου (Silicon Processing)

Αυτή η μέθοδος καθρεφτίζει στενά τη κατασκευή ημιαγωγών κάνοντας χρήση συμβατικών υποστρωμάτων από πυρίτιο και γυαλί. Σε αυτές τις συσκευές, οι διάλυτοι των ρευστών διαμορφώνονται εντυπώνοντας κατευθείαν στο υπόστρωμα είτε με εμβάπτιση σε χημικό διάλυμα (υγρή χάραξη) είτε με έκθεση σε χημικά αντενεργό πλάσμα (ξηρή χάραξη). Εδώ, το καμουφλαρισμένο στρώμα εξυπηρετεί διπλό σκοπό: καθορισμού του σχήματος που χαράζεται και προστασίας του υποστρώματος από διάσπαση σε περιοχές που δεν πρέπει να χαρακτηούνται. Οι μέθοδοι ξηρής χάραξης είναι γενικά ικανές να παράγουν βαθύτερα χαρακτηριστικά με μεγαλύτερη ομοιομορφία, ωστόσο απαιτείται ειδικός εξοπλισμός. Οι συσκευές υβριδικού γυαλιού/ γυαλιού και πυριτίου/ μόνο γυαλιού, στις οποίες οι χαραγμένοι σε γυαλί διάλυτοι ρευστών συνενώνονται σε υπόστρωμα επίπεδου γυαλιού ή πυριτίου, έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως σε μια σειρά μικρορευστομηχανικών εφαρμογών. Επειδή οι διατάξεις των ηλεκτρονικών εξαρτημάτων (ηλεκτρόδια, θερμοαντήρες, αισθητήρες πίεσης, φωτοανιχνευτές κλπ) μπορούν εύκολα να διαμορφωθούν σε μια πυριτική επιφάνεια, οι συσκευές γυαλιού/ πυριτίου είναι κυρίως θελκτικές σε εφαρμογές που απαιτούν ολοκληρωμένες ρευστές και ηλεκτρονικές διατάξεις κυκλωμάτων.

3.1.2 Απαλή Λιθογραφία (Soft Lithography)

Μια δεύτερη κατασκευαστική προσέγγιση συνεπάγεται τη χρήση τεχνικών διαμόρφωσης ή αποτύπωσης για την κατασκευή ρευστών διαύλων σε πολυμερή υποστρώματα. Η ευρεία έλξη των συσκευών που βασίζονται στα πολυμερή είναι κατά μεγάλο μέρος συνέπεια της άνεσης με την οποία τα ρευστά συστατικά στοιχεία μπορούν να κατασκευαστούν με ελάχιστη χρήση εξειδικευμένου εξοπλισμού. Ένας συντελεστής κλειδί είναι ο προσδιορισμός των πολυμερών υλικών με ιδιότητες κατάλληλες για βιοχημικές εφαρμογές όπως η βιοσυμβατότητα, η ηλεκτρική ουδετερότητα, και η οπτική διαφάνεια σε επιθυμητά μήκη κύματος. Ενώ έχει χρησιμοποιηθεί επιτυχώς ένας αριθμός

υλικών για τη κατασκευή μικρορευστομηχανικών συσκευών, το PDMS [silicone elastomer poly(dimethyl siloxane)] έχει αναδειχθεί ως το ένα από τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα.



Εικόνα 5 : Η χαρτογράφηση του DNA είναι μεταξύ των προγενέστερων τεχνολογιών για τα βιοτσιπ. Σε αυτές οι μέθοδοι εκτελούν ένα πολύπλοκο μοριακό και βιολογικό έργο. Σε αυτή την περίπτωση η ανάγνωση ενός αγνώστου διαστήματος γενετικού κώδικα, γίνεται διαχωρίζοντας το έργο σε πειθαρχημένα βήματα υψηλής καταλληλότητας για αυτοματισμούς σε ένα τσιπ παρόμοιο με αυτά των υπολογιστών. Εδώ το άγνωστο διάστημα διαχωρίζεται σε μονούς κλώνους, τα οποία με τη σειρά τους ανασχηματίζονται (από μια πολυμεράση) στην παρουσία τεσσάρων τύπων δομημένων καλουπιών διαμόρφωσης, ή βάσεων τεχνητού DNA, κάθε ένα από τα οποία θα μπλοκάρει την διαδικασία σε μια συγκεκριμένη βάση (A, T, G, ή C). Η προκύπτουσα συλλογή τεμαχίων ταξινομούνται κατά μέγεθος σε ηλεκτρικό πεδίο (τζέλ ηλεκτροφόρηση) από τα οποία μπορεί να διαβαστεί η ακολουθία. Σύντομα η ανάγνωση της αλληλουχίας του DNA θα μπορεί να εκτελείται από μικρορευστομηχανικά βιοτσιπς.

Η κατασκευή των συσκευών βασισμένων στα πολυμερή ξεκινά τυπικά με την κατασκευή ενός ‘κύριου οδηγού’ που περιέχει μια αρνητική απεικόνιση των επιθυμητών δομών και τελικά θα εξυπηρετήσει ως πατρών για τη παραγωγή των τελικών μικρορευστομηχανικών συσκευών. Οι κύριοι οδηγοί συνήθως κατασκευάζονται από πυρίτιο ή παχύ φωτοαντιδραστικό υλικό, και παράγονται χρησιμοποιώντας συμβατικές τεχνικές επεξεργασίας πυριτίου. Άπαξ και ο κύριος οδηγός κατασκευαστεί, μπορεί τότε να χρησιμοποιηθεί για τη παραγωγή συσκευών χρησιμοποιώντας είτε τη μέθοδο της απαλής λιθογραφίας βάση της οποίας μίγμα σιλικονούχας ρητίνης και ενός προϊόντος διασταύρωσης εκχύνονται πάνω στον οδηγό και αφήνονται να τον απαλλάξουν από επιβλαβή στοιχεία, είτε τη μέθοδο αποτύπωσης βάση της οποίας ο οδηγός πιέζεται σε μια λεπτή μεμβράνη πολυμερούς που έχει μαλακώσει με θέρμανση κάτω από το σημείο τήξης του. Οι συσκευές πολυμερών έχουν το πλεονέκτημα της απλότητας και της σχετικά φθηνής κατασκευής αφού ένας οδηγός μπορεί να χρησιμοποιηθεί κατ’επανάληψη για τη παραγωγή πολλών συσκευών. Επιπρόσθετα, η έμφυτη μηχανική ευελιξία των δομών PDMS μπορεί να τιθασευτεί για τη κατασκευή αντλίων και βαλβίδων που λειτουργούν προκαλώντας παραμορφώσεις στο ίδιο το υπόστρωμα τους.

Παρά το μειωμένο κόστος τους, οι βασισμένες σε πολυμερή συσκευές προσφέρουν μόνο περιορισμένη ικανότητα για την εμφύτευση ηλεκτρονικών διατάξεων. Συνεπώς, οι συσκευές από πυρίτιο παραμένουν ελκυστική και εφικτή εναλλακτική λύση εξαιτίας της ικανότητας να ολοκληρώνουν ηλεκτρονικά εξαρτήματα απευθείας μέσα σε μικρορευστομηχανικά συστήματα. Για παράδειγμα, αυτή η προσέγγιση έχει χρησιμοποιηθεί για τη κατασκευή μιας συσκευής ικανής να εκτελεί διεύρυνση του DNA ακολουθούμενη από ανάλυση των προϊόντων της αντίδρασης με ηλεκτροφόρηση με τζέλ χρησιμοποιώντας εμφυτευμένες φωτοανιχνευτικές ηλεκτρονικές διατάξεις κυκλωμάτων για την απεικόνιση των περιοχών που έχουν αλλάξει θέση. Επιπλέον, πολύ από το πρόσθετο κόστος και τη πολυπλοκότητα που σχετίζονται με τις συσκευές από πυρίτιο μπορεί να αντισταθμιστεί από τα οικονομικά της κλίμακας της μικροσκοπικοποίησης. Χρησιμοποιώντας φωτολιθογραφικές τεχνικές, το κόστος της κατασκευής παραμένει ουσιαστικά αμετάβλητο ασχέτως του αριθμού των συσκευών που παράγονται σε ένα μόνο wafer. Συνεπώς, με ένα τρόπο εντελώς ανάλογο των αναπτύξεων στη βιομηχανία ημιαγωγών, η επαρκή μικροσκοπικοποίηση θα μπορούσε τελικά να αποφέρει συσκευές βιολογικής ανάλυσης αρκετά μικρές για να είναι φορητές, αλλά και αρκετά φθηνές για να είναι διαθέσιμες για χρήση.

3.2 ΜΙΚΡΟΜΗΧΑΝΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

Υπάρχουν τρεις κύριες κατηγορίες μικρομηχανικής: η μικρομηχανική όγκου, η μικρομηχανική επιφάνειας και η μικροδιαμόρφωση. Οι συσκευές MEMS τυπικά κατασκευάζονται χρησιμοποιώντας μια ή συνδυασμό αυτών των τεχνικών.

3.2.1 Η Μικρομηχανική Όγκου (Bulk Micromachining)

καθορίζει την τεχνική στην οποία ο όγκος του πυριτιούχου υποστρώματος εντυπώνεται για να αφήσει επιθυμητά μικρομηχανικά στοιχεία. Οι διεργασίες υγρής και ξηρής χαρακτηριστικής χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με κατάλληλα εκμαγεία και αναστολείς χαρακτηριστικής για να δώσουν σχήμα σε μια ποικιλία μικροδομικών συστατικών από υποστρώματα πυριτίου και/ ή γυαλιού όπως δοκίδες, διαφράγματα και ακροφύσια. Το διαμορφωμένο υπόστρωμα θα μπορούσε να σχηματίσει τη συσκευή MEMS από μόνο του. Εναλλακτικά, δύο ή περισσότερα διαμορφωμένα υποστρώματα θα μπορούσαν να συνενωθούν μαζί για να κατασκευάσουν πολύπλοκα τρισδιάστατα μικροδομικά στοιχεία.

3.2.2 Στη Μικρομηχανική Επιφάνειας (surface micromachining)

το υπόστρωμα χρησιμοποιείται πρωτίστως σαν μηχανικό στήριγμα πάνω στο οποίο, εναλλακτικά στρώματα δομικών υλικών εναποθέτονται και διαμορφώνονται για να καταλάβουν μικρομηχανικές δομές. Η μικρομηχανική επιφάνειας βασίζεται στη τοποθέτηση σε περίβλημα συγκεκριμένων τμημάτων μιας συσκευής σε στοιβάδες ενός υλικού κατά την διάρκεια της διεργασίας κατασκευής. Το υλικό αυτό τότε διαλύεται σε μια χημική ουσία που δεν προσβάλλει τα δομικά τμήματα για να πραγματοποιήσει ελεύθερα συστατικά. Η μικρομηχανική επιφάνειας είναι υψηλά συμβατή με μικροηλεκτρονικές κατασκευαστικές διαδικασίες και εξοπλισμό, και συνεπώς, επιτρέπει τη κατασκευή περίπλοκων, πολυσυστατικών, ολοκληρωμένων μικρομηχανικών δομών που θα ήταν αδύνατες με τη παραδοσιακή μικρομηχανική όγκου.

3.2.3 Η Μικροδιαμόρφωση (micro molding)

αναφέρεται στη κατασκευή μικροδομών χρησιμοποιώντας καλούπια για το προσδιορισμό της κατάθεσης του δομικού στρώματος. Μετά τη κατάθεση του δομικού

στρώματος, το καλούπι διαλύεται σε χημική ουσία για να υλοποιήσει τα τελικά μικροκατασκευαστικά συστατικά. Το καλούπι μπορεί να πραγματοποιηθεί χρησιμοποιώντας μια σειρά διεργασιών περιλαμβάνοντας τη λιθογραφία και τη χαρακτηριστική. Μια ενδιαφέρουσα προσέγγιση για τη διαμόρφωση του καλουπιού χρησιμοποιεί υψηλής έντασης, χαμηλής απόκλισης, τραχείς ακτίνες X όπως η πηγή έκθεσης στη λιθογραφία. Αυτές οι ακτίνες X συνήθως παράγονται από ακτινοβολία σύγχροτρου για να σχεδιάσει πολυμεθυλμεθακρυλικά στρώματα σε χαρακτηριστικά με εξαιρετικά υψηλά κατά βάθος και πλάτος ποσοστά που δεν είναι πιθανό να χρησιμοποιήσουν οι συμβατικές μικρομηχανικές τεχνικές όγκου ή επιφάνειας.

Μετά τη δημιουργία του καλουπιού, οι είσοδοι στο σχήμα του καλουπιού επιμεταλλώνονται προνομιακά με μέταλλο (συνήθως νικέλιο ή χαλκό) για να αποδώσουν ένα υψηλής ακρίβειας συμπληρωματικό αντίγραφο. Τελικά, το καλούπι διαλύεται για να αφήσει πίσω επιμεταλλωμένες μικροδομές. Είναι επίσης πιθανό να χρησιμοποιηθούν οι επιμεταλλωμένες δομές ως καλούπι για εύπλαστη διαμόρφωση εισαγωγής με ψεκασμό (plastic injection molding) ή θερμή διακόσμηση με ανάγλυφα (hot embossing). Μετά τη κούρα, το μεταλλικό καλούπι απομακρύνεται αφήνοντας πίσω μικρο-αντίγραφα της αρχική μήτρας.

4. ΜΙΚΡΟΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΠΑΡΟΧΗΣ ΦΑΡΜΑΚΩΝ

Κατά την παρούσα περίοδο, αναπτύσσονται πολυάριθμα εξελιγμένα και δραστικά φάρμακα. Ωστόσο, οι συμβατικές μέθοδοι χορήγησης φαρμάκων έχουν περιορισμούς στην αποτελεσματική χορήγηση αυτών των φαρμάκων στο ανθρώπινο σώμα. Για παράδειγμα, η στοματική χορήγηση νέων πρωτεϊνούχων ή DNAούχων φαρμάκων δεν είναι γενικά εφικτή εξαιτίας της παραμόρφωσης των φαρμάκων στη γαστρεντερική οδό και στην εξουδετέρωση στο ήπαρ. Η συνηθισμένη εναλλακτική της στοματικής χορήγησης, ενδοφλέβια ή ενδομυϊκή ένεση, μπορεί να χορηγήσει αυτά τα φάρμακα σε μεγάλες ποσότητες, αλλά ο πόνος και ο τραυματισμός των ιστών στους ασθενείς προκύπτουν συχνά από τη χρήση των βελόνων. Επιπλέον, η συμβατική ένεση είναι ανίκανη να παρέχει συνεχή απελευθέρωση, κάτι που μειώνει σε μεγάλο βαθμό τη δραστικότητα των φαρμάκων.

Έχουν προταθεί πολλές θεωρήσεις για την αποτελεσματική χορήγηση φαρμάκων στο ανθρώπινο σώμα. Αυτές οι νέες μέθοδοι μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε τρεις κύριες ομάδες:

- 1) Βιοκάψουλες και μικρομόρια για ελεγχόμενη και/ή ειδικής θέσης απελευθέρωσης φαρμάκων,
- 2) Μικροβελόνες για διαδερμική και ενδοφλέβια χορήγηση και
- 3) Εμφυτευόμενα μικροσυστήματα.

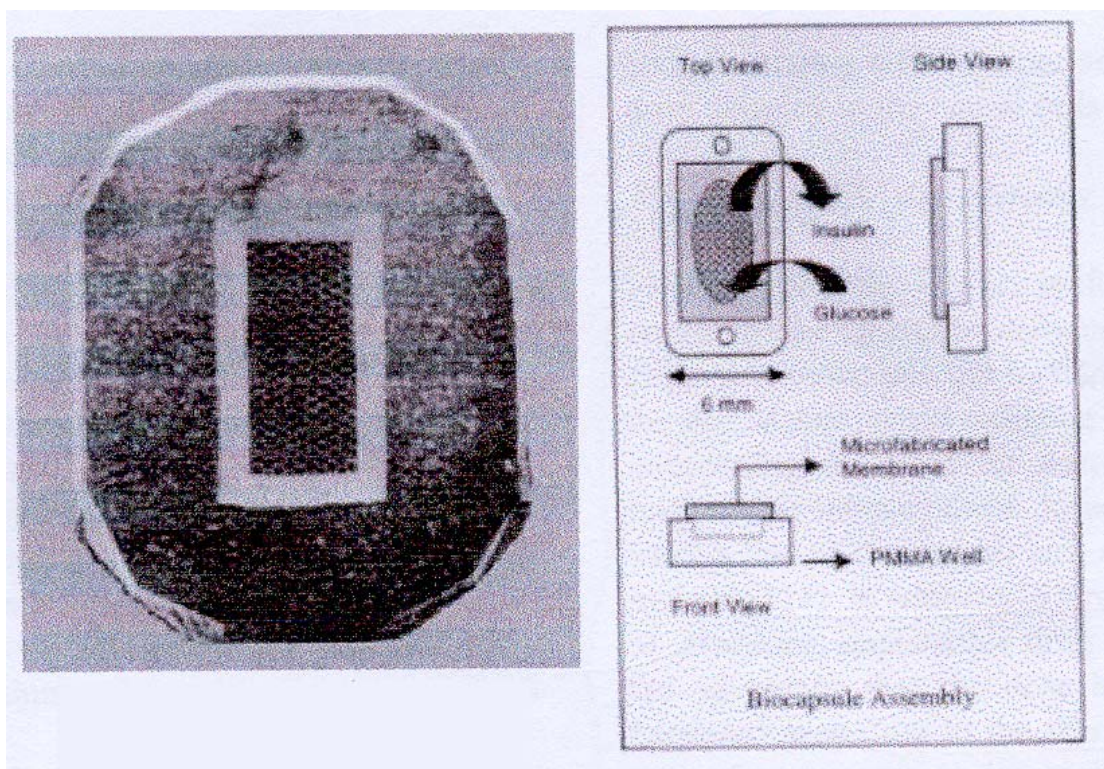
Τα μικροηλεκτρονικά μηχανικά συστήματα (MEMS), ειδικά τα Bio-MEMS, έχουν βρει πολυάριθμες εφαρμογές και στις τρεις ομάδες.

4.1 ΒΙΟΚΑΨΟΥΛΕΣ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΜΟΡΙΑ

Οι βιοκάψουλες και τα μικρομόρια ερευνούνται έντονα ως νέα μέθοδος χορήγησης φαρμάκων. Με το να περιβάλλουμε τα φάρμακα με κάψα σε βιοδιασπώμενο μικροσφαιρίδιο ή μικρομόριο, μπορεί να κατορθωθεί ένα προφίλ συνεχούς ή ελεγχόμενης απελευθέρωσης φαρμάκων. Η απελευθέρωση ειδικής θέσεως μπορεί να κατορθωθεί συνδέοντας υποκαταστάτες (ή συνδέτες: οργανικά μόρια τα οποία χορηγούν τα απαραίτητα ηλεκτρόνια για να σχηματιστούν ομοιοπολικοί δεσμοί με μεταλλικά ιόντα. Επίσης ιόντα ή μόρια τα οποία αντιδρούν για να σχηματίσουν συμπλέγματα με άλλα μόρια) στην επιφάνεια των μικρομορίων με σκοπό να στοχεύσουμε συγκεκριμένες θέσεις. Μέχρι τώρα, πολύ από την έρευνα που έχει διεξαχθεί σε αυτή τη περιοχή έχει

εστιαστεί στη αναζήτηση βιοδιασπώμενων και βιοσυμβατών πολυμερών υλικών για να δημιουργηθούν τα μικροσφαιρίδια ή τα μικρομόρια. Η μικροκατασκευαστική τεχνολογία έχει χρησιμοποιηθεί πρόσφατα στη κατασκευή νανοπορώδων μεμβρανών για την

Εικόνα 6 : Μια μικροκατασκευαστική βιοκάψουλα για in vivo έκκριση ινσουλίνης.



περιβολή φαρμάκων με κάψα, και μικρομορίων για ειδικής θέσεως στοματική χορήγηση.

Οι νανοπορώδεις μεμβράνες παράγονται χρησιμοποιώντας τεχνολογία μικροκατασκευής, όπως τη φωτολιθογραφία, εναποθέσεις λεπτών στοιβάδων και επιλεκτική χαρακτική, για τη δημιουργία μεμβρανών που απαρτίζονται από πυρίτιο με υψηλά ομοιόμορφους πόρους σε μέγεθος νανομέτρων. Οι μικροκατασκευαστικές μεμβράνες παρέχουν αρκετά πλεονεκτήματα υπέρ των πολυμερών υλικών: μικρότερο μέγεθος πόρων (10-100 nm εμβέλεια) , υψηλή ομοιομορφία και λεπτότερο πάχος μεμβράνης. Επιπλέον, επειδή οι μεμβράνες μικροκατασκευής είναι κατασκευασμένες από πυρίτιο, είναι βιολογικά, χημικά και μηχανικά σταθερές.

Οι τεχνολογίες μικρομηχανικής επιφάνειας και όγκου (surface and bulk micromachining) ενσωματώνονται στην επεξεργασία κατασκευής βιοκαψούλων, καταλήγοντας σε μεμβράνη διάχυσης με ομοιόμορφου μεγέθους πόρων διανομή καθώς και σε μηχανική και χημική σταθερότητα, περιστοιχιζόμενη από ένα wafer που είναι

ανισοτροπικά χαραγμένο με πυρίτιο, και που εξυπηρετεί σαν τη κοιλότητα που θα περιβληθεί από κάψα. Τα κύτταρα ινσουλινώματος (συνήθως καλοήθης όγκος που όμως αποτελεί μια από τις κύριες αιτίες υπογλυκαιμίας) (4500 κύτταρα/ βιοκάψουλα) εσωκλείστηκαν μέσα σε αυτές τις βιοκάψουλες και απελευθερώθηκαν διαμέσου των ημιπερατών νανοπορώδων μεμβρανών. Αυτή η έρευνα αποδεικνύει το εφικτό της χρησιμοποίησης μικροκατασκευαστικών βιοκάψουλων σαν εναλλακτική στις συμβατικές βιοκάψουλες βασισμένες στα πολυμερή, για πιθανή χρήση in vivo (εντός του ζώντος οργανισμού, σε φυσικό περιβάλλον) βιολογικού αντιδραστήρα κρυφής ινσουλίνης.

Η μικροκατασκευαστική τεχνολογία έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για τη δημιουργία μικρομορίων για χορήγηση ειδικής θέσεως. Σε αντίθεση με τα συμβατικά ιδιαίτερα συστήματα χορήγησης φαρμάκων όπως τα πολυμερή μικροσφαιρίδια, τα μικροκατασκευαστικά μικρομόρια είναι λεπτές, σε σχήμα δίσκου δομές. Αυτά τα μόρια μπορούν να σχεδιαστούν με πάχος από 1-50 μm και διάμετρο από 1-100s μικρών. Τα μόρια μπορούν να σχεδιαστούν ασύμμετρα με μόνο ένα ή πολλαπλά φαρμακευτικά αποθέματα, και οι υποκαταστάτες που είναι δεσμευμένοι στη μια πλευρά μπορούν να στοχεύσουν συγκεκριμένες θέσεις. Τα μικροκατασκευαστικά μόρια μπορούν να συνδυάσουν εντερική ιστική επικάλυψη, βιοσυγκολλητικούς παράγοντες, ενισχυτική διείσδυση και ενζυμικούς αναστολείς σε μια μόνο πλατφόρμα παροχής φαρμάκων. Το μέγεθος και το σχήμα των μορίων μπορεί να ελεγχθεί εύκολα για να αποκτήσουμε ένα βέλτιστο προφίλ χορήγησης. Αυτές οι συσκευές είναι κατ' εξοχήν αποτελεσματικές για στοματική χορήγηση πεπτιδικών και πρωτεϊνούχων φαρμάκων μέσα από το έντερο.

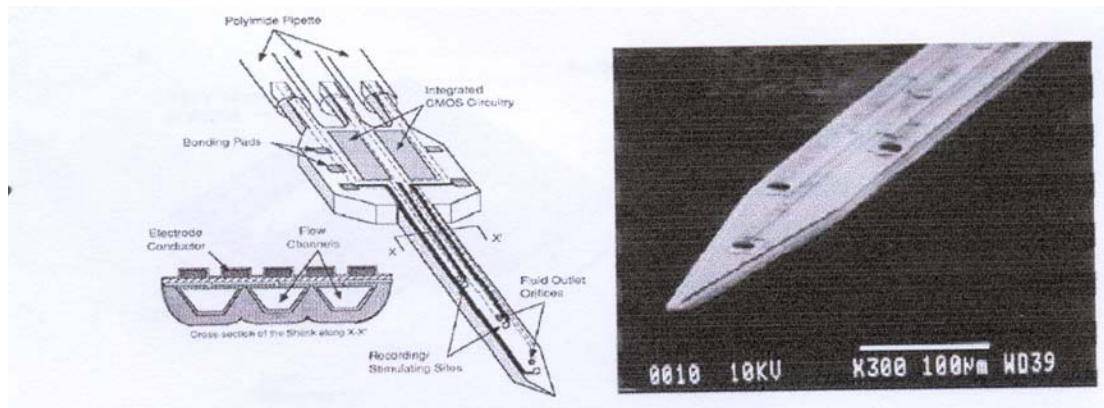
4.2 ΜΙΚΡΟΒΕΛΟΝΕΣ

Η διαδερμική (δια μέσου του δέρματος) χορήγηση φαρμάκων για παρατεταμένες περιόδους χρόνου είναι ένας βολικός, ελεγχόμενος τρόπος να παρέχουμε φαρμακευτική αγωγή. Συγκρινόμενη με τη συμβατική στοματική χορήγηση και ένεση, η διαδερμική χορήγηση φαρμάκων ξεπερνά τον περιορισμό της γαστρεντερικής παραμόρφωσης των φαρμάκων και εξαλείφει το πόνο και την ενόχληση της ενδοφλέβιας και ενδομυϊκής ένεσης. Εντούτοις, η αποδοτικότητα της διαδερμικής χορήγησης φαρμάκων περιορίζεται σε μεγάλο βαθμό από τη χαμηλή διαπερατότητα του ανθρώπινου δέρματος ειδικότερα τα εξωτερικά 10-20 μm του δέρματος. Έχουν παρθεί μια σειρά από θεωρήσεις για την αύξηση του ρυθμού μεταφοράς κατά πλάτος του δέρματος χρησιμοποιώντας, για παράδειγμα, χημικές ενισχύσεις, ιοντοφόρηση (η εισαγωγή στο σώμα ιόντων διαλυτών αλάτων με τη βοήθεια ηλεκτρικού ρεύματος) ή υπέρηχους.

Μια καινοφανή προσέγγιση στη διαδερμική παροχή φαρμάκων χρησιμοποιεί μικροκατασκευαστικές διατάξεις μικροβελόνων οι οποίες είναι αρκετά μακριές και εύρωστες για να διαπεράσουν το εξωτερικό τμήμα του δέρματος αλλά και αρκετά κοντές για να μην διεγείρουν τα νεύρα στους βαθύτερους ιστούς. Διατάξεις από συμπαγείς μικροβελόνες από πυρίτιο μικρομηχανικής όγκου, κατασκευάστηκαν από μια μέθοδο χαρακτηριστικής αντιδραστικών ιόντων και έδειξαν να αυξάνουν τη διαπερατότητα του δέρματος για μια ποικιλία από διάφορα μόρια κατ' εντολήν των διαστάσεων. Διατάξεις από κοίλες μικροβελόνες κατασκευάστηκαν επίσης χρησιμοποιώντας βαθιά χαρακτηριστική αντιδραστικών ιόντων για να σχηματίσουν τη μονάδα έντασης φωτός της βελόνας, ακολουθούμενη από μια μέθοδο χαρακτηριστικής αντιδραστικών ιόντων για το σχηματισμό του κωνικού τοιχώματος των μικροβελόνων. Αυτές οι κοίλες μικροβελόνες μπορούν να αυξήσουν τη διαπερατότητα του δέρματος ακόμα παραπέρα από τις συμπαγείς μικροβελόνες.

Οι μικροβελόνες μπορούν επίσης να ενσωματωθούν με μικροαισθητήρες ή μικροενεργοποιητές για να σχηματίσουν εξειδικευμένα συστήματα παροχής φαρμάκων. Πρόσφατα γνωστοποιήθηκε μια φορητή συσκευή παροχής φαρμάκων με ενσωματωμένες μικροβελόνες και μια μικροαντλία θετικής μετατόπισης με MEMS τσιπ, για εφαρμογές συνεχούς χορήγησης φαρμάκων. Οι μικροβελόνες έχουν κατασκευαστεί χρησιμοποιώντας μια μέθοδο πολυπυριτικής διαμόρφωσης (polysilicon micromolding method). Η παραγωγή και η καθίζηση θερμικά παραγόμενων φυσαλίδων με ροή που διορθώνεται από βαλβίδες κατευθυντήριου ελέγχου, χρησιμοποιούνται για τη κατόρθωση δικτύου αντλιών. Λήφθηκαν ρυθμοί ροής νερού κατά προσέγγιση 1.0 nl/s και κατορθώθηκε συνεχής άντληση για περισσότερες από 6 h.

Άλλο ένα παράδειγμα είναι ένας πολυδιαυλικός καθετήρας από πυρίτιο για τη χορήγηση πολύ μικρών και επακριβών ποσών βιοενεργών συστατικών σε υψηλά εντοπισμένες περιοχές νευρικού ιστού ενώ ταυτόχρονα καταγράφονται ηλεκτρικά σήματα από τους νευρώνες και διεγείρονται ηλεκτρικά οι νευρώνες *in vivo*.



Εικόνα 7: Μικρομηχανικός καθετήρας φαρμακευτικής χορήγησης νευρικού ιστού. Αριστερά: Σκίτσο ενός καθετήρα που διαθέτει τρία κανάλια χορήγησης μαζί με καταγραφικά και διεγερτικά ηλεκτρόδια. Δεξιά: Οπτική εικόνα ενός τέτοιου καθετήρα.

Οι πολυδιαυλικοί νευρικοί καθετήρες έχουν υποβληθεί σε μικρομηχανουργική επεξεργασία με πυρίτιο, χρησιμοποιώντας μια σειρά οξειδώσεων, διαχύσεων με βόριο, και βήματα υγρής χαρακτικής. Έχουν επίσης κατασκευαστεί ολοκληρωμένες συμπληρωματικές μέταλλο-οξείδω-ημιαγωγικές διατάξεις κυκλωμάτων (CMOS) και ηλεκτρόδια στο καθετήρα για νευρική διέγερση και καταγραφή. Μια πιο εξειδικευμένη συσκευή χορήγησης φαρμάκων που περιέχει ενσωματωμένους μικροδιαύλους, καλώδια ρευστών, διηλεκτρικούς φράκτες πάνω στα στόμια των ενέσεων, και κινητά ροόμετρα για να επιβεβαιώνουν την προοριζόμενη δόση, μαζί με τις ηλεκτρικές διατάξεις κυκλωμάτων καταγραφής και διέγερσης, μπορεί να κατορθώσει χρόνιες *in vivo* χορηγήσεις φαρμάκων στα νευρικά κύτταρα.

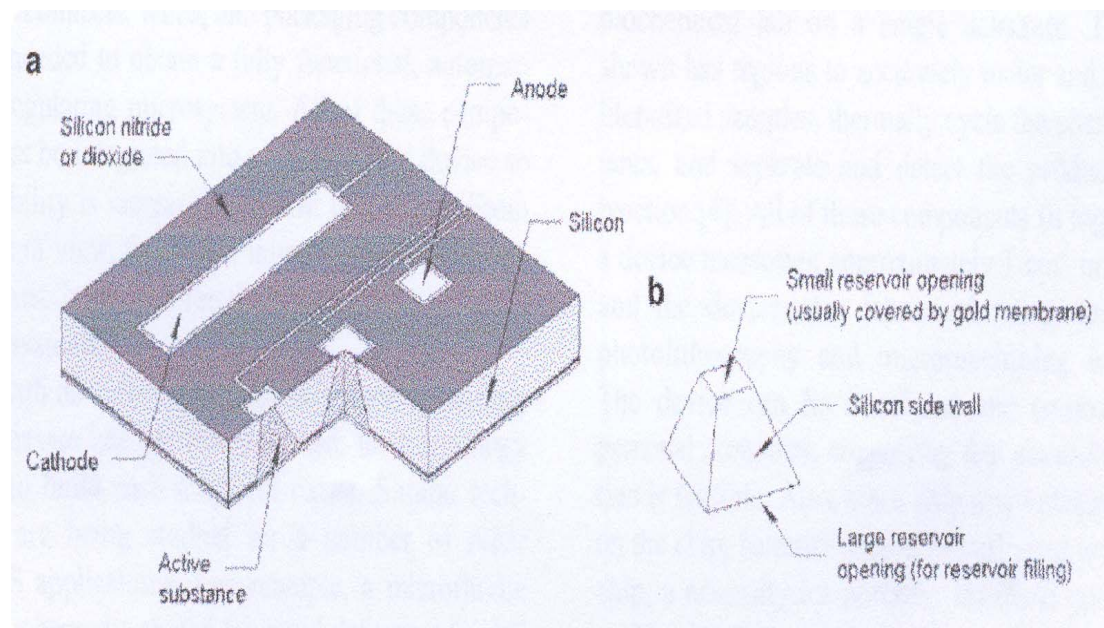
4.3 ΕΜΦΥΤΕΥΟΜΕΝΑ ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ

Οι εμφυτευόμενες συσκευές προτιμούνται για θεραπείες που απαιτούν πολλές ενέσεις καθημερινά ή εβδομαδιαία. Μπορούν είτε να εμφυτευτούν στο ανθρώπινο σώμα ή να τοποθετηθούν κάτω από το δέρμα, μειώνοντας συνεπώς το κίνδυνο μόλυνσης εξαλείφοντας την ανάγκη για συχνές ενέσεις. Τα περισσότερα εμφυτευόμενα μικροσυστήματα δεν προκαλούν πόνο ή τραυματισμό των ιστών εξαιτίας του μικρού τους μεγέθους και είναι συχνά ουσιαστικά αόρατα. Εκτός του ότι μειώνουν τον αριθμό των ενέσεων, τα εμφυτευόμενα συστήματα χορήγησης φαρμάκων έχουν το πλεονέκτημα

ότι το επίπεδο της δόσης μπορεί να ρυθμιστεί με ακρίβεια σύμφωνα με τη θεραπεία και τις ειδικές ανάγκες του ασθενούς, κάτι που οφείλεται στην ελεγχόμενη φύση αυτών των

συσκευών. Τα συστήματα MEMS συνδυάζουν το μικρό μέγεθος, τις χαμηλές ενεργειακές απαιτήσεις, και τη δυνατότητα της ακριβούς μέτρησης των υγρών δειγμάτων, όλα από τα οποία διευκολύνουν την εμφύτευση. Για αυτούς τους λόγους, τα μικροσυστήματα που είναι βασισμένα στα MEMS ελκύουν τους υποψήφιους σαν

Εικόνα 8: Ένα σταθερής κατάστασης πυριτιούχο μικροτσίπ για ελεγχόμενη απελευθέρωση.



εμφυτευόμενα συστήματα χορήγησης φαρμάκων.

Μια μέθοδος για τη κατόρθωση πολύπλοκων διατάξεων απελευθέρωσης φαρμάκων προϋποθέτει τη χρήση μικροκατασκευαστικής τεχνολογίας για την ανάπτυξη ενεργών εμφυτευμένων μικρορευστομηχανικών συσκευών που ενσωματώνουν μικροαντλίες, βαλβίδες και κανάλια ροής για τη παροχή υγρών διαλυμάτων. Ένα από τα συστατικά 'κλειδιά' σε αυτές τις συσκευές είναι το μικροσκοπικό σύστημα παροχής υγρών ή η μικροαντλία. Είναι διαθέσιμες διάφορες μέθοδοι άντλησης, περιλαμβάνοντας ηλεκτροοσμωτική άντληση για ιοντικά υγρά, αντλίες θετικής μετατόπισης που χρησιμοποιούν πιεζοηλεκτρικά στοιχεία, και πνευματικές επιφανειακής τάσης αντλίες που βασίζονται σε διεπιφάνειες κινητών αερίων-υγρών για τη μετατόπιση των υγρών.

Έχουν επίσης ερευνηθεί και άλλες εμφυτευόμενες συσκευές παροχής φαρμάκων εκτός από ενεργές συσκευές μικρορευστομηχανικής. Αναπτύχθηκε ένα μικροτσίπ από στερεό και συμπαγές πυρίτιο για ελεγχόμενη απελευθέρωση μιας μόνο ή πολλαπλών χημικών ουσιών κατά απαίτηση.

Ο μηχανισμός διάχυσης βασίζεται στην ηλεκτροχημική λύση μικρού πάχους, θετικού φορτίου, χρυσών μεμβρανών που καλύπτουν μικροδεξαμενές γεμάτες με χημικά σε στερεή, υγρή ή τζέλ μορφή. Μια επακόλουθη μικροκατασκευαστική διαδικασία που περιλαμβάνει φωτολιθογραφία, χημική εναπόθεση ατμού (CVD), εξάτμιση ηλεκτρονίων με δέσμη και χαρακτηριστική αντενεργών ιόντων (RIE) έχει χρησιμοποιηθεί για τη δημιουργία 34 μικροδεξαμενών σε ένα τσιπ, και κάθε μια καλύπτεται από μια μικρού πάχους χρυσή μεμβράνη που λειτουργούν ως άνοδοι. Η χρυσή μεμβράνη μπορεί να διαλυθεί όταν εφαρμοστεί μια επιθυμητή τάση, και το φάρμακο στο εσωτερικό της διαχυθεί έξω στο υγρό που την περιβάλλει.

4.4 ‘ΕΞΥΠΝΑ’ ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΑ ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ

Με σκοπό την ενεργοποίηση της παροχής των φαρμακευτικών συστατικών ή διαλυμάτων από τις διάφορες συσκευές που περιγράφηκαν παραπάνω, πρέπει να ληφθεί από το σύστημα ένα σήμα το οποίο θα πυροδοτήσει τη λειτουργία του. Στις περισσότερες συμβατικές συσκευές, το σήμα θέτεται σε εφαρμογή χειροκίνητα. Ωστόσο, μπορούν να αναπτυχθούν συσκευές που λειτουργούν χωρίς την ανθρώπινη παρέμβαση, ενσωματώνοντας σε αυτές χημικούς αισθητήρες. Αυτή η ιδιομορφία είναι απαραίτητη με σκοπό να κάνουμε τις συσκευές παροχής φαρμάκων πραγματικά εύρωστες. Τα συστήματα θα ήταν ικανά να παρακολουθούν τη φυσιολογική κατάσταση του ασθενούς και αρκετά ‘έξυπνα’ για να χορηγήσουν τον απαραίτητο συνδυασμό φαρμάκων για να αντιμετωπίσουν την ασθένεια οποιαδήποτε στιγμή. Αυτό σημαίνει ότι το σύστημα παροχής φαρμάκων θα είναι ικανό να:

- 1) παρακολουθεί τις φυσιολογικές συνθήκες μέσα στο σώμα του ασθενή και να τις μετατρέπει σε ηλεκτρονικά σήματα μέσω φυσικών και χημικών μορφομετατροπών,
- 2) λάβει τα ηλεκτρονικά σήματα, να τα αναλύσει, και να κάνει τις κατάλληλες ρυθμίσεις ελέγχου με τη βοήθεια μικροελεγκτών και
- 3) απελευθερώσει το κατάλληλο ποσό φαρμάκων μέσω μικροενεργοποιητών.

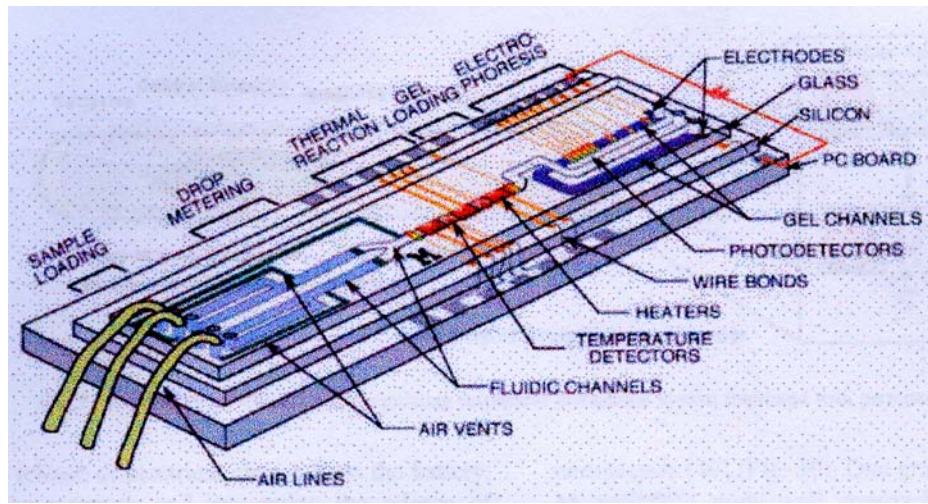
Έτσι, τα μελλοντικά συστήματα χορήγησης φαρμάκων μπορεί να περιέχουν όχι μόνο τα εξαρτήματα μικροενεργοποιητών όπως είναι οι μικροαντλίες, οι μικροβαλβίδες και οι ρυθμιστές ροής, αλλά επίσης φυσικούς και χημικούς μικροαισθητήρες, και ηλεκτρονικά ελέγχου. Χρειάζονται επίσης ηλεκτρικές διασυνδέσεις, καλώδια, και στοιχεία πακεταρίσματος για να αποκτήσουμε ένα πλήρως λειτουργικό, αυτόματο, αυτορυθμιζόμενο μικροσύστημα. Όλα αυτά τα στοιχεία πρέπει να ενσωματωθούν σε μια μικροσκοπική συσκευή έτσι ώστε να αυξηθεί η αξιοπιστία και να μειωθεί το κόστος.

Από αυτή την άποψη, η λειτουργική ενσωμάτωση θα μπορούσε να είναι μια από τις πιο σημαντικές απαιτήσεις για τα μελλοντικά συστήματα παροχής φαρμάκων.

Παρόλο που δεν είναι πλήρως ολοκληρωμένες τέτοιες συσκευές, η τεχνολογία που απαιτείται για τη κατασκευή ενός τέτοιου συστήματος υπάρχει. Είναι υπό μελέτη παρόμοιες τεχνολογίες για πολυάριθμες άλλες εφαρμογές των bioMEMS. Για παράδειγμα, έχει αναπτυχθεί ένα μικρορευστό σύστημα για γρήγορη χορήγηση μικρών ποσοτήτων δείγματος σε βιοαισθητήρες, οι οποίοι μπορούν να αναλύσουν δείγματα τα οποία έχουν παρθεί από διογκωμένη ροή. Έχουν επίσης αναπτυχθεί άλλες μικρορευστές συσκευές ανοσοπροσδιορισμού με την ικανότητα της αυτοβαθμονόμησης. Έχουν αναπτυχθεί δίκτυα ρευστών με ενσωματωμένους ημιαγωγικούς ανιχνευτές/ εκπομπούς για φασματοσκόπηση φθορισμού σε μικρές ποσότητες δειγμάτων. Επακόλουθα έχουν πραγματοποιηθεί κυτταρική λύση, πολυσύνθετη ενίσχυση PCR και ηλεκτροφορητική ανάλυση σε μια ολοκληρωμένη μονολιθική συσκευή. Έχει ακόμα δημιουργηθεί ένας μικροκατασκευαστικός ηλεκτροφορητικός βιοεπεξεργαστής για ολοκληρωμένη αφαλάτωση δείγματος DNA, απομάκρυνση ιχνών, προ-συγκέντρωση, και τριχοειδική ηλεκτροφορητική (CE) ανάλυση.

Εκτός από αυτές τις απλές προσπάθειες στην ενσωμάτωση, συνδυάζονται περισσότερα στοιχεία σε υψηλά ολοκληρωμένα μικρορευστής φύσεως Μικροσυστήματα ανάλυσης DNA. Αυτά τα μικρορευστομηχανικά συστήματα έχουν βρεί πολλές δυνητικές ιατρικές εφαρμογές στη κλινική διάγνωση, στον ανοσοπροσδιορισμό, στο διαχωρισμό και ανάλυση του DNA και των πρωτεϊνών, στο χειρισμό και καλλιέργεια των κυττάρων, και στη παροχή φαρμάκων. Αυτές οι ποικίλες εφαρμογές αντιπροσωπεύουν τα πολλά πλεονεκτήματα της επεξεργασίας των ρευστών συστημάτων σε μικρές διαστάσεις: ακριβείς ποσότητες υγρών μπορούν να κινηθούν γρήγορα και αποδοτικά, η χημική ανάλυση είναι κατ' εξοχήν επακριβής- που οφείλεται σε μικρές ποσότητας δείγματα και ευαίσθητες μεθόδους ανίχνευσης, και οι διαδικασίες διάγνωσης και χορήγησης μπορούν συχνά να ενσωματωθούν σε μια μόνο συσκευή. Το τελευταίο χαρακτηριστικό είναι ιδιαίτερα σημαντικό για τη κατασκευή ενός πλήρως ολοκληρωμένου συστήματος παροχής φαρμάκων.

Ένα παράδειγμα τέτοιου ολοκληρωμένου συστήματος χημικής ανάλυσης φαίνεται στη παρακάτω εικόνα.



Εικόνα 9: Σχήμα μιας ολοκληρωμένης μικρορευστομηχανικής συσκευής για ανάλυση DNA.

Αυτού του είδους των μικροκατασκευαστικών συσκευών συχνά αναφέρονται σαν ‘Lab-on-a-Chip’ συσκευές από τη στιγμή που προφανώς περιέχουν τα περισσότερα από τα κύρια εξαρτήματα ενός χημικού ή βιοχημικού εργαστηρίου σε ένα μόνο υπόστρωμα. Η συσκευή που φαίνεται στην εικόνα έχει περιοχές που μετράνε και αναμιγνύουν με ακρίβεια δείγματα σε μέγεθος νανολίτρων, κυκλοποιούν θερμικά χημικές ουσίες, και διαχωρίζουν και εντοπίζουν τα προϊόντα αυτών των αντιδράσεων. Όλα αυτά τα στοιχεία τοποθετούνται μαζί σε μια συσκευή που έχει διαστάσεις σχεδόν 1 cm² συνολικά, και οι συσκευές αυτές κατασκευάζονται χρησιμοποιώντας συμβατικές φωτολιθογραφικές και μικρομηχανικές τεχνικές. Η συσκευή μπορεί να διασυνδεθεί και να ελεγχθεί από προσωπικό υπολογιστή. Επίσης, αφού στο τσιπ χρησιμοποιούνται μόνο χαμηλές τάσεις, θα μπορούσε να λειτουργήσει με μπαταρίες, κάτι που είναι αναγκαίο για φορητή, χειροκίνητη λειτουργία.

Η συσκευή ‘Lab-on-a-Chip’ που περιγράφηκε παραπάνω είναι ιδιαίτερα σημαντική και σχετική με τα συστήματα παροχής φαρμάκων επειδή είναι ένα πλήρες λειτουργικό παράδειγμα ενός συστήματος με ενεργητική ευαισθησία σε ένα τσιπ. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η χημική ευαισθησία είναι ζωτική για την ανάπτυξη ενός πολύπλοκου συστήματος χορήγησης φαρμάκων ικανού για αυτορυθμιζόμενη, κατανοητική λειτουργία. Το τσιπ χρησιμοποιεί αισθητήρες θερμοκρασίας για κλειστού κυκλώματος έλεγχο των θερμικών αντιδράσεων όπως είναι η αντίδραση διεύρυνσης της αλυσίδας της DNA πολυμεράσης (PCR), η οποία απαιτεί περιοδική επανάληψη της θερμοκρασίας μεταξύ θερμοκρασιών μετουσίωσης, αρχικής απόπτωσης, και παράτασης. Οι οπτικοί ανιχνευτές φθορισμού επίσης συμπεριλαμβάνονται στη συσκευή ευαισθησίας κλασματικού μεγέθους αντιδραστικών προϊόντων. Εμφυτεύονται δίοδοι στο υπόστρωμα

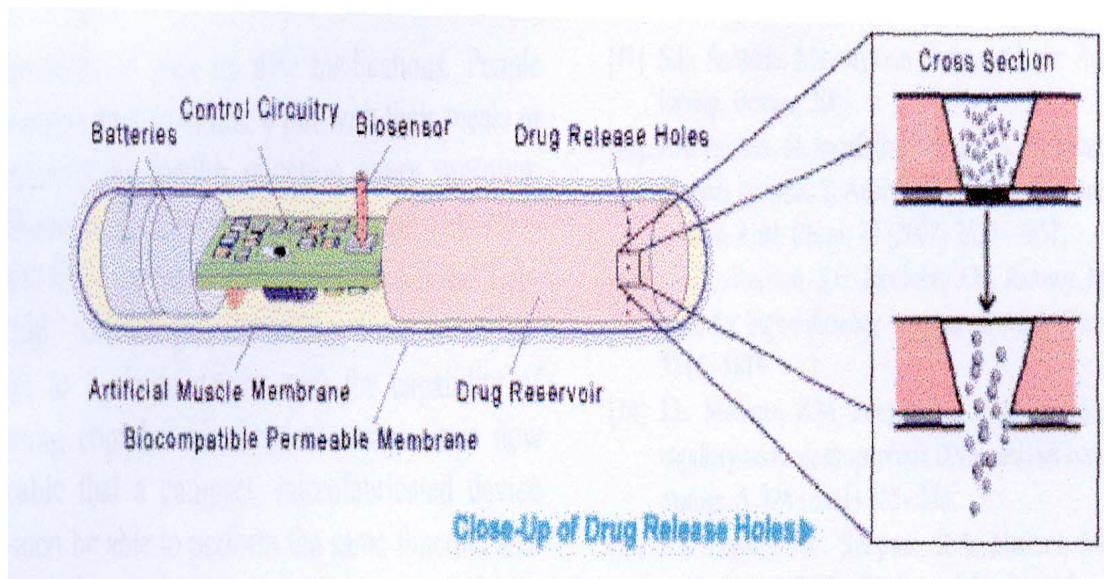
από πυρίτιο και καλύπτονται με φίλτρο παρεμβολής. Όταν συνδέονται με μια διεγερτική πηγή, είναι ικανές να ανιχνεύσουν μετακινημένες ζώνες του DNA κατά τη διάρκεια του ηλεκτροφορητικού διαχωρισμού στο τσιπ. Αυτά είναι μόνο δύο παραδείγματα των τύπων της ευαισθησίας που μπορούν να εκτελεστούν σε μια μικροκατασκευαστική συσκευή. Έχει δημοσιευτεί επιπρόσθετη έρευνα σε άλλους χημικούς αισθητήρες όπως η ηλεκτροχημική ανίχνευση πάνω σε τσιπ. Αυτές, και ίσως άλλες πιο εξειδικευμένες μέθοδοι χημικής ευαισθησίας, μπορούν να ενσωματωθούν στα μελλοντικά συστήματα παροχής φαρμάκων.

Πέρα από τη σπουδαιότητα των εφαρμογών ευαισθησίας, τα συστήματα μικρορευστομηχανικής θα βοηθήσουν στη προαγωγή της λειτουργικότητας των συστημάτων χορήγησης φαρμάκων. Εκμεταλλεύοντας την ικανότητα της αποθήκευσης υγρών σε δεξαμενές στο τσιπ μέχρι να απαιτηθεί συνδυασμός αυτών, είναι πιθανό να κατορθώσουμε πολύπλοκα προφίλ φαρμακευτικής διάχυσης, συνδυασμούς χορήγησης και χημικές αντιδράσεις. Η χορήγηση πολλαπλών διαλυμάτων χωρίς συνδυασμό είναι επίσης πιθανή χρησιμοποιώντας ελασματικά συστήματα ροής. Τα στοιχεία που χρησιμοποιούνται σε τυπικές 'Lab-on-a-Chip' και άλλες παρόμοιες μικρορευστομηχανικές συσκευές μπορούν να συνδυαστούν για το σχεδιασμό άλλων πολύπλοκων ολοκληρωμένων ρευστών συστημάτων για εφαρμογές όπως η παροχή φαρμάκων, όλα μέσα σε μια υπερ-συνεπτυγμένου μεγέθους συσκευή που να μπορεί να παραχθεί σε χαμηλό κόστος μονάδας.

4.5 ΕΜΠΟΡΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Οι συσκευές χορήγησης φαρμάκων του μέλλοντος παίρνουν μερικά σημαντικά υποδείγματα από τις ολοκληρωμένες συσκευές μικρορευστομηχανικής. Αυτή η πρόκληση της ενσωμάτωσης ενεργών στοιχείων ευαισθησίας μέσα σε συνεπτυγμένα, χαμηλής ενέργειας μικρορευστομηχανικά συστήματα παροχής φαρμάκων είναι ένα από αυτά που έχει απήχηση στις εταιρίες βιοτεχνολογίας, οι οποίες ψάχνουν να αναπτύξουν αυτορυθμιζόμενα μικροσυστήματα ως την απόλυτα θεραπευτική λύση στις χρόνιες ασθένειες όπως ο διαβήτης ή το HIV.

Προς το παρόν είναι υπό εξέλιξη μια ολοκληρωμένη, αυτορυθμιζόμενη αντιδραστική θεραπευτική συσκευή.



Εικόνα 10: Ένα σχηματικό αυτορυθμιζόμενης ανταπόκρισης θεραπευτικό σύστημα ενός ChipRx's.

Περιγράφεται ότι διαθέτει πλήρως ενσωματωμένα βιοαισθητήρες, ηλεκτρονική ανάδραση και διάχυση φαρμάκων/ αντιμέτρων. Αυτή η συσκευή έχει σχεδιαστεί για να ανιχνεύει τα φυσιολογικά επίπεδα των μεταβολιτών, όπως η γλυκόζη. Όταν εντοπίζεται μια μεταβολή, στέλνεται ένα σήμα από τον αισθητήρα στις μπαταρίες, οι οποίες εκπέμπουν ηλεκτρικό φορτίο. Το ηλεκτρικό φορτίο τότε πυροδοτεί το άνοιγμα ενός αντιδραστικού υλικού, που επιτρέπει τη διάχυση του επιθυμητού θεραπευτικού παράγοντα (πχ. ινσουλίνη) από τη δεξαμενή. Όταν τα επίπεδα της γλυκόζης επιστρέψουν στα φυσιολογικά, ο αισθητήρας σταματά την απελευθέρωση του ηλεκτρικού φορτίου από τη μπαταρία, κλείνοντας τη δεξαμενή και εμποδίζοντας τη διάχυση περισσότερης ινσουλίνης. Αυτός ο τύπος της συνεχόμενης απάντησης, των ολοκληρωμένων συστημάτων χορήγησης θα επιφέρει πραγματικά επανάσταση στη περίθαλψη του καθενός ασθενή.

Η συσκευή που περιγράφηκε παραπάνω αναπτύχθηκε για χρήση εξωτερικών και εμφυτευμένων συστημάτων για τη παροχή πρωτεϊνών, ορμονών, φαρμακευτικής αγωγής κατά του πόνου, και άλλων φαρμακευτικών συστατικών.

Ένα μεγάλο πλεονέκτημα αυτής της προσέγγισης είναι η ικανότητα αποθήκευσης και απελευθέρωσης πολλαπλών φαρμάκων ή χημικών από μια μόνο συσκευή. Με αυξημένη ενσωμάτωση, αυτές οι συσκευές υπόσχονται την ανάπτυξη τους μέσα σε μια έξυπνη συσκευή. Συνδυάζοντας τους μηχανισμούς διάχυσης κάθε αισθητήρα, μπορούν να επιτευχθούν εάν χρειάζεται περίπλοκα χημικά σχήματα διάχυσης.

Οι ερευνητές επίσης σχεδιάζουν τεχνολογία μικροβελόνων με συστήματα μικρορευστομηχανικής για τη παραγωγή ενός ελάχιστου επεμβατικού συστήματος κατάλληλης φαρμακευτικής έγχυσης επόμενης γενιάς. Κατά προσέγγιση στις ίδιες διαστάσεις ενός ασημένιου νομίσματος δολαρίου, αυτό το λειτουργικό σύστημα θα αποτελείται από αναλώσιμο πολυμερές υλικό που θα περιέχει το θεραπευτικό μίγμα και τις μικροβελόνες που θα κρατιούνται στο δέρμα με συγκολλητική ουσία. Μια επαναχρησιμοποιήσιμη μονάδα που θα περιέχει μικροκατασκευαστικά λογικά, μετρητικά και διαβιβαστικά κυκλώματα μπορεί να διασυνδεθεί με το αναλώσιμο στοιχείο για να σχηματίσει ένα εντελώς ενιαίο σύστημα χορήγησης. Ενώ οι περισσότερες συσκευές ρευστών βασίζονται σε αντλίες για τη παροχή των υγρών, αυτή η συσκευή περιλαμβάνει μια δεξαμενή ρυθμιζόμενης πίεσης που χρησιμοποιείται για τη κίνηση του διαλύματος διαμέσου ενός κλειστού ρευστού δικτύου, μέχρι να συμβεί ένεση κατά πλάτος των στρωμάτων του δέρματος. Επιπρόσθετα, ένα μετρητικό σύστημα ενσωματώνεται στα ρευστά συστατικά για να εξασφαλίσει ακριβή παροχή. Όπως οι 'Lab-on-a-Chip' συσκευές, έτσι και αυτή επιχειρεί να σχεδιάσει μικρορευστομηχανικά συστήματα για φαρμακευτική χορήγηση υψηλής ενσωμάτωσης.

5. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

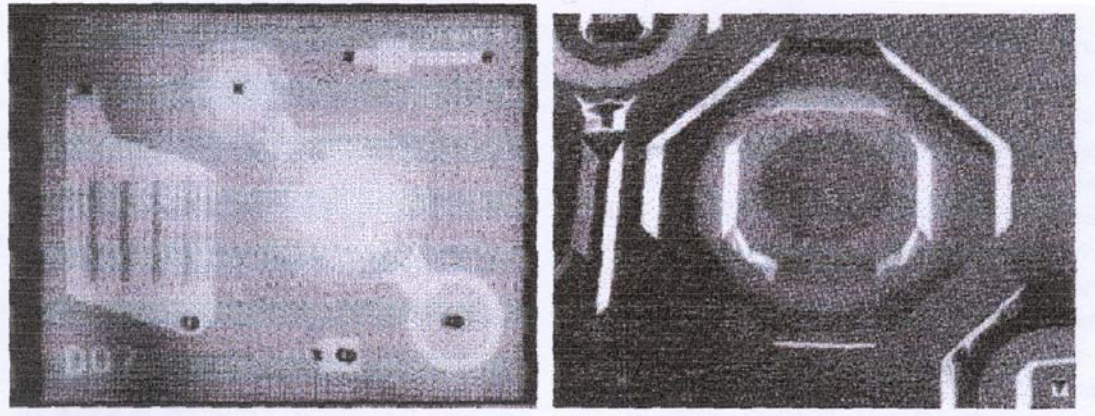
5.1 ΜΙΚΡΟΑΝΤΛΙΕΣ

Διεξάγεται μεγάλη έρευνα του πώς να δημιουργήσουν μικροαντλίες MEMS. Το περίπλοκο αυτών των συσκευών διευκρινίζουν εύστοχα τις πολλές φυσικές αρχές που μπορούν να κληθούν για τον έλεγχο των μικροσυσκευών. Για παράδειγμα, οι μικροαντλίες ελέγχου-βαλβίδων

βασίζονται στη χρησιμότητα του πιεζοηλεκτρικού υλικού, το οποίο διαμορφώνει έναν από τους τοίχους της κοιλότητας της αντλίας. Όταν εφαρμόζεται τάση, το υλικό διαστέλλεται, και κάμπτεται προς την εξωτερική επιφάνεια. Αυτό αυξάνει την δύναμη της κοιλότητας της αντλίας. Εάν η βαλβίδα εισόδου είναι ανοιχτή, η κοιλότητα θα ρουφήξει επιπρόσθετο υγρό ισάξιο της επιπλέον δύναμης της κοιλότητας (δύναμη της διαδρομής εμβόλου). Εάν η βαλβίδα εισόδου έπειτα κλειστεί, το επιπλέον υγρό θα εξαναγκαστεί να βγει έξω. Επαναλαμβάνοντας αυτή την διαδικασία σε μια υψηλή συχνότητα καταλήγουμε σε μια σχετικά ομαλή ροή διαμέσου της αντλίας.

Οι συσκευές θερμοπνευματικής αντλίας λειτουργούν με την ίδια αρχή, αλλά χρησιμοποιούν θερμότητα για να ελέγξουν την αλλαγή της δύναμης στην κοιλότητα. Σε αυτή την περίπτωση, μια μεμβράνη τοποθετείται μεταξύ της κοιλότητας της αντλίας και μιας δεύτερης κοιλότητας που είναι εντελώς σφραγισμένη. Όταν θερμαίνεται, ο αέρας στην δεύτερη κοιλότητα διαστέλλεται, αναγκάζοντας την μεμβράνη να καμφθεί μέσα στην πρώτη κοιλότητα και να σπρώξει έξω μια δύναμη υγρού ισάξια με την δύναμη της διαδρομής εμβόλου. Ελέγχοντας την ροή της θερμότητας διαμέσου της σφραγισμένης κοιλότητας η μικροαντλία μπορεί να ελεγχθεί εύκολα. Το πρωταρχικό μειονέκτημα αυτών των συσκευών είναι ότι η θερμική ενέργεια είναι σχετικά δύσκολο να ελεγχθεί. Πολλαπλές συσκευές MEMS συχνά συσκευάζονται πολύ στενά μαζί σε μια κάψα πυριτίου. Σε αυτές τις περιπτώσεις, μπορεί να είναι δύσκολο να κρατηθεί η θερμότητα περιορισμένη σε μια ξεχωριστή συσκευή, και άλλες συσκευές ίσως να ενεργοποιηθούν ενώ δεν σκοπεύεται.

Οι περιστροφικές αντλίες κάνουν χρήση των ηλεκτρομαγνητικών δυνάμεων για να παρέχουν την δύναμη της αντλίας. Όταν ένας μαγνήτης τοποθετείται σε ένα μαγνητικό πεδίο, το δικό του μαγνητικό πεδίο θα ευθυγραμμιστεί με το εξωτερικό πεδίο. Μια μικροτουρμπίνα που συνάπτεται σε ένα τέτοιο μαγνητικό εξάρτημα θα στραφεί εάν τοποθετηθεί σε ένα εναλλασσόμενο μαγνητικό πεδίο. Καθώς η τουρμπίνα θα στριφογυρίσει, τα πτερύγια της αναγκάζουν το υγρό να περάσει μέσα από τον αυλό με τον ίδιο τρόπο που ένας ανεμιστήρας φυσάει τον αέρα.



Εικόνα 11: Μικρομηχανική πυριτιούχα πιεζοηλεκτρική μικροαντλία. Αριστερά: φωτογραφία του τσιπ μικροαντλίας. Δεξιά: οπτική εικόνα SEM της μεμβράνης της μικροαντλίας.

Οι αντλίες MEMS είναι ένα παράδειγμα τυπικού προβλήματος με τις συσκευές αυτές: προϋποθέτουν κινούμενα μέρη, τα οποία είναι ιδιαίτερα ευάλωτα στο σπάσιμο. Σε πολλές περιπτώσεις, η ιδανική λύση είναι αυτή στην οποία δεν θα είναι απαραίτητα κινούμενα μέρη. Οι ηλεκτροδυναμικές αντλίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν με διηλεκτρικά υγρά, υγρά που δεν άγουν την ηλεκτρική ενέργεια. Από την στιγμή που είναι κακοί αγωγοί, αυτά τα υγρά μπορούν να κρατήσουν ηλεκτρικό φορτίο, το οποίο μπορεί να τα κινήσει αργά διαμέσου ενός διαύλου από ένα αντίθετο φορτίο που πάλλεται κατά μήκος του διαύλου. Αυτό οφείλεται στην ηλεκτρομαγνητική δύναμη που δημιουργείται μεταξύ αντίθετων ηλεκτρικών φορτίων.

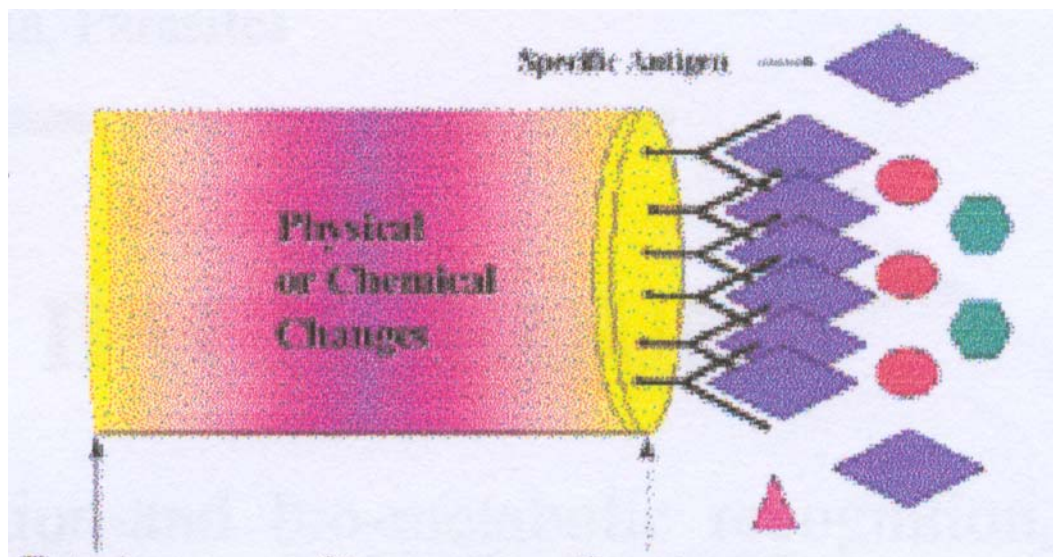
Στις αντλίες σταδιακής μεταφοράς, οι θερμαντήρες προκαλούν την μετατροπή του υγρού σε αέριο. Το υγρό διαστέλλεται καθώς μετατρέπεται σε αέριο, σπρώχνοντας το υγρό προς το αέριο. Αντλίες χωρίς κινούμενα μέρη δεν υπάρχουν στο μακροσκοπικό κόσμο γιατί οι φυσικές αρχές που περιπλέκονται είναι σημαντικά πιο αποδοτικές στο μικροσκοπικό κόσμο. Για παράδειγμα, είναι εύκολο να δημιουργηθεί ένα αέριο σε ένα μικρό δίαυλο, αλλά η θέρμανση ενός μεγάλου διαύλου θα εξατμίσει το υγρό μόνο στα εξωτερικά άκρα. Σαν τέτοιες αυτές οι αντλίες συνήθως λειτουργούν σε διαύλους της τάξης των 100 μικρά σε μέγεθος.

Οι αντλίες χωρίς κινούμενα μέρη εμφανίζουν το πλεονέκτημα και την δυσκολία του να δουλεύεις σε μικροσκοπική κλίμακα: μπορούν να χρησιμοποιηθούν μέθοδοι ενεργοποίησης που δεν είναι διαθέσιμες στον μακροσκοπικό κόσμο, αλλά η εξακρίβωση τους απαιτεί μεγάλη κατανόηση της φυσικής- δεν είναι τόσο ενορατικές όσο μπορούν να είναι οι σχεδιασμοί στον μακροσκοπικό κόσμο.

5.2 ΒΙΟΑΙΣΘΗΤΗΡΕΣ

5.2.1 Εισαγωγή

Οι βιοαισθητήρες είναι χημικοί ανιχνευτές που εκμεταλλεύονται την υψηλή επιλεκτικότητα και ευαισθησία των βιολογικά ενεργών υλικών. Πιο συγκεκριμένα, ένας βιοαισθητήρας είναι ένα αναλυτικό εργαλείο που αποτελείται από βιολογικά ενεργό υλικό και χρησιμοποιείται σε στενό συνδυασμό με μια συσκευή που θα μετατρέψει ένα βιοχημικό σήμα σε ένα ποσοτικό ηλεκτρικό σήμα. Οι βιοαισθητήρες έχουν πολλά πλεονεκτήματα, όπως η απλή και χαμηλού κόστους εγκατάσταση, οι γρήγορες ανταπόκρισης χρόνοι, η προεπεξεργασία ελάχιστου δείγματος και η υψηλή απόδοση δείγματος. Αν και οι βιοαισθητήρες αρχίζουν να κινούνται προς το πεδίο έρευνας και εμπορευματοποίησης στις ΗΠΑ, στην Ευρώπη και Ιαπωνία, σχετικά λίγοι έχουν εμπορευματοποιηθεί. Αυξημένη έρευνα σε αυτή την περιοχή απαιτεί την ανάπτυξη καινούργιων υλικών, νέων και καλύτερων τεχνικών, και νέων και πιο ανεπτυγμένων βιοαισθητήρων. Μερικές από τις πιθανές εφαρμογές των βιοαισθητήρων περιλαμβάνουν την κλινική διάγνωση και τις βιοϊατρικές εφαρμογές.



Εικόνα 12: Σχηματικό διάγραμμα μιας συσκευής βιοαισθητήρα.

Ένας βιοαισθητήρας έχει δύο συστατικά: έναν υποδοχέα και έναν ανιχνευτή. Ο υποδοχέας είναι υπεύθυνος για την επιλεκτικότητα του αισθητήρα. Παραδείγματα περιλαμβάνουν ένζυμα, αντισώματα, και στρώματα λιπιδίων. Ο ανιχνευτής δεν είναι επιλεκτικός. Για παράδειγμα, μπορεί να είναι ένα ηλεκτρόδιο του pH, ένα ηλεκτρόδιο οξυγόνου ή ένας πιεζοηλεκτρικός κρύσταλλος. Η εικόνα 1 περιγράφει μια τυπική

διάταξη βιοαισθητήρα που επιτρέπει την μέτρηση του επιδιωκόμενου αναλυτή χωρίς να χρησιμοποιεί αντιδραστήρια.

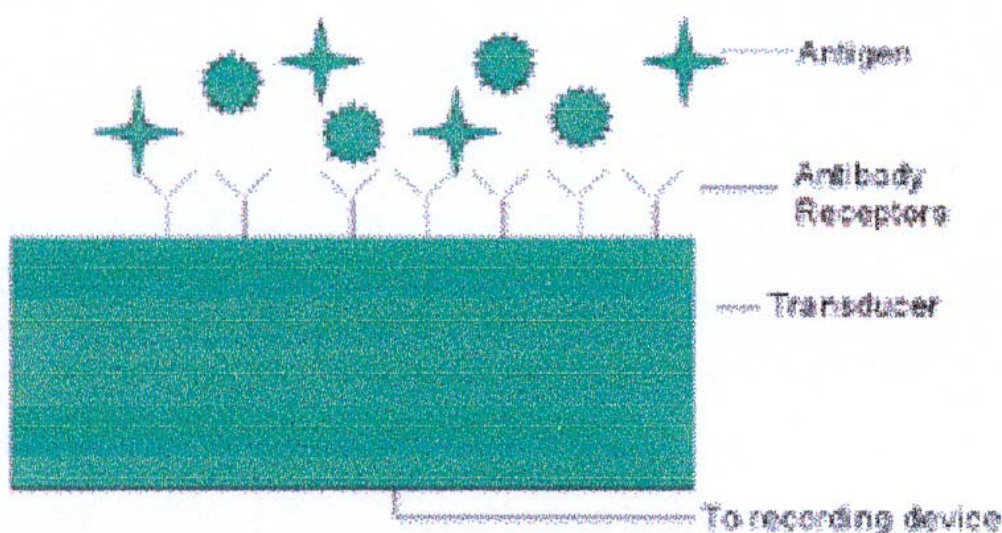
Η συσκευή ενσωματώνει ένα στοιχείο βιολογικής αισθαντικότητας με ένα παραδοσιακό μορφομετατροπέα. Το στοιχείο αυτό αναγνωρίζει επιλεκτικά ένα συγκεκριμένο βιολογικό μόριο διαμέσου μιας αντίδρασης, ειδικής προσρόφησης, ή άλλης φυσικής ή χημικής διαδικασίας, και ο μορφομετατροπέας μετατρέπει το αποτέλεσμα αυτής της αναγνώρισης σε ένα χρήσιμο σήμα, το οποίο μπορεί να προσδιοριστεί ποσοτικά. Τα συνηθισμένα συστήματα μορφομετατροπής είναι οπτικά, ηλεκτρο-οπτικά, ή ηλεκτροχημικά: αυτή η ποικιλία προσφέρει πολλές ευκαιρίες προσαρμογής των βιοαισθητήρων για ειδικές εφαρμογές. Για παράδειγμα, η συγκέντρωση της γλυκόζης σε ένα δείγμα αίματος μπορεί να μετρηθεί αμέσως από έναν βιοαισθητήρα (ο οποίος είναι ειδικά φτιαγμένος για την μέτρηση της γλυκόζης) απλά βυθίζοντας τον αισθητήρα μέσα στο δείγμα.

5.2.2 Πιεζοηλεκτρικοί Βιοαισθητήρες: Ιστορικό

Υπάρχουν δύο κατηγορίες διαφορετικών μεθόδων ανίχνευσης: η βίο-ελκτική αναγνώριση και η βίο-μεταβολική αναγνώριση. Και οι δύο διαδικασίες προϋποθέτουν την δέσμευση ενός χημικού είδους με ένα άλλο, το οποίο έχει μια συμπληρωματική δομή. Αυτό αναφέρεται σαν ειδικής μορφής δέσμευση. Στη βίο-ελκτική αναγνώριση, η δέσμευση είναι πολύ ισχυρή, και ο μορφομετατροπέας ανιχνεύει την παρουσία του φραγμού του ζεύγους υποδοχέα-αναλυτή. Τα πιο συνηθισμένα είδη μεθόδων είναι η δέσμευση υποδοχέα-συνδέτη (ένα οργανικό μόριο το οποίο χορηγεί τα απαραίτητα ηλεκτρόνια για να σχηματιστούν ομοιοπολικοί δεσμοί με μεταλλικά ιόντα) και η δέσμευση αντισώματος-αντιγόνου. Στην βίο-μεταβολική αναγνώριση, ο αναλυτής και άλλες ουσίες που μετέχουν σε χημικές αντιδράσεις μεταβάλλονται χημικά για να σχηματίσουν παράγωγα μόρια. Τα βιολογικά που μπορούν να αναγνωριστούν από τα στοιχεία βίο-αναγνώρισης ποικίλουν τόσο όσο και οι διαφορετικές αντιδράσεις που συμβαίνουν στα βιολογικά συστήματα. Ο πίνακας 1 απαριθμεί έναν αριθμό από συνηθισμένους αναλυτές που θα μπορούσαν να αποδειχτούν θελκτικοί για την ανάπτυξη βιοαισθητήρων κατάλληλης ιδιαιτερότητας και ευαισθησίας. Σχεδόν όλοι οι τύποι βιολογικών αντιδράσεων, (χημικές ή ελκτικές), μπορούν να εκμεταλλευτούν για τους βιοαισθητήρες. Η έννοια της ειδικής διαμόρφωσης αναγνώρισης χρησιμοποιείται συνήθως για να διευκρινίσει την υψηλή ευαισθησία και επιλεκτικότητα των βιολογικών μορίων, ειδικά τα συστήματα αντιγόνου-αντισώματος. Το μόριο του αναλυτή έχει

συμπληρωματική δομή προς το αντίσωμα, και το ζεύγος που προκύπτει είναι σε χαμηλότερη ενεργειακή κατάσταση από ότι είναι τα δύο χωριστά μόρια. Αυτή η ένωση είναι πολύ δύσκολο να σπάσει. Ο πίνακας 2 συνοψίζει μια σειρά συνδυασμών βιοσυστημάτων και μορφομετατροπών σε σχέση με τον μορφομετατροπέα, την μέθοδο μέτρησης και την ενδεχόμενη εφαρμογή.

Η αλληλεπίδραση των αντισωμάτων με τα αντίστοιχα αντιγόνα είναι ένας θελκτικός λόγος για την απόπειρα της ανάπτυξης χημικών βιοαισθητήρων βασισμένων στα αντισώματα, πχ. ανοσοανιχνευτές. Θεωρητικά, εάν ένα αντίσωμα μπορεί να ανυψωθεί απέναντι σε έναν συγκεκριμένο αναλυτή, ένας ανοσοανιχνευτής θα μπορούσε να αναπτυχθεί για να το αναγνωρίσει. Παρά την υψηλή ιδιαιτερότητα και συνάφεια των αντισωμάτων προς τα συμπληρωματικά μόρια συνδέτες, οι περισσότερες αλληλεπιδράσεις αντισωμάτων-αντιγόνων δεν προκαλούν μια



Εικόνα 13: Σχηματικό διάγραμμα μιας συσκευής ανοσοαισθητήρα.

ηλεκτρονικά μετρήσιμη αλλαγή. Εντούτοις, η αξιοσημείωτη επιλεκτικότητα των αντιγόνων έχει τροφοδοτήσει πολύ έρευνα για να αντιμετωπίσει αυτό το πρόβλημα. Το πιεζοηλεκτρικό φαινόμενο σε ποικίλες κρυσταλλικές ουσίες είναι μια χρήσιμη ιδιότητα που οδηγεί στην ανίχνευση των αναλυτών. Η εικόνα 13 δείχνει ένα σχηματικό **διάγραμμα μιας συσκευής ανοσοανιχνευτή.**

Ο πιεζοηλεκτρικός ανοσοανιχνευτής θεωρείται ένα από τα πιο ευαίσθητα αναλυτικά όργανα που έχουν αναπτυχθεί μέχρι σήμερα, και ο οποίος είναι ικανός να ανιχνεύει

αντιγόνα στη κλίμακα των πικογραμμαρίων (10^{-12} γραμμάρια). Επιπλέον, αυτός ο τύπος συσκευής πιστεύεται ότι έχει την δυνατότητα να ανιχνεύει αντιγόνα στην αέρια φάση όπως επίσης και στην υγρή.

Σχεδόν όλες οι επίκαιρες μέθοδοι της διάγνωσης της φυματίωσης (TB) έχουν μειονεκτήματα. Τείνουν να είναι είτε μη ακριβείς είτε πολύ χρόνο-καταναλωτικές. Στις περισσότερες περιπτώσεις πνευμονικής και εξωπνευμονικής TB, η διάγνωση εξαρτάται από την καλλιέργεια του μυκοβακτηριακού οργανισμού, σε διαδικασία που απαιτεί 4-8 εβδομάδες. Σημαντική προσοχή έχει αφιερωθεί στην ανάπτυξη περισσότερο γρήγορων διαγνωστικών μεθόδων για την TB, αλλά μερικές από αυτές δεν έχουν την υψηλή ιδιαιτερότητα ή ευαισθησία που απαιτείται για την κατάλληλη διάγνωση.

Ένας πιεζοηλεκτρικός ανιχνευτής που θα μπορούσε να ανιχνεύσει αξιόπιστα το αντιγόνο του μυκοβακτηρίου σε βιολογικά υγρά θα ήταν τεράστιας χρησιμότητας. Για παράδειγμα, η ανίχνευση του αντιγόνου στα πτύελα θα αποτελούσε μια μη επεμβατική μέθοδος προβολής στην οθόνη των υψηλού κινδύνου πληθυσμών. Ένας δοκιμασμένος ανιχνευτής πιεζοηλεκτρικού κρυστάλλου δίνει αποτελέσματα μέσα σε κανα-δυό ώρες μετά την έκθεση του ηλεκτροδίου σε ένα υγρό που περιέχει το αντιγόνο. Η διάταξη θα είναι εντελώς φορητή, έτσι ώστε τα ανοσολογικά τεστ να εκτελούνται στην πραγματικότητα παντού, και τα αποτελέσματα να μπορούν να ληφθούν πολύ γρήγορα. Το εφικτό της χρήσης πιεζοηλεκτρικών ανοσοανιχνευτών για την διάγνωση της TB που βασίζεται στην ανίχνευση των μυκοβακτηριδιακών αντιγόνων στα υγρά εξαρτάται από το βαθμό της ευαισθησίας και της ιδιαιτερότητας που μπορεί να επιτευχθεί, και αφού αντιμετωπίσει οποιαδήποτε προβλήματα που προκαλούνται από ουσίες που πιθανά παρεμβάλλονται στα βιολογικά υγρά. Η επίτευξη της ανίχνευσης της αέριας φάσης των αντιγόνων εξαρτάται από τους ίδιους παράγοντες, καθώς και από οποιοσδήποτε δυσκολίες που μπορούν να είναι μοναδικές στη σύλληψη της αέριας φάσης των αντιγόνων από τα αντισώματα.

5.2.3 Τύποι Βιοαισθητήρων

5.2.3.1 Ιατρικοί Τηλε-Αισθητήρες

Ένα τσιπάκι στο ακροδάχτυλο μας μπορεί κάποια μέρα να μετρά και να μεταδίδει δεδομένα για την θερμοκρασία του σώματος μας. Μια σειρά από τσιπάκια προσκολλημένα στο σώμα μας είναι πιθανό να παρέχουν επιπλέον πληροφορίες για την πίεση του αίματος, το επίπεδο οξυγόνου, και τον ρυθμό παλμών. Αυτός ο τύπος ιατρικού



τηλε-αισθητήρα θα αναφέρει μετρήσεις ζωτικών λειτουργιών σε απομακρυσμένα μηχανήματα εγγραφής. Ο στόχος είναι να αναπτυχθεί μια σειρά από τσιπ που ομαδικά θα παρακολουθούν τις λειτουργίες του σώματος.

Εικόνα 14: Αυτός ο 'ιατρικός τηλε-αισθητήρας' πάνω στο δάχτυλο μπορεί να μετρήσει και να μεταδώσει τη θερμοκρασία του σώματος.

Ασύρματες συσκευές καταγραφής προσκολλημένες στο σώμα θα μπορούσαν να παρέχουν πολύτιμη πληροφορία για την φυσιολογική κατάσταση ασθενών εντατικής φροντίδας στα νοσοκομεία, για υψηλού κινδύνου εξωτερικούς ασθενείς, για βρέφη που κινδυνεύουν από το σύνδρομο του ξαφνικού βρεφικού θανάτου, και για το αστυνομικό και πυροσβεστικό προσωπικό σε επικίνδυνες καταστάσεις.

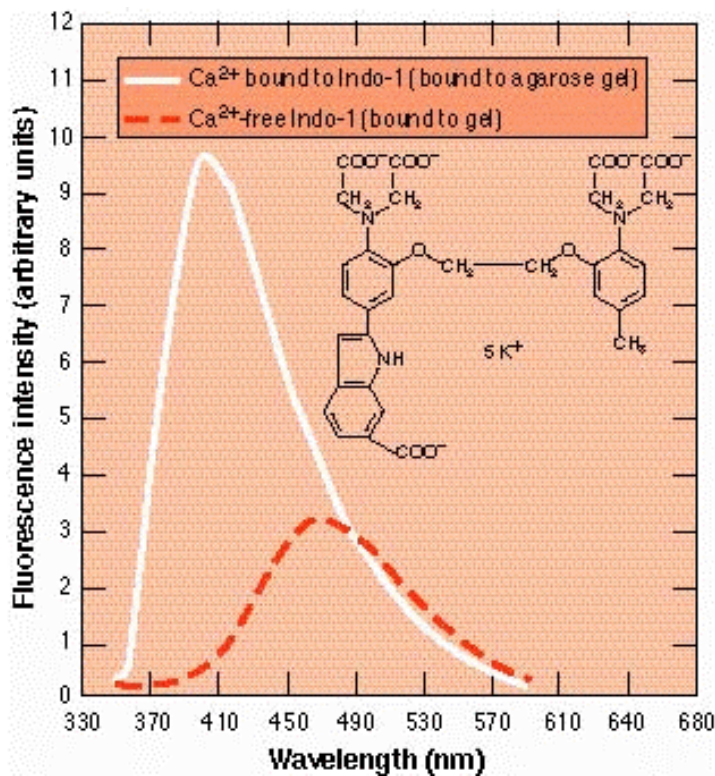
Το τσιπ της παραπάνω φωτογραφίας περιέχει έναν ανιχνευτή θερμοκρασίας σε ένα ολοκληρωμένο κύκλωμα, μια μπαταρία λιθίου στο πάχος ενός φιλμ που προμηθεύει το ελάχιστο επίπεδο ενέργειας που απαιτείται από το κύκλωμα και τα ηλεκτρονικά επεξεργασίας και μετάδοσης του σήματος, και μια κεραία που στέλνει τα δεδομένα με ραδιοσήματα (μετάδοση ραδιοσυχνότητας) σε μια διάταξη καταγραφής όταν το τσιπ ενεργοποιείται. Αυτός ο αισθητήρας συνηθίζεται να λέγεται "ιατρικός τηλε-αισθητήρας ASIC" επειδή χρησιμοποιεί ένα ειδικό ολοκληρωμένο κύκλωμα για τηλεμετρική-αυτόματη μέτρηση και μετάδοση των δεδομένων από απομακρυσμένες πηγές σε αποδέκτες για καταγραφή και ανάλυση.

Αναμένεται επίσης ότι μπορεί να αναπτυχθεί ένα τσιπ που θα μετράει τα επίπεδα οξυγόνου στο αίμα. Καθώς το επίπεδο οξυγόνου στο αίμα μεταβάλλεται, μεταβάλλεται και το χρώμα της αιμοσφαιρίνης στο αίμα. Ένα τέτοιο τσιπ θα έχει μια πηγή φωτός και ένα ανιχνευτή φωτός που θα μπορούσε να μετρήσει αλλαγές στο χρώμα της αιμοσφαιρίνης που μεταδίδεται όταν φωτίζεται από το φως. Τα αποτελέσματα εκθέτονται από ασύρματη τηλεμετρία.

Η πίεση του αίματος και ο ρυθμός των παλμών μπορούν να μετρηθούν από τσιπς που είναι σχεδιασμένα να ανιχνεύουν αλλαγές της πίεσης. Οι επιστήμονες ήδη δουλεύουν με οπτικές ίνες κατασκευασμένες από σιλικόνη για να εκμεταλλευτούν τις μοναδικές ιδιότητες αυτής της ουσίας. Σε αντίθεση με υάλινες ίνες, μια ίνα από σιλικόνη είναι

εύκαμπτη- μπορεί να συμπιεστεί ή να τεντωθεί, και το ποσό της συμπίεσης ή της διαστολής μπορεί να μετρηθεί από αλλαγές στη μετάδοση του φωτός διαμέσου της ίνας. Εάν μια ίνα σιλικόνης σε ένα τσιπ μπορεί να αισθανθεί την πίεση σε διάφορες θέσεις στο σώμα, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για παρακολούθηση της πίεσης του αίματος, του παλμικού ρυθμού, της αναπνοής (διαστολή του στήθους), της κάμψης του γονάτου κατά την διάρκεια της φυσικής αποκατάστασης, και της διανομής της πίεσης του ποδιού.

Καθώς μεγαλώνουμε, ασθένειες όπως ο διαβήτης και το αλτσχάιμερ, και διάφοροι χημικοί συντελεστές προκαλούν μεταβολές στις συγκεντρώσεις των μεταλλικών ιόντων στο σώμα. Εάν αυτές οι αλλαγές μπορούσαν να ανιχνευτούν και να μετρηθούν, οι



πληροφορίες θα παρείχαν ενδείξεις για μεταβολές σε καταστάσεις ασθένειας και για έκθεση σε τοξίνες.

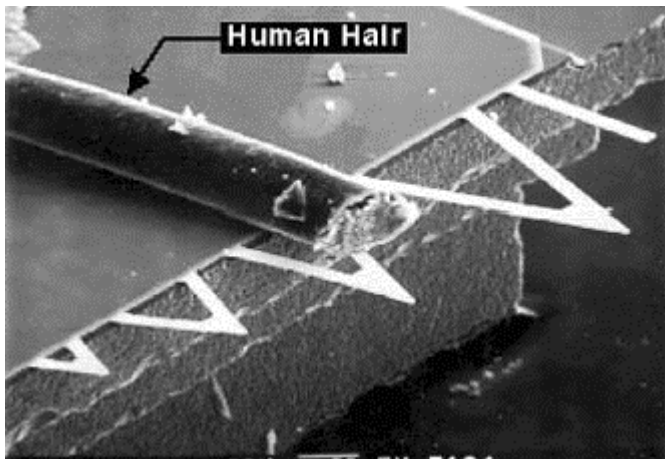
Εικόνα 15: Έχει αναπτυχθεί ένας ανιχνευτής ευαισθησίας για την παρακολούθηση των αλλαγών στις συγκεντρώσεις ιόντων ασβεστίου στο σώμα. Μπορεί να είναι χρήσιμο στη διάγνωση ασθενειών ή στην έκθεση χημικών παραγόντων. Αυτός ο βιοαισθητήρας αποτελείται από μια οπτική ίνα στην οποία επισυνάπτεται ένα σύνθετο υβριδικό μόριο. Το ένα μισό του υβριδικού μορίου δεσμεύει τα ιόντα ασβεστίου και το άλλο μισό φθορίζει όταν τα ιόντα ασβεστίου δεσμεύονται στο μόριο.

Έτσι έχει αναπτυχθεί ένας βιοαισθητήρας χρησιμοποιώντας μια υάλινη οπτική ίνα και ένα μόριο που έχει συντεθεί υβριδικά. Το ένα μισό του υβριδικού μορίου δεσμεύει τα ιόντα ασβεστίου και το άλλο μισό φθορίζει όταν ιόντα ασβεστίου δεσμεύονται στο μόριο. Όταν προσκολληθεί αυτό το μόριο στο άκρο μιας οπτικής ίνας πολύ μικρής διαμέτρου, μετριέται η συγκέντρωση των ιόντων ασβεστίου στο διάλυμα.

5.2.3.2 Μικροπρόβολοι

Μια ενδιαφέρουσα εναλλακτική πρόταση στην οπτική ίνα είναι ο μικροπρόβολος, ο οποίος μετράει την παρουσία ουσιών με μη οπτικές μεθόδους. Μπορεί να δράσει σαν ένας φυσικός, χημικός ή βιολογικός αισθητήρας ανιχνεύοντας αλλαγές στην κάμψη ή στη παλμική συχνότητα του προβόλου.

Οι μικροπρόβολοι είναι εκατομμύρια φορές μικρότεροι αλλά τα μόρια που προσροφούνται σε αυτούς προκαλούν αλλαγές της παλμικής συχνότητας. Το ιξώδες, η πυκνότητα, και ο ρυθμός ροής μπορούν επίσης να μετρηθούν ανιχνεύοντας τις αλλαγές στην παλμική συχνότητα. Άλλος τρόπος ανίχνευσης της προσρόφησης των μορίων είναι μετρώντας την συστροφή του προβόλου που οφείλεται στη προσρόφηση της έντασης στη μια άκρη του προβόλου. Εξαρτώμενη από τη φύση του χημικού δεσμού του μορίου, η συστροφή μπορεί να είναι προς τα πάνω ή προς τα κάτω. Για παράδειγμα, εάν ο μικροπρόβολος είναι διμεταλλικός, ακριβώς όπως ο θερμοστάτης στο σπίτι αλλά ένα



εκατομμύριο φορές μικρότερος, μπορεί να μετρηθεί μια αλλαγή θερμοκρασίας τόσο μικρή όσο ένα εκατομμυριοστό του βαθμού.

Εικόνα 16: Σχήμα ενός αισθητήρα μικροπρόβολου, οποίος μπορεί να προσαρμοστεί για την ανίχνευση φυσικής, χημικής, ή βιολογικής δραστηριότητας.

Ο μικροπρόβολος είναι συνήθως κατασκευασμένος από ένα φύλλο πυριτίου μήκους 100 μικρόμετρα (mm), πλάτους 30 mm και πάχους 3 με 4 mm (αυτές οι διαστάσεις είναι χονδρικές). Όταν προσθέτονται μόρια στην επιφάνεια του, ο βαθμός στον οποίο λυγίζει το φύλλο μπορεί να μετρηθεί ακριβώς προκαλώντας αναπήδηση μιας φωτεινής ακτίνας στην επιφάνεια και μετρώντας το βαθμό στον οποίο εκτρέπεται η φωτεινή ακτίνα. Η παλμική συχνότητα μπορεί να προκληθεί από πιεζοηλεκτρικούς μορφομετατροπείς και να μετρηθεί με την ίδια φωτεινή ακτίνα που μέτρησε την εκτροπή γιατί παράγει ένα εναλλασσόμενο ρεύμα στον ανιχνευτή.

Η θερμοκρασία μετριέται επιστρώνοντας την επιφάνεια του πυριτίου με χρυσό ή αλουμίνιο, τα οποία διαστέλλονται σε διαφορετικό ποσοστό από ότι το πυρίτιο. Επειδή η διαφορά στη θερμική διαστολή μεταξύ του πυριτίου και του χρυσού επηρεάζει την

κάμψη του μικροπρόβολου, μπορούν να μετρηθούν αλλαγές θερμοκρασίας ενός εκατομμυριοστού του βαθμού. Οι χημικές αντιδράσεις παράγουν θερμότητα, έτσι αυτή η συσκευή μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν μικροθερμιδόμετρο (όργανο μέτρησης της ειδικής θερμότητας των στερεών) για να μετρήσει την θερμότητα μιας ένζυμο-καταλυτικής αντίδρασης ή μιας χημικής αντίδρασης σε δύναμη αντίδρασης του ενός μικρολίτρου (1μl).

Ακόμα ένας άλλος μηχανισμός απόκρισης χρησιμοποιήθηκε για την μέτρηση πρωτεϊνών σε ένα διάλυμα. Αντισώματα προσκολλήθηκαν ισοσθενώς στην επιφάνεια πυριτίου ενός προβόλου με τέτοιο τρόπο που οι ισχύες που προκλήθηκαν στο αντίσωμα όταν αντέδρασε με το αντιγόνο του ανιχνεύθηκαν. Η ανίχνευση των βιολογικών παραγόντων ή βακτηρίων και ιών στο νοσοκομειακό εργαστήριο θα πρέπει να επιταχυνθεί με αυτή την τεχνική. Επιπρόσθετα πειράματα είναι σε εξέλιξη για να αποδείξουν την χρησιμότητα του μικροπροβόλου ως βιοαισθητήρα. Εξαιτίας του μικρού μεγέθους και της προσαρμοστικότητας του μικροπροβόλου, μπορούν κατασκευαστούν σειρές αισθητήρων μόνο σε ένα τσιπ για να μιμηθούν νοητικά τις πέντε αισθήσεις: όραση ακοή, όσφρηση, γεύση και αφή.

5.2.3.3 Βιοαισθητήρας Για Την Ανίχνευση Καρκίνου Και Άλλων Ανωμαλιών

Ένας άλλος τύπος βιοαισθητήρα χρησιμοποιεί εξελιγμένη τεχνολογία για την ανίχνευση ενός ιδιαίτερου γνωρίσματος μιας ανωμαλίας σε έναν ζωντανό οργανισμό. Από αυτούς τους βιοαισθητήρες, ο περισσότερο διαφημισμένος είναι ο αισθητήρας οπτικής βιοψίας. Αυτός ο αισθητήρας μπορεί να πει εάν ένας όγκος στον οισοφάγο είναι καρκινογόνος ή καλοήθης. Στο παρελθόν, ο ακριβής καθορισμός του εάν ένας ασθενής έχει καρκίνο του οισοφάγου απαιτούσε χειρουργική βιοψία. Εντούτοις, η βασισμένη σε laser μέθοδος φθορισμού έχει εξαλείψει την ανάγκη για βιοψία, μειώνοντας τον πόνο και τον χρόνο ανάρρωσης των ασθενών.

Λειτουργεί ως εξής: Φως laser του κατάλληλου μήκους κύματος εστιάζεται στην εσωτερική στοιβάδα του οισοφάγου μέσω μιας συσκευής οπτικών ινών που καταπίνεται από τον ασθενή. Τα επιθηλιακά κύτταρα και ιστός μέσα στον οισοφάγο φθορίζουν όταν διεγείρονται από το φως του laser. Όταν το εσωτερικό του οισοφάγου φωτίζεται με μπλε φως [410 νανόμετρα (nm)], ο φυσιολογικός ιστός εκπέμπει φως σε διαφορετικά μήκη κύματος από αυτά που εκπέμπονται από τα καρκινικά κύτταρα. Οι φασματικές ιδιότητες

του φωτός σε μήκη κύματος που κυμαίνονται από 400 σε 700 nm μπορούν να αναλυθούν σε διάφορες θέσεις στον οισοφάγο. Εκπομπές από φυσιολογικά και καρκινικά κύτταρα μπορούν να αναγνωριστούν με αρκετή ακρίβεια. Δοκιμές σε περισσότερους από 200 ασθενείς δείχνουν ότι, συγκρινόμενα με τα αποτελέσματα των χειρουργικών βιοψιών, η διάγνωση με φθορισμό laser είναι ακριβή στο 98% των περιπτώσεων.

Άλλος ένας βιοαισθητήρας παρέχει ένα τρόπο παρακολούθησης της κατάστασης του διαβήτη χωρίς να χρησιμοποιεί δείγματα αίματος. Σε αυτή την περίπτωση, χρησιμοποιείται φως για τον φωτισμό του βολβού του οφθαλμού και την διέγερση ορισμένων ουσιών, περιλαμβάνοντας πρωτεΐνες, για να εκπέμψουν φως που φθορίζει. Αυτός ο φθορισμός αλλάζει στην ένταση και στο μήκος κύματος όταν αλλάζουν η διανομή και κατάσταση των πρωτεϊνών στο μάτι. Αυτή η όντως μη επεμβατική μέθοδος εξαρτάται από μια σχετικά νέα εφεύρεση για την επιλογή του μήκους κύματος του φωτός για φωτισμό. Αντί για πρίσματα ή πλέγματα για την διάθλαση του φωτός σε διαφορετικά μήκη κύματος, χρησιμοποιείται μια συσκευή που λέγεται ακουστο-οπτικό τονικό φίλτρο (AOTF). Μια AOTF επιλέγει το μήκος κύματος του φωτός για να φωτίσει το βολβό του οφθαλμού και ένα άλλο επιλέγει το μήκος κύματος του φωτός φθορισμού που εκπέμπεται από τον οφθαλμό. Και τα δύο AOTF μήκη κύματος ανιχνεύονται ταυτόχρονα χρησιμοποιώντας την τεχνική σύγχρονης φωτοβολίας που αναπτύχθηκε κατά το παρελθόν για περιβαλλοντολογικό έλεγχο. Οι AOTFs, οι οποίες χειρίζονται με ένα σήμα ραδιο-συχνότητας, μπορούν να σαρώσουν ολόκληρο το ορατό φάσμα και τμήματα του υπεριώδους και του υπέρυθρου φάσματος σε μιλιδευτερόλεπτα για να επιλέξουν τα κατάλληλα μήκη κύματος που χρησιμοποιούν για να φωτίσουν τον οφθαλμό. Μπορούν επίσης να επιλέξουν το σωστό μήκος κύματος που χρησιμοποιούν για να διαβάσουν το σήμα φθορισμού από τον οφθαλμό του ασθενή στιγμιαία. Με αυτό τον τρόπο μπορούν να παρθούν πολλές σαρώσεις του φάσματος και να εξαχθεί ο μέσος όρος τους σε έναν υπολογιστή για να αποκτήσουμε την ακρίβεια που απαιτείται για την μέτρηση της κατάστασης και των αλλαγών των πρωτεϊνών του οφθαλμού των διαβητικών. Είναι υπό έρευνα επίσης, τρόποι για να τεθούν σε εφαρμογή τεχνικές για την ανίχνευση καρκίνων του δέρματος, του τράχηλου και του εντέρου.

5.2.3.4 Αισθητήρας Ως Ηλεκτρονική Μύτη

Λίγα είναι γνωστά σχετικά με το πώς λειτουργεί η αίσθηση της όσφρησης. Σκεφτόμενοι αυτό το πρόβλημα οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι, σε αντίθεση με τις περισσότερες βιοχημικές ενζυμικές αντιδράσεις, οι οποίες βασίζονται σε

ένα μηχανισμό ‘κλειδαριάς-κλειδιού’, η όσφρηση πρέπει να εμπεριέχει μια διαδικασία αναγνώρισης εκτεταμένου τύπου για να δοκιμάζει τις αναρίθμητες οσμές με τις οποίες η μύτη μας βομβαρδίζεται καθημερινά. Εάν η φύση είχε αναπτύξει ειδικούς όσφρητικούς υποδοχείς για κάθε οσμή, οι σκύλοι δεν θα εκπαιδευόνταν να ανακαλύπτουν με την όσφρηση κοκαΐνη ή εκρηκτικά σε σύντομη μόνο χρονική περίοδο. Η πρόκληση ήταν να εφευρεθεί η χημεία και ο τύπος αναγνώρισης λογισμικού/ ηλεκτρομηχανολογικού μέρους που χρειάζεται για τη παραγωγή ενός πολύ ανέξοδου τσιπ αναγνώρισης των οσμών.

Η ιδέα που συνέλαβαν οι ερευνητές είναι η κατασκευή ενός τσιπ ‘ηλεκτρονικής μύτης’ από εν μέρει προιονισμένες αντιστάσεις που μπορούν να ανιχνεύσουν διαφορές μεταξύ ποικίλων οσμών. Έτσι χρησιμοποίησαν μια ποικιλία αγώγιμων πολυμερών που αντιδρούν σε μόρια οσμών για να δημιουργήσουν τη μύτη και τότε ‘εκπαίδευσαν’ έναν αλγόριθμο νευρικού δικτύου να αναγνωρίζει διαφορές σε τύπους που δημιουργούνται από οσμές. Τέτοιες μύτες θα εξυπηρετούν σαν αισθητήρες και αρωματικοί κριτές σε τόσες πολλές καταστάσεις που οι εκτεταμένες τους εφαρμογές ίσως μια μέρα να ανταγωνιστούν αυτές ενός τσιπ υπολογιστή. Στα χρόνια μας κατασκευάζονται τέτοια τσιπ τα οποία θα ενσωματωθούν σε συστήματα υποστήριξης ζωής διαστημικών σταθμών για να ‘μυρίζονται’ ‘όταν κάτι δεν πάει καλά. Επίσης πολλά εργαστήρια εθνικής άμυνας δοκιμάζουν το εν λόγω τσιπ για χρήση σε αμυντικά συστήματα, όπως είναι η ανίχνευση εκρηκτικών.

Οι ερευνητές προβλέπουν ότι αυτοί οι ηλεκτρονικοί αισθητήρες θα χρησιμοποιηθούν για πολλούς σκοπούς στη βιομηχανία. Για παράδειγμα, οι κατασκευαστές αυτοκινήτων ίσως χρησιμοποιήσουν το τσιπ για να εξασφαλίσουν ότι το δέρμα στα αυτοκίνητα τους μυρίζει το ίδιο σε όλα. Οι κατασκευαστές τυριών ή αρωμάτων ίσως χρησιμοποιήσουν την τεχνολογία για την διασφάλιση μιας σταθερής οσμής. Το τσιπ θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την προειδοποίηση διαρροής υγρών των φρένων, ανιχνεύοντας αλλαγές στη μυρωδιά των υγρών. Προβλέπεται επίσης πολλές μελλοντικές ιατρικές χρήσεις επίσης, περιλαμβάνοντας ανίχνευση ασθενειών μέσω της ανάλυσης της αναπνοής.

5.2.3.5 Μικροσκοπικές Συσκευές

Άλλος ένας τύπος βιοαισθητήρα χρησιμοποιεί διάφορες τεχνικές για να μετατρέψει ένα βιολογικό σύστημα σε μια μικροσκοπική ηλεκτρονική συσκευή, για την ανάλυση βιολογικών ή φυσιολογικών διαδικασιών, ή για την ανίχνευση και αναγνώριση

βακτηρίων. Μερικές από αυτές τις τεχνικές παράγουν ή διεξάγονται από μικροσκοπικές συσκευές.

Η θέση για φωτοσύνθεση σε ένα πράσινο φύλλο περιέχει ένα περίπλοκο συγκρότημα ενζύμων και πρωτεϊνών που συλλαμβάνουν την ενέργεια του φωτός και μετατρέπουν το διοξείδιο του άνθρακα σε ενώσεις που βοηθούν το φυτό να μεγαλώσει. Εάν ένα άλας λευκόχρυσου σε μια ορισμένη κατάσταση οξειδωσης χορηγηθεί σε ένα από δύο φωτοσυνθετικά συστήματα στους φυτικούς χλωροπλάστες, το ένα φωτοσυνθετικό σύστημα θα χρησιμοποιήσει φωτεινή ενέργεια για να παρέχει ηλεκτρόνια που θα ανάγει το λευκόχρυσο σε μεταλλική μορφή. Το μέταλλο εναποθέτεται στο συγκρότημα ενζύμων για να σχηματίσει ένα μικροσκοπικό κέντρο που μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε εξελιγμένα βασισμένα σε διόδους μικροηλεκτρονικά για μετρήσεις σε εξαιρετικά υψηλή ευαισθησία, ευκρίνεια, και ταχύτητα.

Οι ερευνητές έχουν κάνει δραματική πρόοδο στη μικροσκοπικοποίηση κλινικών και χημικών εργαστηρίων. Μια άλλη χρήσιμη μικροσκοπική συσκευή είναι ένα υπέρυθρο μικροφασματόμετρο στο μέγεθος ενός κύβου ζάχαρης. Σμιλεμένη από στερεή μήτρα διαμόρφωσης από πλαστικό, η συσκευή εκτιμάται σε 1.5 εκατοστά κάθε πλευρά και δεν έχει κινούμενα μέρη. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για χημική ανάλυση αίματος, ανάλυση των οκτανίων της βενζίνης, περιβαλλοντολογική εξέταση, εξέταση της φθοράς αεροσκαφών, και ανίχνευση χημικών παραγόντων. Η πλαστική συσκευή χρησιμοποιεί μια πηγή φωτός για να διεγείρει ορισμένους τύπους ενώσεων στα αέρια, υγρά και στερεά. Αυτές οι διεγερμένες ενώσεις εκπέμπουν υπέρυθρο φως διαφόρων μηκών κύματος. Το μικροφασματόμετρο μπορεί να συγκεντρώσει το εκπεμπόμενο φως και να το διοχετεύσει σε μια οπτική ίνα για ανάλυση. Τα μετρούμενα εκπεμπόμενα μήκη κύματος τροφοδοτούνται σε ένα μικροτσίπ, το οποίο αναγνωρίζει και προσδιορίζει τις συγκεντρώσεις των χημικών σε ένα δείγμα. Η συσκευή είναι φθηνή και αποδίδει καλά σε διαφορετικές εξατομικευμένες χρήσεις.



Εικόνα 17: Το υπέρυθρο φασματόμετρο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για χημική ανάλυση αίματος, ανάλυση των οκτανίων της βενζίνης, περιβαλλοντολογική παρακολούθηση, έλεγχο βιομηχανικών επεξεργασιών, παρακολούθηση της διάβρωσης αεροσκαφών, και ανίχνευση χημικών παραγόντων.

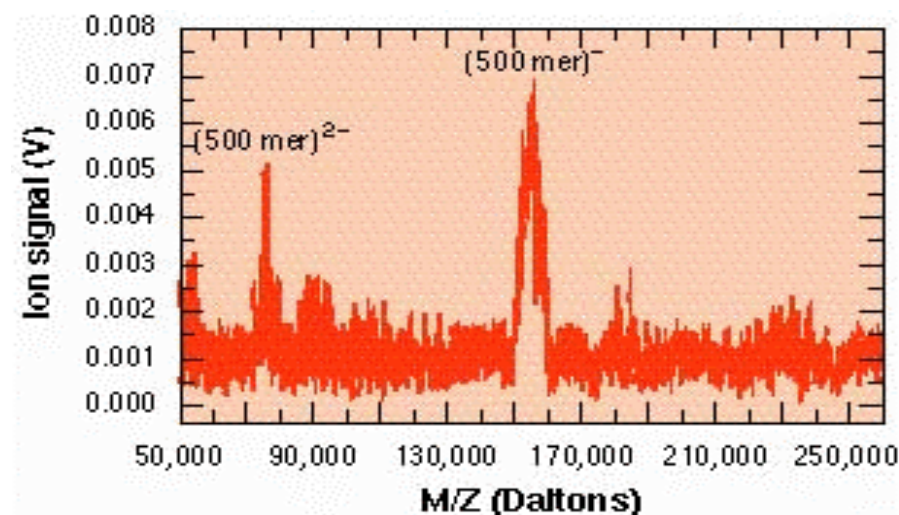
5.2.4 Βιοισθητήρες Στην Ανάλυση DNA

Το DNA μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αναγνώριση οργανισμών που κυμαίνονται από ανθρώπους μέχρι βακτήρια και ιούς. Η αναγνώριση αποτελείται από την ανάγνωση της αλληλουχίας των γραμμμάτων του DNA (A, G, C και T) που συνθέτουν το αλφάβητο που χρησιμοποιείται για να περιγράψει τις βάσεις που συνάπτονται στο φωσφορικό πολυμερές δεσοξυριβόζης που αποτελεί το κύριο στήριγμα της έλικας του DNA. Οι βάσεις ενώνουν δύο κλώνους αυτού του πολυμερούς για να σχηματίσουν μια ελικοειδή σκάλα, όπου οι βάσεις και οι δεσμοί υδρογόνου που τις ενώνουν είναι τα βήματα στα σκαλιά. Ακριβώς όπως στο αλφάβητο, τα γράμματα συνδυάζονται σε διάφορα σύνολα και ακολουθίες για να σχηματίσουν λέξεις, προτάσεις και παραγράφους όπου οργανώνουν τις πληροφορίες με ένα τρόπο που να μπορεί να διαβαστεί και να αξιοποιηθεί. Επομένως, έχει γίνει πολύ προσπάθεια για να διαβαστούν οι αλληλουχίες των τεσσάρων γραμμμάτων του DNA, και έχουν αναπτυχθεί σχετικά υποτυπώδεις μέθοδοι που είναι αξιόπιστες και χρήσιμες. Χρησιμοποιώντας μεθόδους για το σχηματισμό σύντομων αλληλουχιών του DNA, παράγονται τεμάχια DNA που έχουν ένα από τα γράμματα στο άκρο τους και που διαφέρουν σύμφωνα με το μέγεθος τους. Σαν αποτέλεσμα, μπορούν να δημιουργηθούν με ακρίβεια αλληλουχίες DNA που να περιέχουν 400 με 600 γράμματα. Εντούτοις, απαιτούνται πολλές ώρες για να ετοιμαστούν τα τεμάχια και να χωριστούν κατά μέγεθος (χρησιμοποιώντας τζέλ ηλεκτροφόρηση). Χρησιμοποιώντας αυτή την μέθοδο, έχουν προσδιοριστεί αλληλουχίες εκατομμυρίων γραμμμάτων DNA, επιτρέποντας την εξακρίβωση της θέσεως μιας γενετικής μεταλλαγής που προκαλεί ασθένειες όπως την δρεπανοκυτταρική αναιμία, την ασθένεια Huntington, το σύνδρομο fragile X (ένα σοβαρό τύπο πνευματικής καθυστέρησης), και αρκετές εκατοντάδες άλλες κληρονομικές ασθένειες ή χαρακτηριστικά. Επιπλέον, συνδυάζοντας ακολουθίες με 400 γράμματα την φορά, προσδιορίστηκε το 1996 ολόκληρο το γονιδίωμα της μαγιάς, ένα κρίσιμο επίτευγμα που οδήγησε στην αναγνώριση ενός ολόκληρου νέου συνόλου γονιδίων που δεν είχαν αναγνωριστεί προηγουμένως. Πολλά εργαστήρια που ασχολούνταν με την προσπάθεια της αλληλουχίας έχουν τώρα στρέψει τη προσοχή τους στη μελέτη αυτών των νέων γονιδίων για να μάθουν τη λειτουργία τους και τη σημασία τους. Το Human Genome

Project σχεδιάζει να πάει πέρα από την μαγιά και να προσδιορίσει την αλληλουχία όλων των γραμμάτων του DNA στο ανθρώπινο γονιδίωμα. Αναμφίβολα, αυτή η πληροφορία θα οδηγήσει στην ανακάλυψη πολλών νέων ανθρώπινων γονιδίων και σε μια πιο εξελιγμένη κατανόηση της κατάστασης της υγείας και των ασθενειών μας.

Επειδή οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για την ακολουθία του DNA της μαγιάς απαιτήσαν τη συνεργασία ντουζινών εργαστηρίων στην Ευρώπη και τις ΗΠΑ για πολλά χρόνια για τον καθορισμό της συνολικής ακολουθίας, νέες και γρηγορότερες μέθοδοι για την ανάγνωση της αλληλουχίας του DNA θα ήταν σαφώς επωφελείς. Εάν οι μέθοδοι ήταν γρηγορότερες και λιγότερο ακριβές, η πληροφορία της ακολουθίας του DNA θα ήταν τόσο συνήθη όσο ο τύπος αίματος μας και πολύ περισσότερο ενημερωτική. Θα μπορούσαμε να εξακριβώσουμε εάν είμαστε φορείς ενός γονιδίου μιας ασθένειας που γνωρίζουμε ότι υπάρχει στην οικογένεια μας, εάν το αίμα σε ένα έγκλημα ήταν του ύποπτου που συλλήφθηκε, ή εάν ένα επιβλαβές βακτήριο υπήρξε σε ένα πεδίο μάχης. Σε ορισμένες από αυτές τις περιπτώσεις, η ανάγκη να ξέρουμε την αλληλουχία του DNA μπορεί να είναι επείγων. Επειδή οι επίκαιρες μέθοδοι δεν είναι αρκετά γρήγορες για να ικανοποιήσουν τέτοιες ανάγκες, πολλά εργαστήρια, αναπτύσσουν γρηγορότερες μεθόδους. Εκτός των πληροφοριών της ακολουθίας, οι μέθοδοι αναπτύσσονται επίσης για να προσδιορίζουν την θέση που μια αλληλουχία DNA έχει υποστεί μετατροπές.

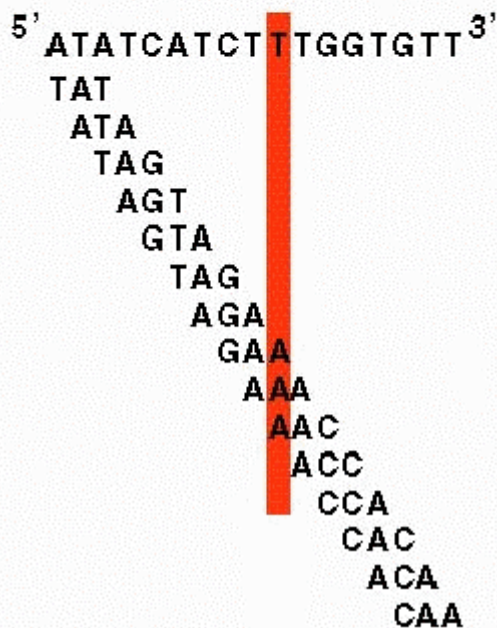
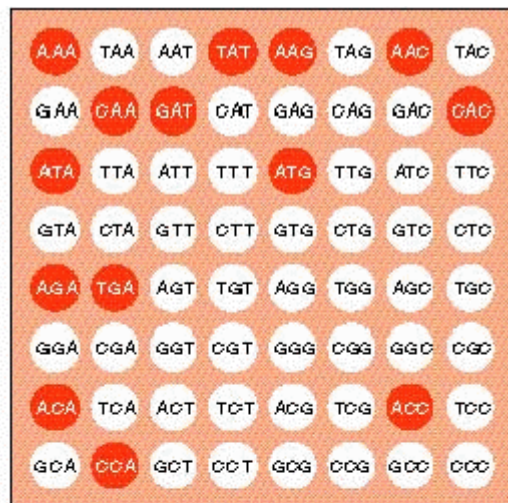
Όταν ένα χημικό αντιδράσει με το DNA στον πυρήνα του κυττάρου, πιθανώς προκαλώντας βλάβη, σχηματίζεται μια χημική ουσία από την προσθήκη των δύο ειδών. Οι ερευνητές έχουν χρησιμοποιήσει τη φασματομετρία μάζας για να αναγνωρίσουν τις χημικές ουσίες που προκύπτουν από αυτή τη προσθήκη. Έχουν καθορίσει και την ταυτότητα της χημικής αυτής ουσίας και τη συγκεκριμένη θέση του DNA στην οποία έχει συμβεί.



Εικόνα 18: η laser mass spectrometry έχει χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση δίκλωνου και μονόκλωνου DNA και για τον καθορισμό της ακολουθίας των βάσεων στο μονόκλωνο DNA.

Η αλληλουχία του DNA αποτελείται από ένα σύνολο χημικών βάσεων, γνωστές ως A, T, C, και G, και το μόριο του DNA διπλώνεται, περιελίσσεται και σχηματίζει βρόγχους με διάφορους τρόπους. Για δίκλωνο DNA, ο κανόνας είναι η A στον ένα κλώνο πρέπει να ταιριάζει με την Τα στον άλλο, και η C πρέπει να ταιριάζει με την G.

Τα τελευταία χρόνια έρευνες έχουν δείξει ότι κομμάτια DNA των 50 ή 75 νουκλεοτιδίων (βάσεις) μπορούν να διαδεχθούν για να διατηρήσουν τη τάξη των A, G, C, και T γραμμάτων. Επειδή η φασματομετρία μάζας πραγματοποιεί το καθορισμό της ακολουθίας σε λιγότερο από δευτερόλεπτο, ατή η ταχύτητα αντικαθιστά αυτή της ηλεκτροφόρησης με τζέλ όσον αφορά τη σπουδαιότητα. Μολοταύτα, η μέθοδος με το τζέλ μπορεί να διεξάγει 400 με 600 γράμματα σε 50 δείγματα τη φορά και δεν βρίσκεται σε κίνδυνο να αντικατασταθεί ακόμα. Άλλοι τρόποι χαρακτηρισμού του DNA αποτελούνται από τον προσδιορισμό του μεγέθους των τεμαχίων που παράγονται από ενδονουκλεάσες περιστολής, ένζυμα που κόβουν το DNA όταν βρίσκουν μια συγκεκριμένη ακολουθία γραμμάτων. Αυτά τα ένζυμα μπορούν να θεωρηθούν σαν "μαγικά ψαλίδια" επειδή όχι μόνο κόβουν το DNA αλλά το κάνουν τόσο αξιόπιστο σε μια θέση της ακολουθίας η οποία είναι συγκεκριμένη για κάθε ένα από τα ένζυμα περιστολής, τα οποία είναι πάνω από 400. Το σχήμα των μεγεθών αυτών των τεμαχίων DNA που παράγονται από αυτά τα μαγικά ψαλίδια μπορεί να είναι μοναδικός για το DNA κάθε βιολογικού είδους ή ακόμα κάθε ατόμου.



Εικόνα 19: Εικόνα 2 έχουν αναπτυχθεί σειρές ακινητοποιημένων ολιγονουκλεοτιδίων για την ανάλυση αλληλουχιών του DNA. Στην εικόνα, η αλληλουχία του DNA είναι διευρυμένη, χαρακτηρισμένη, και αφημένη να υβριδοποιηθεί με την σειρά των ακινητοποιημένων

ολιγονουκλεοτιδίων. Στα δεξιά, η αλληλουχία του DNA αποκρυπτογραφείται επικαλύπτοντας τις υβριδοποιημένες σειρές παρόμοιας αλληλουχίας. Η τεχνική έχει εφαρμογές στην ιατρική, στην ιατροδικαστική, στην γεωργία, και στην περιβαλλοντολογική βιοαποκατάσταση

Η ηλεκτροφόρηση με τζέλ είναι η συνήθη μέθοδος για να χαρακτηρίσουμε το μέγεθος του σχήματος αλλά η φασματομετρία μάζας μπορεί να το κάνει πολύ καλά, και ξανά σε πολύ συντομότερο χρόνο. Εκτός από αυτή την μέθοδο, άλλες μέθοδοι αξιοποιούν τη χαρακτηριστική αντίδραση μεταξύ των δύο κλώνων του DNA. Ανακαλώντας ότι η Α ταιριάζει με την Τα και η C με την G στους αντίθετους κλώνους, ένας μικρός κλώνος DNA, που καλείται ολιγονουκλεοτίδιο, με μια ακολουθία 5'-AGCTTTAACC θα συνδεθεί με την 5'-GGTTAAAGCT αλλά όχι με την 5'-GGTTAGGACT.

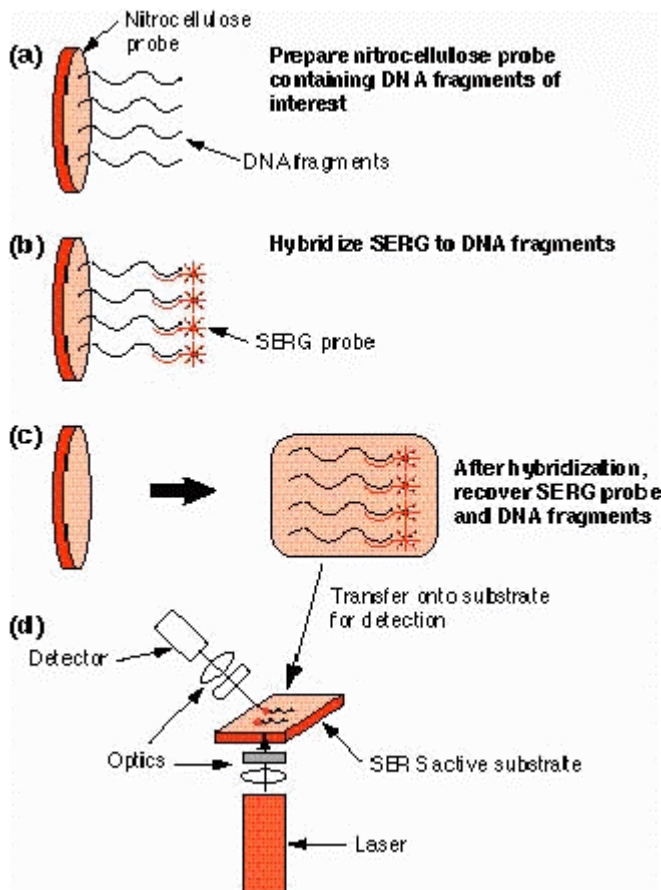
Οι ερευνητές συνέθεσαν έναν αριθμό από διαφορετικές αλληλουχίες DNA κατευθείαν πάνω σε μια γυάλινη επιφάνεια και έδειξαν ότι η συμπληρωματική ακολουθία του ελεύθερου DNA θα μπορούσε να αποκτηθεί καθορίζοντας με ποια από τις αλληλουχίες θα δεσμευτεί. Το ελεύθερο DNA χαρακτηρίστηκε με φώσφορο-32 έτσι ώστε η διαμόρφωση να μπορούσε να παρατηρηθεί με ακτινογράφιση. Με άλλα λόγια τι γυαλί τοποθετήθηκε απέναντι από φωτογραφικό φιλμ για κάποιο χρόνο, μετά αφού είχε εμφανιστεί για να προσδιορίσουν τις θέσεις των ραδιενεργών κηλίδων. Σε αυτή την περίπτωση το ακινητοποιημένο DNA περιείχε μόνο οχτώ βάσεις και έτσι θα μπορούσε να καθορίσει την ακολουθία μόνο οχτώ βάσεων στο ελεύθερο DNA. Μακρύτερα τμήματα ακινητοποιημένων DNA θα έδιναν μακρύτερες ακολουθίες στο ελεύθερο DNA. Αυτή η τεχνική συχνά καλείται αλληλουχία με υβριδισμό (SBH).

Παρουσιάζει ενδιαφέρον το γεγονός ότι οι κανόνες “το Α δεσμεύεται με το Τ” και “το G δεσμεύεται με το C” δεν είναι εντελώς αξιόπιστοι, αποτυχημένοι συνδυασμοί μπορούν και όντως συμβαίνουν στα υβριδικά πειράματα. Εάν ο αποτυχημένος συνδυασμός είναι στο ή κοντά στο άκρο του κλώνου DNA, είναι πιο πιθανό να σπάσουν οι κανόνες απ’ότι εάν είναι σε μια εσωτερική θέση. Έτσι έχει αναπτυχθεί ένας αριθμός κανόνων που προβλέπουν πότε είναι πιθανό να συμβεί ένας κακός συνδυασμός. Εάν αυτοί οι κανόνες αγνοηθούν στην ερμηνεία των δεσμευμένων διαμορφώσεων, ο αναγνώστης θα μπορούσε να παραπλανηθεί όσο αφορά την πραγματική ακολουθία των τμημάτων DNA. Επειδή οι υβριδικές μέθοδοι είναι πολύ πιο γρήγορες απ’ότι η ηλεκτροφόρηση με τζέλ για τον προσδιορισμό της των αλληλουχιών, είναι πιθανό ο υβριδισμός να γίνει η μέθοδος επιλογής για πολλές εφαρμογές χαρακτηριστικών γνωρισμάτων του DNA.

Όταν ένα τμήμα DNA χαρακτηρισμένο από κασσίτερο υβριδοποιείται με την ακολουθία του συμπληρωματικού του DNA σε μια σειρά μικρών κομματιών DNA σε

μια επιφάνεια γυαλιού ή νάιλον, η θέση του τμήματος καθορίζεται από ένα μικροκαθετήρα με ιονισμό που προκαλείται από laser, που χρησιμοποιεί μια ακτίνα laser για να διαχωρίσει όλα τα άτομα σε πολλές εκατοντάδες μονά επίπεδα της επιφάνειας του δείγματος. Αυτά τα άτομα που εμφανίζονται σαν ιόντα

απορρίπτονται. Εντούτοις, τα ουδέτερα άτομα ενός επιλεγμένου στοιχείου (σε αυτή την περίπτωση, ο κασσίτερος) μετατρέπονται σε ιόντα φωτίζοντας τα με ένα laser που είναι συντονισμένο με την κβαντική ενέργεια των ηλεκτρονίων του στοιχείου, προκαλώντας μόνο τον ιονισμό των ατόμων αυτού του στοιχείου. Τα ιόντα που παράγονται με αυτό τον τρόπο εισάγονται σε ένα φασματόμετρο μάζας, το οποίο τα διαχωρίζει σε ισότοπα σύμφωνα με διαφορές στη μάζα και υπολογίζει την συγκέντρωση κάθε ενός ισότοπου του κασσιτέρου.



Εικόνα 20: Σειρές surface-enhanced Raman gene (SERG) μπορούν να εντοπίσουν ελεύθερα μόρια DNA που έχουν υβριδοποιηθεί με άλλα που είναι στερεωμένα πάνω σε μια επιφάνεια. Η τεχνική έχει χρήσεις στην ιατρική, στην ιατροδικαστική, στην γεωργία, και στην περιβαλλοντολογική βιοαποκατάσταση.

Μια άλλη μέθοδος υβριδισμού χρησιμοποιεί μια διαδικασία που λέγεται Raman φασματοσκοπία ενισχυμένης επιφάνειας (SERS). Υβριδοποιημένο DNA μεταφέρεται από την μεμβράνη νάιλον σε μια γυάλινη λωρίδα επιστρωμένη με μικροσκοπικές ασημένιες σφαίρες. Οι βαμμένες μα χρωστική ετικέτες που συνδέονται με τις βάσεις του DNA έχουν μοναδικό Raman

υπέρυθρο φάσμα. Αυτή η ενίσχυση επιτρέπει στις βάσεις του DNA να ανιχνευθούν σε επαρκή ευαισθησία για να είναι χρήσιμες για μελέτες της αλληλοδιαδοχής του DNA. Παλαιότερα, χρησιμοποιώντας την SERS, ανιχνεύθηκε μια φοροίζουσα καρκινογόνο ουσία στο DNA. Έπειτα, αποδείχτηκε η δύναμη της SERS για ανάλυση της αλληλουχίας του DNA. Πρόσφατα, αναπτύχθηκε σε μέθοδο υψηλής ευαισθησίας.

Ακόμα μια προσέγγιση στην ανάλυση του DNA, είναι ο σχεδιασμός μιας σειράς ανιχνευτών διπλού ηλεκτρικού φορτίου συσκευών (CCD και) και η σύναψη στην

επιφάνεια τους ειδικών αλληλουχιών DNA. Ελεύθεροι κλώνοι DNA χαρακτηρίζονται με φθορίζοντα μόρια και υβριδοποιούνται στο δεσμευμένο DNA. Όταν φωτίζεται με φως laser του σωστού μήκους κύματος, τα φθορίζοντα άκρα του υβριδοποιημένου DNA εκπέμπουν σήματα φωτός που ανιχνεύονται από τους ατομικούς ανιχνευτές CCD πίσω από κάθε θέση DNA.

Επειδή κάθε pixel των CCD έχει διαφορετική αλλά γνωστή ακολουθία μικρού τμήματος DNA δεσμευμένη σε αυτό, η ακολουθία του τμήματος του μακρύτερου κλώνου DNA που υβριδοποιείται με τον μικρό κλώνο μπορεί να αναγνωριστεί. Συναθροίζοντας όλες τις πληροφορίες από τα pixels, αποκτάται ένα μεγαλύτερο τμήμα αλληλουχίας DNA. Επειδή τα βακτήρια έχουν μοναδικές αλληλουχίες DNA, αυτές οι μέθοδοι υβριδισμού υπόσχονται πολλά για τις βάσεις νέων τεχνικών που θα αναλύουν γρήγορα το DNA, θα χαρακτηρίζουν την πηγή του, και θα αναγνωρίζουν τα βακτήρια.

Μια διαφορετικού τύπου ανάλυση του DNA έχει να κάνει σχέση με τα ένζυμα "μαγικά ψαλίδια", που περιγράφονται παραπάνω. Για παράδειγμα, το ένζυμο EcoRI κόβει το DNA η ακολουθία 5'-GAATTC είναι στον ένα κλώνο του DNA και η συμπληρωματική του 5'-CTTAAG στον άλλο. Η κοπή χωρίζει το G από το A και στους δύο κλώνους. Αυτή η σειρά συμβαίνει σχετικά συχνά στο DNA, έτσι το ένζυμο παράγει ένα μεγάλο αριθμό κομματιών. Το ένζυμο Not I απαιτεί οχτώ νουκλεοτίδια στην ακολουθία 5'-GCGGCCGC και τη συμπληρωματική της 5'-GCGGCCGC, μια τέτοια σειρά συμβαίνει σπάνια, οπότε παράγονται λιγότερα κομμάτια DNA, και γενικά είναι μεγαλύτερα από αυτά που κόβονται από το EcoRI. Εξαιτίας της διαθεσιμότητας περισσότερων από 400 ενζύμων περιστολής που έχουν μοναδικές και γνωστές ακολουθιακές απαιτήσεις, τα σχήματα των τεμαχίων του DNA που παράγονται από τα διάφορα ένζυμα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να χαρακτηρίσουν το DNA κάθε ανθρώπου. Αυτή είναι και η βάση για τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα του DNA που αποκτούνται μέσω διαχωρισμού κατά μέγεθος των τεμαχίων DNA με ηλεκτροφόρηση με τζέλ. Τέτοια χαρακτηριστικά γνωρίσματα χρησιμοποιούνται ευρέως για στοιχεία στην έρευνα και στα δικαστήρια.

Για να προσδιορίσουμε ποια κομμάτια του DNA διαμορφώνουν ένα χαρακτηριστικό γνώρισμα, πρέπει να διαχωριστούν και να αναγνωριστούν. Το "lab on a chip" έχει διασκευαστεί για να εκτελεί τέτοιους διαχωρισμούς μέσα σε λίγα λεπτά-πολύ πιο γρήγορα από τις πρότυπες διαδικασίες με τζέλ. Όπως τα μικροκυκλώματα και οι υπολογιστές λειτουργούν παράλληλα, αυτά τα τσιπ χημικού διαχωρισμού μπορούν να χρησιμοποιηθούν παράλληλα για ανάλυση DNA. Σε μια εφαρμογή, υγρά που περιέχουν DNA και ένα ένζυμο περιστολής εισάγονται με ένεση σε διαφορετικούς θαλάμους που είναι χαραγμένοι στο τσιπ. Ηλεκτρικά πεδία διακινούν τα υγρά διαμέσου ενός

μικροσκοπικού καναλιού σε έναν αντιδραστικό θάλαμο, όπου το ένζυμο κόβει το DNA σε κομμάτια διαφορετικού μήκους. Τότε τα μικροτεμάχια του DNA διακινούνται ηλεκτρικά σε ένα θάλαμο διαχωρισμού, όπου ενισχύονται με βαφές φθορισμού για ανίχνευση.

Τα τεμάχια DNA διαφόρων μεγεθών ταξινομούνται σε ένα υγρό που περιέχει ινώδη νήματα ενός πολυμερούς. Τα κομμάτια του DNA μπερδεύονται με τα νήματα του πολυμερούς, τα οποία τα επιβραδύνουν καθώς διέρχονται μέσα από το υγρό. Τα μικρά κομμάτια DNA βρίσκουν το δρόμο τους μέσα από το μπερδεμένο πλέγμα γρηγορότερα από τα μεγαλύτερα, οπότε έτσι προκύπτει ο διαχωρισμός. Καθώς τα κομμάτια διαχωρίζονται, φωτίζονται με φως από laser, προκαλώντας τον φθορισμό τους. Οι εντάσεις του ανιχνευόμενου φωτός τροφοδοτούνται σε ένα υπολογιστή, που ταξινομεί τα σήματα από τα διαχωρισμένα κομμάτια για να παρέχει ανάλυση του δείγματος.

Για την εξάλειψη του χειροκίνητου χειρισμού του DNA, έχει προταθεί η κατασκευή ενός πιο αναλυτικού τσιπ το οποίο μπορεί να προετοιμάσει το DNA από ένα βιολογικό δείγμα λύνοντας τα κύτταρα, εξάγοντας το DNA, αφομοιώνοντας το με ένζυμα περιστολής, ενισχύοντας το με την αλυσίδα αντίδρασης της πολυμεράσης, επισυνάπτοντας ετικέτες φθορισμού, και έπειτα αποκτώντας το ηλεκτροφορητικό χαρακτηριστικό γνώρισμα. Όλα τα βήματα θα συνέβαιναν σε μια σειρά από μικροσκοπικούς θαλάμους στο τσιπ, και τα αποτελέσματα θα αποκτούνταν σε λεπτά απ'ότι σε ώρες ή μέρες, όπως συμβαίνει τώρα.

Έχει αναπτυχθεί μια τεχνική αποτύπωσης του DNA χρησιμοποιώντας μικροσκόπηση ατομικού πεδίου (AFM) για τη μέτρηση του μήκους και του πλάτους των δίκλωνων μορίων DNA. Η AFM είναι μια ευαίσθητη συσκευή που σκιαγραφεί την επιφάνεια ενός υλικού, παράγοντας ένα τρισδιάστατο χάρτη. Ορισμένοι ιοί έχουν κυκλικό DNA γνωστών μεγεθών, καθώς χαρακτηρίζονται από διάφορες μεθόδους. Έχει αποδειχτεί ότι η τεχνική αυτή μπορεί να μετρήσει μεγέθη ιογενών γενετικών υλικών.

Το ένζυμο ενδονουκλεάση περιστολής, κόβει μια αλληλουχία DNA κάθε φορά που συμβαίνει που απαντάται στο κλώνο. Αλλά το είδος της μετάλλαξης αυτού του ενζύμου απλά ενώνει, παρά σχίζει το κλώνο του DNA. Η τεχνική AFM μπορεί να αναπαραστήσει το δεσμό που προκύπτει, ή τη πρωτεϊνική ανωμαλία, που σχηματίζεται στο νήμα του DNA. Οι ερευνητές μπορούν να αναγνωρίσουν τη θέση όπου το ένζυμο δεσμεύεται στο DNA μέσα σε 100 ζευγάρια βάσεων, που είναι μια πολύ υψηλή ανάλυση. Έχουν δείξει ότι η απόσταση από τη μια δέσμευση στην επόμενη, καθώς αναπαριστάνεται από την AFM, ήταν ακριβώς αυτή που προβλέφτηκε με πειράματα κοπής ενζύμων αναλυμένα με ηλεκτροφόρηση με τζέλ.

Διαμέσου της γενετικής μηχανικής, θα μπορούσαν να αναπτυχθούν και άλλα ένζυμα και πρωτεΐνες που δεσμεύουν, παρά κόβουν, συγκεκριμένες αλληλουχίες DNA. Χρησιμοποιώντας την τεχνική AFM για να παρατηρήσουμε ένα κλώνο DNA που επεξεργάζεται με διαφορετικά μηχανικά ένζυμα, μπορεί να είναι πιθανό να προσδιορίσουμε μια ορισμένη ακολουθία των χημικών του βάσεων, μια ορισμένη θέση αποτύπωσης, ή μια αραίωση γονιδίων και άλλων βιοχημικών γνωρισμάτων στα χρωμοσώματα. Χρησιμοποιώντας αυτό τον βιοαισθητήρα, οι ερευνητές έχουν δείξει ότι η τεχνική AFM μπορεί να χαρακτηρίσει ένα κλώνο DNA σύμφωνα με τις αποστάσεις μεταξύ συγκεκριμένων περιοριστικών δεσμευτικών θέσεων, εξαλείφοντας την ανάγκη της ενζυματικής κοπής του DNA σε τεμάχια για διαχωρισμό με ηλεκτροφόρηση με τζέλ. Επειδή η μέθοδος με AFM είναι γρηγορότερη απ'ότι η ηλεκτροφόρηση, η κοινότητα που ασχολείται με την αλληλουχία του γονιδιώματος αρχίζει ήδη να χρησιμοποιεί αυτή την τεχνική για το χαρακτηρισμό και τη αποτύπωση του DNA.

5.3 ΕΜΦΥΤΕΥΟΜΕΝΑ ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΓΙΑ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΚΑΙ ΝΕΥΡΙΚΗ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ

Η παρακολούθηση των λειτουργιών του σώματος είναι ένα ουσιαστικό μέσο στην ιατρική διάγνωση. Η επαναλαμβανόμενη μέτρηση της πίεσης του αίματος σε μικρά χρονικά διαστήματα είναι υποχρεωτική για ορισμένες ασθένειες. Πολύ συχνά αυτές οι μετρήσεις συνοδεύονται από διαδικασίες που μπορούν να αγχώσουν τους ασθενείς και συνεπώς να παραποιήσουν τα αποτελέσματα ή να εμποδίσουν τους ασθενείς από το να κοιμηθούν όταν χρειάζεται κατά την διάρκεια μιας 24ωρης παρακολούθησης. Σαν αποτέλεσμα, αλλαγές μπορούν μόνο να ανιχνευτούν όταν τα όργανα έχουν ήδη φθαρεί. Τα μικροσυστήματα προσφέρουν την δυνατότητα να ελαχιστοποιήσουν τα λειτουργικά εξαρτήματα και να ολοκληρώσουν την απόκτηση των δεδομένων και την μετάδοσή τους σε μικροηλεκτρονική διάταξη κυκλωμάτων. Εάν αυτά τα μικροσυστήματα γίνουν εμφυτεύματα, η συνεχόμενη μέτρηση θα ήταν δυνατή αμέσως μετά από μια χειρουργική επέμβαση, η οποία θα μπορούσε να είναι μια ελάχιστου μεγέθους επεμβατική χειρουργική διαδικασία.

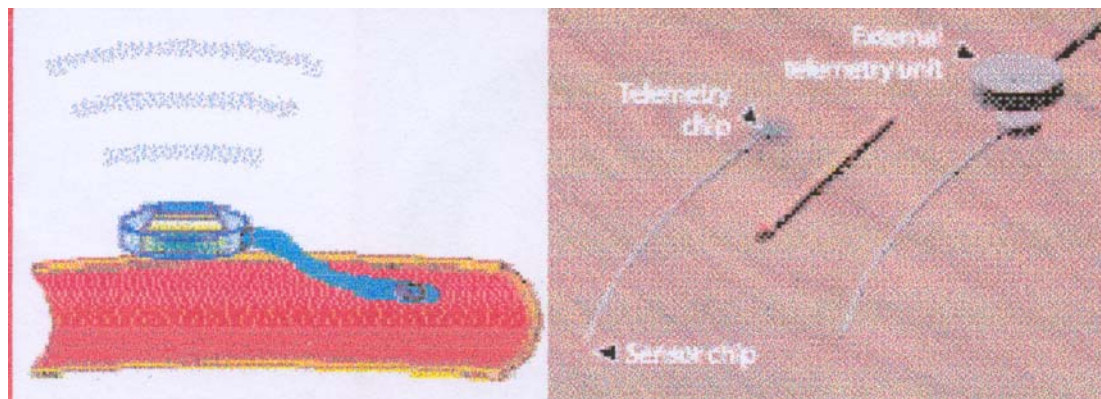
Τέτοιες μικροσυσκευές είναι και οι παρακάτω:

5.3.1 Παρακολούθηση Πίεσης Αίματος Και Εγκεφάλου

Ένα επεμβατικό σύστημα για παρακολούθηση ενδοσωματικής πίεσεως αποτελείται από ένα αισθητήρα ο οποίος συνδέεται σε μια τηλεμετρική μονάδα. Ένα βασικό

εμφυτευόμενο μικροσύστημα για τον έλεγχο της πίεσης έχει αναπτυχθεί σε μια μελέτη συναρμογής για ένα εμφυτευόμενο τηλεμετρικό ενδοσύστημα (ITEMS).

Εικόνα 21: Εμφυτευόμενο τηλεμετρικό ενδοσύστημα για την παρακολούθηση της πίεσης, για παράδειγμα, ενδοφλέβια. Αριστερά: σχηματική εικόνα. Δεξιά: στοιχεία του πρωτότυπου.



Η τεχνική σύλληψη βασίζεται στην επαγωγική τηλεμετρική μετάδοση της ενέργειας σε ένα εμφύτευμα, και στην μεταβίβαση των δεδομένων μέσα από το δέρμα σε μια εξωτερική μονάδα ελέγχου και καταχώρησης δεδομένων, χρησιμοποιώντας μια διαμορφωμένη μέθοδο παθητικής απορρόφησης. Η χρήση εξειδικευμένων ολοκληρωμένων κυκλωμάτων βασίστηκε σε τεχνολογία ημιαγωγών από πυρίτιο. Αυτός ο σχεδιασμός εξαλείφει την ανάγκη για μια ενεργή πηγή ενέργειας όπως η μπαταρία, η οποία περιορίζει την διάρκεια ζωής του εμφυτεύματος.

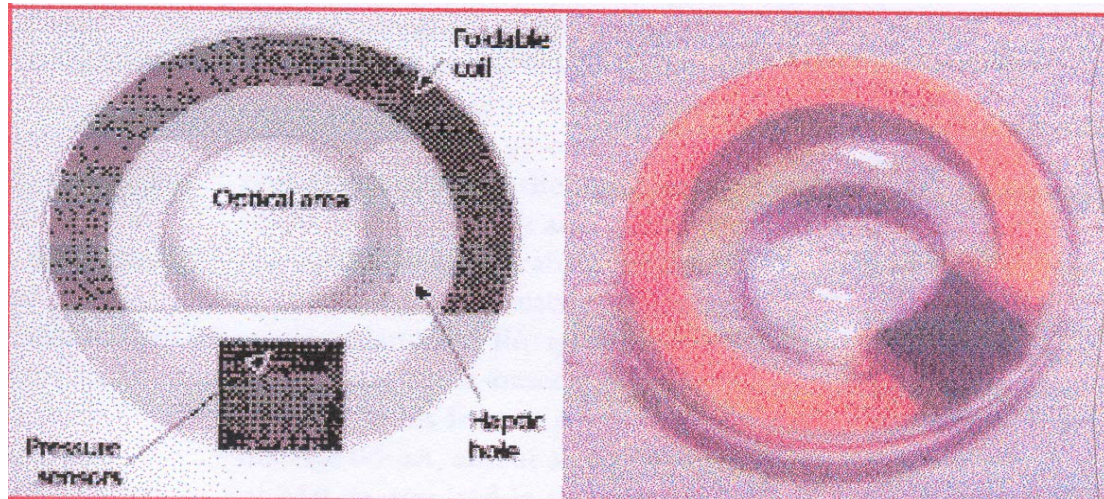
Το μειονέκτημα της επαγωγικής μετάδοσης είναι η μικρή χειρουργική απόσταση των λίγων μόνο mm, που είναι απευθείας αποτέλεσμα της μαγνητικής επίδρασης κοντινού-πεδίου. Ο αισθητήρας πίεσης που αναπτύχθηκε στο σχέδιο αυτό, σχεδιάστηκε σαν ένας αισθητήρας χωρητικής πίεσης ο οποίος πρέπει να συνδεθεί σε ένα ηλεκτρονικό τσιπάκι που απαιτεί ένα τηλεμετρικό τσιπάκι για να το συνδέσει στο ITEMS.

5.3.2 Παρακολούθηση Ενδοφθάλμιας Πίεσης.

Ένας από τους μεγαλύτερους παράγοντες της τύφλωσης στη Δύση είναι η παθολογική αύξηση της ενδοφθάλμιας πίεσης, το κατά γενικό κανόνα γλαύκωμα. Η απώλεια της όρασης προκαλείται από τον θάνατο των νευρικών ινών από τα γαγγλιακά κύτταρα οπτικού ερεθισμού, που είναι αποτέλεσμα ανεβασμένης ενδοφθάλμιας πίεσης. Το γλαύκωμα δεν προκαλεί συνήθως πόνο ή κάποιο άλλο σύμπτωμα εκτός από την απώλεια της όρασης στα τελευταία στάδια. Επομένως το γλαύκωμα έχει τυπικά ήδη καταστρέψει περισσότερο από το 80% των νευρικών ινών

πριν ανιχνευθεί. Χρησιμοποιώντας τεχνολογία μικροσυστημάτων μερικές ομάδες ερευνητών έχουν δουλέψει πάνω σε αισθητήρες ενδοφθάλμιας πίεσης οι οποίοι κατασκευάστηκαν σαν εμφυτεύματα στο σχήμα ενός τεχνικού ενδοφθάλμιου φακού.

Εικόνα 22: Εμφυτευόμενος αισθητήρας πίεσης με τηλεμετρικό σύστημα σε τεχνητό ενδοφθάλμιο φακό. Αριστερά: γενική επισκόπηση. Δεξιά: το εμφυτευόμενο σύστημα.



Αυτά τα εμφυτευόμενα συστήματα υποβάλλονται ήδη σε κλινικές δοκιμές σαν μακροπρόθεσμα εμφυτεύματα σε ζώα. Η συνεχόμενη παρακολούθηση της πίεσης επιτρέπει τον αντικειμενικό έλεγχο θεραπευτικών στρατηγικών στο γλαύκωμα και ίσως να δώσει διορατικότητα στον μηχανισμό του γλαυκώματος.

5.3.3 Λειτουργική Νευρική Αποκατάσταση

Η νευρική αποκατάσταση είναι ένα άλλο πεδίο εφαρμογών για εμφυτευόμενες μικροσυσκευές. Ασθένειες και τραυματικά περιστατικά μπορεί να οδηγήσουν σε φθορά ή κατώσεις στο κεντρικό ή περιφερικό νευρικό σύστημα. Όταν η πληροφορία ρέει ανάμεσα στον εγκέφαλο, τον νωτιαίο μυελό, τα νεύρα, σε βιολογικούς αισθητήρες, και παρεμβάλλονται μύες, οι αισθητήριες είσοδοι υστερούν και η όραση ή η ακοή χάνονται. Εάν οι κινητικές εντολές από τον εγκέφαλο δεν φτάσουν τους μύες, συμβαίνει παράλυση. Η επιδίωξη της νευρικής αποκατάστασης είναι η αποκατάσταση των χαμένων λειτουργιών χρησιμοποιώντας θεραπευτικά προγράμματα και τεχνική βοήθεια. Εξαιτίας της τεράστιας πολυπλοκότητας του ανθρώπινου νευρικού συστήματος, η τεχνική βοήθεια οδηγεί μόνο σε περιορισμένη αποκατάσταση στη λειτουργία.

Τα νευρικά τεχνητά τμήματα (προσθέσεις) είναι μια ομάδα τεχνικής βοήθειας. Αυτά είναι τεχνικά συστήματα που διασυνδέονται με νεύρα και μύες για να καταγράψουν βιοηλεκτρικά σήματα ή να διεγείρουν ηλεκτρικά τα νεύρα και τους μύες. Εμφυτευμένοι διεγέρτες και ηλεκτρόδια αυτού του τύπου έχουν εδραιωθεί για περισσότερο από δύο δεκαετίες. Καρδιακοί και διαφραγματικοί βηματοδότες μπορούν να επαναφέρουν τις ζωτικές λειτουργίες και η νευρομυική διέγερση μπορεί να βοηθήσει παράλυτους ανθρώπους να ξεπεράσουν κάποια προβλήματα. Αισθητήριες νευρικές προσθέσεις όπως το κοχλιακό εμφύτευμα χρησιμοποιούνται στην κλινική πρακτική και η ηλεκτρική διέγερση συνιστάται για την μετρίαση του χρόνιου πόνου ή για την καταστολή του τρέμουλου στην ασθένεια Parkinson. Μέχρι στιγμής έχουν αναπτυχθεί τα παρακάτω εμφυτευμένα συστήματα:

- Ηλεκτρόδια για την διέγερση των νευρών και των μυών
- Περιβλημένα εμφυτεύματα με μια πηγή ενέργειας και μικροηλεκτρονική για έλεγχο
- Μακριά καλώδια για να διασυνδέσουν όλα τα ηλεκτρόδια από ένα κεντρικό εμφύτευμα.

Χρησιμοποιώντας ακριβή μηχανισμούς, τα εμφυτεύματα φτιάχνονται να είναι εύρωστα, σταθερά και λειτουργικά για μεγάλη χρονική διάρκεια. Ωστόσο, καταναλώνουν χώρο, και η πολυπλοκότητα του εμφυτεύματος και ο αριθμός των ηλεκτροδίων περιορίζονται από τους περιορισμούς της σαφούς μηχανικής τεχνολογίας και τους χωρικούς και βιολογικούς περιορισμούς του ανθρωπίνου σώματος. Με την τεχνολογία μικροσυστημάτων ενεργά εμφυτεύματα που έχουν έναν υψηλότερο βαθμό ελαχιστοποίησης και έναν αυξημένο βαθμό ηλεκτροδίων είναι τώρα εφικτά.

Τα εμφυτεύματα δεν πρέπει μόνο να είναι βιοασφαλή και βιοσταθερά όσον αφορά την κυτταροτοξικότητα και την διάσπαση, πρέπει επίσης να ικανοποιούν τα διαλύματα των βιολογικών συστημάτων με εκτίμηση στις ομαλές άκρες, το χαμηλό βάρος και την υψηλή ευελιξία για να εμποδίσουν τον μηχανικό νευρικό τραυματισμό.

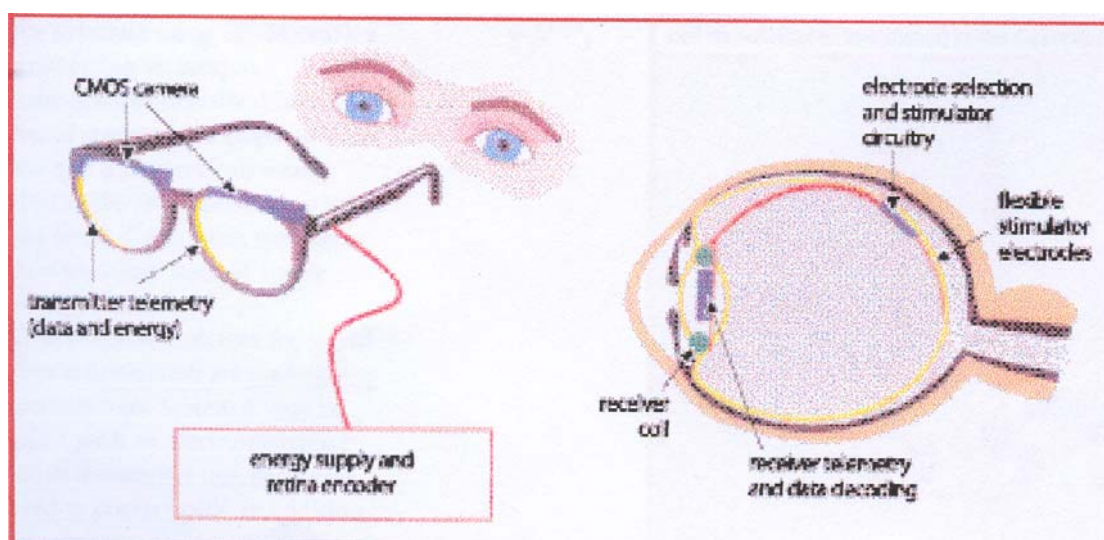
5.3.4 Ένα Μικροσύστημα Στο Μάτι

Ένας μεγάλος αριθμός ασθενών υποφέρουν από εκφυλισμένες ατέλειες του αμφιβληστροειδή. Υπάρχει μια προοδευτική απώλεια των φωτουποδοχέων ραβδίων και κωνίων. Εντούτοις, το γαγγλιακό κυτταρικό στρώμα, το οποίο σχηματίζει το οπτικό νεύρο και τα επακόλουθα τμήματα του οπτικού συστήματος, παραμένει άθικτο. Μια μελέτη έχει αποδείξει ότι η τοπική ηλεκτρική διέγερση του αμφιβληστροειδικού

γαγγλιακού κυτταρικού στρώματος σε τυφλούς ασθενείς απέφερε χρήσιμες, εντοπισμένες οπτικές αισθήσεις. Αυτά τα υποκειμενικά αισθήματα φωτός φάνηκαν σαν κουκίδες ή γραμμές σε προσδιορισμένες τοποθεσίες στο οπτικό διάστημα.

Δύο διαφορετικές περιοχές εμφύτευσης και διέγερσης είναι υπό έρευνα για μια συσκευή που απευθείας θα διεγείρει τον αμφιβληστροειδή: μια υποαμφιβληστροειδική περιοχή με διατάξεις φωτοδιόδων στην περιφέρεια των εκφυλισμένων φωτουποδοχέων, και μια επιαμφιβληστροειδική τοποθεσία για την διέγερση των γαγγλιακών κυττάρων με συμβατικές διεγερτικές επαφές.

Το σύστημα αμφιβληστροειδικού εμφυτεύματος περιλαμβάνει αρκετές λειτουργικές μονάδες.



Εικόνα 23: Απεικόνιση του αμφιβληστροειδικού εμφυτευόμενου συστήματος για τη διέγερση των γαγγλιακών κυττάρων.

Το εξωτερικό τμήμα περιλαμβάνει μια υψηλής ταχύτητας κάμερα για να παράγει τις εικόνες. Στέλνει τα δεδομένα σε ένα φορητό κουτί που περιέχει παροχή ενέργειας που κινείται με αναφορτίσιμες μπαταρίες και μια μονάδα επεξεργασίας του σήματος, τον κωδικοποιητή του αμφιβληστροειδή χιτώνα. Αυτός ο κωδικοποιητής χρησιμοποιείται για να εξομοιώνει τις χωρο-χρονικές ιδιότητες των διαφορετικών στρωμάτων του αμφιβληστροειδή χιτώνα και επεξεργάζεται τα σήματα τα σήματα από την κάμερα και παράγει πρότυπα ερεθίσματα για τα γαγγλιακά κύτταρα. Αυτά τα δεδομένα οδηγούνται σε μια τηλεμετρική μονάδα για μετάδοση στο εμφυτευόμενο τμήμα του συστήματος. Μέσα στο μάτι, ένας τηλεμετρικός δέκτης είναι τοποθετημένος σε ένα τεχνητό ενδοφθάλμιο φακό (7 mm διάμετρο) αποκωδικοποιεί τα δεδομένα και τα ηλεκτρόδια θα είναι χωρο-χρονικά επιλεγμένα για την διέγερση των γαγγλιακών κυττάρων.

Η πιο πρόσφατη έρευνα πάνω στα κατανεμημένα νοήμοντα εμφυτεύματα και βιουβριδικά συστήματα, έχει να κάνει σχέση με συνδυασμό μικροσυστημάτων με κύτταρα και ιστούς. Δύο από τις πιο πρόσφατες εφευρέσεις είναι μια κατανεμημένη νευροπρόσθεση για την αποκατάσταση της λειτουργίας των σκελετικών μυών και ένα βιουβριδικό σύστημα για λειτουργική νευρική αποκατάσταση.

5.3.5 Κατανεμημένα Εμφυτεύματα Και Ευφυή Ηλεκτρόδια

Οι περισσότερες νευρικές προσθέσεις αποτελούνται από ένα κεντρικό εμφύτευμα συνδεδεμένο διαμέσου ενός περιορισμένου αριθμού καλωδίων στα ηλεκτρόδια μαγνητοσκόπησης και διέγερσης. Για πολλές εφαρμογές όπως η ικανότητα να πιάσεις κάτι ή να σηκωθείς και να περπατήσεις, θα ήταν καλύτερο να υπάρχει ένας αριθμός κατανεμημένων εμφυτευμάτων τα οποία είναι εμφυτευμένα σε διαφορετικές θέσεις στο σώμα. Είναι προτιμότερο να ελέγχονται αυτά τα εμφυτεύματα χρησιμοποιώντας μια ασύρματη διασύνδεση παρά καλώδια, η οποία θα αυξήσει το επίπεδο της ύπαρξης χειρουργικών περιπλοκών και τον κίνδυνο σπασίματος των καλωδίων. Οι χειρουργικές επεμβάσεις αυξάνουν τον κίνδυνο της μόλυνσης, και οι διαδικασίες στο νωτιαίο μυελό ή στον εγκέφαλο όπως η εμφύτευση ενός διεγέρτη στο εμπρόσθιο τμήμα του ιερού οστού αυξάνει τον κίνδυνο διαρροής του εγκεφαλονωτιαίου υγρού. Για αυτούς τους λόγους, είναι υπό ανάπτυξη ένας σχεδιασμός κατανεμημένων εμφυτευμάτων τα οποία να μπορούν να ελεγχθούν από μια εξωτερική μονάδα ελέγχου.

Εάν χρησιμοποιείται μια μόνο εξωτερική μονάδα για την μετάδοση της ενέργειας και των δεδομένων διαμέσου ενός επαγωγικού συνδέσμου στα διαφορετικά εμφυτεύματα, είναι απαραίτητο να παράγουμε ένα μαγνητικό πεδίο αρκετής δύναμης μέσα από το πηνίο κάθε εμφυτεύματος. Αυτό σημαίνει ότι δύο ή περισσότερα μικρότερα εξωτερικά πηνία ή ένα μεγαλύτερο εξωτερικό απαιτούνται για να παράγουν ένα κατάλληλο μαγνητικό πεδίο. Αυτός ο τύπος συστήματος χρειάζεται μια μεγάλη ποσότητα ενέργειας και δεν είναι βολική για τον ασθενή να την φοράει. Για να λυθεί αυτό το πρόβλημα, μπορεί να παρέχεται ένας "οδηγός" για το μαγνητικό πεδίο.

Δηλαδή το πηνίο του εξωτερικού συστήματος τοποθετείται στη περιοχή της μπροστινής κοιλιακής χώρας για να εξασφαλίσει μια άνετη εγκατάσταση χωρίς να προκαλεί πολύ πίεση στο δέρμα. Ένα εμφυτευόμενο πηνίο τοποθετείται υποδόρια κάτω από το εξωτερικό πηνίο για να διασφαλίσει μια καλή μαγνητική σύζευξη. Το υποδόριο πηνίο συνδέεται με δορυφορικά εμφυτευμένα πηνία διαμέσου καλωδίων. Αυτά τα

δορυφορικά πηνία βρίσκονται κοντά στα ενεργά εμφυτεύματα για να παρέχουν ένα επαγωγικό σύνδεσμο.

Στο άλλο άκρο των εμφυτευμένων διεγερτών, ο αριθμός των καλωδίων συχνά περιορίζει τον αριθμό των ηλεκτροδίων από την μια θέση επαφής στο νεύρο. Εξαιτίας αυτού του περιορισμού, γεννήθηκε η ιδέα ενός ευφυούς ηλεκτροδίου με ενιαία νοημοσύνη. Στη πρώτη σχεδίαση ενός τέτοιου συστήματος που αποτελείται από πρότυπα συναρτησιακά στοιχεία, ένα 18-πολικό υβριδικό ηλεκτρόδιο συνδέθηκε με μια μικρογραφημένη πολυσύνθετη διάταξη κυκλωμάτων που μείωσε τον αριθμό των καλωδίων από δώδεκα σε τέσσερα. Μια τέτοια διάταξη βλέπουμε στην παρακάτω εικόνα:

5.3.6 Βιοϋβριδικά Συστήματα

Ο συνδυασμός μικροσυστημάτων με βιολογικά κύτταρα και ιστούς, γνωστά ως βιοϋβριδικά συστήματα, έχει γίνει μια ενδιαφέρουσα περιοχή έρευνας. Αυτά τα συστήματα έχουν βοηθήσει την αύξηση της κατανόησης των βιοηλεκτρονικών μηχανισμών και την ανάπτυξη νέων αναλυτικών συστημάτων και θεραπειών για ασθένειες, που μέχρι τώρα, δεν ήταν θεραπεύσιμες, για παράδειγμα, οι περιφερικές νευρικές κακώσεις που καταλήγουν σε αδύναμη παράλυση.

Η πρόσφατη έρευνα στα βιοϋβριδικά συστήματα στοχεύει στο να προσφέρει λειτουργική νευρική αποκατάσταση μετά από περιφερικές νευρικές κακώσεις. Η τραυματική κάκωση ενός περιφερικού νεύρου διακόπτει τις μεταδόσεις των βιοηλεκτρικών σημάτων και οδηγεί σε παράλυση και σε εκφυλισμό των ακρωτηριασμένων νευρίτων στο περιφερικό κολοβωμένο νεύρο. Η επούλωση μιας κάκωσης αυτού του τύπου μπορεί να συμβεί κάτω από ευνοϊκές συνθήκες και αφορά την απόφυση των νευρίτων από το άμεσο κολοβωμένο νεύρο, αναπτυσσόμενη κατά μήκος του περιφερικού κολοβωμένου νεύρου, και την επανανεύρωση των επιδιωκόμενων μυών. Για περιπτώσεις που η φυσική ή η νευροχειρουργικής φύσεως (αρωγή) θεραπεία δεν είναι επιτυχής, εμβρυϊκά κύτταρα νωτιαίου μυελού έχουν μεταμοσχευτεί σε ένα σκεύος που είναι φτιαγμένο από ένα κομμάτι νεύρωσης, το οποίο είναι τοποθετημένο στο περιφερικό νευρικό κολόβωμα για να επαναφέρει την λειτουργία του σκελετικού μυός. Ένα επιθυμείται έλεγχος των επανανευρωμένων μυών, τεχνικά συστήματα μπορούν να βοηθήσουν να διεγείρουν ηλεκτρικά τους νευρώνες.

Μια βιουβριδική νευροπρόσθεση που πραγματοποιήθηκε για την αποκατάσταση της λειτουργίας των σκελετικών μυών μετά από περιφερικές νευρικές κακώσεις βλέπουμε παρακάτω.

Η νευρική μικροσκοπική μύλη έχει διάμετρο 2mm και αποτελείται από μια μικροκατασκευασμένη εύκαμπτη δομή από πολυϊμίδιο με μικροηλεκτρόδια και ολοκληρωμένα βιολογικά κύτταρα (‘‘φιλοξενούμενοι’’ νευρώνες και νευρογλοιακά κύτταρα). Αυτό το μικροσύστημα προορίζεται να εμφυτευτεί στο περιφερικό νευρικό κολόβωμα. Οι νευρίτες των ‘‘φιλοξενούμενων’’ νευρώνων θα αναπτυχθούν μέσα από τις οπές του πολυϊμιδικού ηθμού στο περιφερικό νευρικό κολόβωμα για να επανανευρώσουν τον μύ. Σήματα από τους νευρίτες των ‘‘φιλοξενούμενων’’ νευρώνων θα καταγραφούν από τα ηλεκτρόδια δακτυλιοειδής μορφής που περιβάλλουν μερικές από τις οπές στο πολυϊμιδικό ηθμό. Η σύζευξη μεταξύ των ηλεκτρονικών και βιολογικών συστημάτων χρησιμοποιεί μια βιουβριδική προσέγγιση: την σύνδεση των δακτυλιοειδών μικροηλεκτροδίων και νευρίτων από ειδικούς πρότυπους νευρώνες, που κατορθώνουν την σύνδεση στον εστιασμένο μύ. Έτσι, οι ‘‘φιλοξενούμενοι’’ νευρώνες χρησιμεύουν σαν μεσολαβητές για μια μακροπρόθεσμη, λειτουργική σύνδεση μεταξύ των μικροηλεκτροδίων και των προορισμένων μυών.

Η βιοσυμβατότητα σε χρόνιες εμφυτεύσεις έχει αποδειχθεί στο άμεσο νευρικό κολόβωμα ενός ακρωτηριασμένου, δηλαδή, το νευρικό κολόβωμα πάνω από την θέση της κάκωσης. Η ηλεκτροφυσιολογική αξιολόγηση του περιφερικού νεύρου διεξάχθηκε 11 εβδομάδες μετά την εμφύτευση. Έχουν καταγραφεί από τα ηλεκτρόδια στον ηθμό πολλαπλά δυναμικά νευρικής επίδρασης μετά από διέγερση του μύς σε κοντινή περιοχή του νωτιαίου μυελού. Αργότερα, ηλεκτρικό ερέθισμα εκ νέου στα ηλεκτρόδια του ηθμού προκάλεσε την εκδήλωση σωματοαισθητήριων-προκαλούμενων δυναμικών τα οποία καταγράφηκαν με υποδόρια τοποθετημένα ηλεκτρόδια μορφής βελόνας.

Η έρευνα που βρίσκεται σε εξέλιξη θα συγκεντρωθεί στη σύζευξη κυττάρων-ηλεκτροδίων για την παρακολούθηση της κυτταρικής συμπεριφοράς και την διέγερση αναπλασμένων νευρίτων.

6. ΣΥΝΕΝΩΜΕΝΑ ΖΩΝΤΑΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ

Οι μικροκατασκευαστικές τεχνικές που έχουν επιφέρει επανάσταση στην ηλεκτρονική βιομηχανία είναι έτοιμες να κάνουν το ίδιο και στις φαρμακευτικές, βιοτεχνολογικές, και βιοϊατρικών συσκευών βιομηχανίες. Η φωτολιθογραφία, οι τεχνικές χαρακτηριστικής, και οι μέθοδοι εναπόθεσης μπορούν να δημιουργήσουν μεγάλα νούμερα μικροσκοπικών χαρακτηριστικών στα υποστρώματα από πυρίτιο ή γυαλί. Ανάμεσα σε αυτά τα γνωρίσματα βρίσκονται θάλαμοι βιοχημικών αντιδράσεων, κανάλια βιοδιαχωρισμού, διατάξεις βιολογικών μορίων, ολοκληρωμένα μικροηλεκτρονικά, μικροαντλίες και μικροβαλβίδες για τον έλεγχο της κίνησης των υγρών, και πολλά άλλα στοιχεία. Αυτά τα γνωρίσματα μπορούν επίσης να συνδυαστούν για να δημιουργήσουν πλήρως ολοκληρωμένες συσκευές που εκτελούν προετοιμασία του δείγματος, διαχωρισμό, ανίχνευση και/ή ανάλυση, καθώς και χορήγηση φαρμάκων και μηχανικούς αισθητήρες στη φυσιολογική τους θέση. Οι δύο πιο σημαντικές εφαρμογές της μικροκατασκευής στη βιολογία είναι:

- α) το 'genes-on-a-chip' για τη παρακολούθηση του επιπέδου έκφρασης του δυναμικού όλων των γονιδίων στα ανθρώπινα ή διάφορα μοντέλα συστημάτων και οργανισμών ταυτόχρονα και
- β) οι συσκευές τύπου 'lab-on-a-chip' για την εκτέλεση βιοχημείας στους μικροθαλάμους.

Εξίσου ενδιαφέρον είναι η βιοϊατρική χρήση των μικροκατασκευαστικών συσκευών δεν είναι πλέον περιορισμένη σε μη ζωντανά συστήματα, όπως τα genes-on-a-chip και lab-on-a-chip. Πρόσφατες πρόοδοι στη κατανόηση της κυτταρικής συμπεριφοράς στα μικροπεριβάλλοντα κατευθύνονται προς την ανάπτυξη ζωντανών μικροσυσκευών. Η κυτταρική συμπεριφορά επηρεάζεται ή υπαγορεύεται σημαντικά από τα χαρακτηριστικά του τοπικού περιβάλλοντος: τη παρουσία και θέση άλλων κυττάρων, τη χημεία, σύνθεση και ιδιοσυστασία της εξωκυτταρικής μεσοκυττάριας ουσίας, και τη σύνθεση και χρονική διακύμανση των διαλυτών παραγόντων.

Η πρωταρχική πρόκληση για τη βιολογία κυτταρικών στελεχών είναι ο καθορισμός των βιολογικών και φυσικών προτύπων που οδηγούν στη διαφοροποίηση αυτών των κυττάρων σε λειτουργικές ιστικές μονάδες. Οι μικροκατασκευαστικές συσκευές καλλιέργειας κυττάρων θα παρέχουν μέσα για μηχανικά ελεγχόμενα κυτταρικά περιβάλλοντα, περιλαμβάνοντας μικροϊδιοσυγκρασία, χημεία, και φυσικές δυνάμεις, για να βοηθήσουν στη παραγωγή πληροφοριών για τις συνθήκες που οδηγούν στη διαφοροποίηση των κυτταρικών στελεχών σε λειτουργικές ιστικές μονάδες. Οι

μικροκατασκευαστικές δομές χρησιμοποιούνται επίσης για τη μέτρηση μηχανικής ατομικών κυττάρων σε ένα πληθυσμό κυττάρων διέρχονται μέσα από μικροφραγμούς. Οι ίδιες έννοιες μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για το διαχωρισμό κυττάρων, βασισμένο σε σχήμα και μέγεθος, ή βασισμένο στην έκφραση διαφόρων επιφανειακών υποδοχέων, επιστρέφοντας τους μικροφραγμούς με μόρια διαφορετικού κυτταρικού δεσμού. Μια άλλη πρόσφατη καινοφανής εφαρμογή των μικρορευστομηχανικών συστημάτων είναι η ανάπτυξη του επονομαζόμενου 'reproductive chip'. Καθώς αυτή η τεχνολογία εξελίσσεται, θα γίνει πιθανή η μετακίνηση θηλαστικών ωοκυττάρων και εμβρύων μέσω διαφόρων μικροδιαύλων για την εκτέλεση ενός πλήθους διαδικαστικών βημάτων, όπως η μικροέγχυση σπέρματος για τη γονιμοποίηση ενός ωοκυττάρου με σκοπό τη βελτίωση της εμβρυϊκής επώασης, χωρίς την ανάγκη διαδικασιών βραδυκίνητων μεθοδεύσεων που απαιτεί μια κλινική διάταξη. Οι βιοαισθητήρες που ενσωματώνουν ζωντανά κύτταρα έχουν το επιπρόσθετο πλεονέκτημα της γρήγορης παρακολούθησης της παρουσίας τοξικών μορίων ή περιβαλλοντικών ρυπαντικών ουσιών, περιλαμβάνοντας βιοχημικούς και χημικούς παράγοντες. Η μικρο-διαμόρφωση παρέχει την ικανότητα της σύστασης ενός κυτταρικού δικτύου, όπως οι νευρώνες, για την έρευνα των επιπτώσεων που έχουν οι ρυπαντικές ουσίες στην ομαδική συμπεριφορά των κυττάρων. Οι βιοαισθητήρες που βασίζονται σε κύτταρα επιτρέπουν τη παρακολούθηση της φυσιολογικής συμπεριφοράς ενός αναλυτή. Καθώς μπαίνουμε στη μεταγονιδιακή περιοχή στην οποία έχει συγκεντρωθεί ένα τεράστιο ποσό δεδομένων που αφορούν το περίπλοκο γενετικό μηχανισμό, μπαίνουμε στην ευθεία για να αποκρυπτογραφήσουμε τη πολυπλοκότητα τις ιεραρχικές αντιδράσεις που κρατούν ένα οργανισμό σε ομοιόσταση. Η καλύτερη προσέγγιση για να κατορθώσουμε αυτό το σκοπό είναι ολοκρατική, παρά γενικευμένη, προσέγγιση που ελέγχει τη συμπεριφορά των κυττάρων και των γονιδίων τους σε πραγματικό χρόνο κάτω από πολλαπλές συνθήκες, όπως είναι ασθένειες, τραύματα, ανάπτυξη κλπ. Τα κυτταρικά τσιπ αναπτύσσονται για να παρακολουθούν ταυτόχρονα τη συμπεριφορά των ζωντανών κυττάρων τα οποία εκθέτονται σε μια πληθώρα περιβαλλοντικών συνθηκών χρησιμοποιώντας μικρορευστές και μικροσυνδυαστικές τεχνικές. Τα ίδια συστήματα θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την επιτήρηση της κυτταρικής μεταβολικής δραστηριότητας. Έτσι, είναι προβλεπόμενο ότι οι επιστήμονες σύντομα θα είναι ικανοί να παρατηρούν ταυτόχρονα τα επίπεδα έκφρασης των γονιδίων και το μεταβολισμό τεράστιων παράλληλων κυτταρικών διατάξεων. Οι αισθητήρες που είναι βασισμένοι σε μεγάλο πλήθος παράλληλα κύτταρα θα χρησιμοποιούνται επίσης για να ελέγχουν μεγάλες ποσότητες φαρμάκων γρήγορα, κάτι που θα επιταχύνει δραματικά τη διαδικασία

ανακάλυψης φαρμάκων, και που θα βασίζεται πολύ λιγότερο σε πρότυπα ζώων. Αυτά τα συστήματα θα εμπεριέχουν αναπόφευκτα γενετικά κατασκευασμένα κύτταρα για τον έλεγχο προφίλ έκφρασης γονιδίων σε απόκριση της έκθεσης σε διάφορα φάρμακα και τοξίνες.

Ο κλάδος αυτός της τεχνολογίας θα περιλαμβάνει επίσης πολλαπλούς κυτταρικούς τύπους για τη διερεύνηση περίπλοκων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των κυττάρων από διάφορους ιστούς. Η ικανότητα της χρήσης ζωντανών κυττάρων θα προάγει επίσης δραματικά το βιολογικό περιεχόμενο της προβολής. Είναι ήδη διαθέσιμη μια μεγάλη βιβλιοθήκη μοριακών καθετήρων για τη παρακολούθηση της κυτταρικής λειτουργίας, της γονιδιακής έκφρασης, των πρωτεϊνικών επιπέδων, και των υποκυτταρικών δομών. Είναι προβλεπόμενο ότι ένα καλό τμήμα προκλινικών και κλινικών δοκιμών θα εκτελούνται σύντομα χρησιμοποιώντας τις επανομαζόμενες συσκευές τύπου ‘mouse-on-a-chip’ ή ‘human-on-a-chip’. Αυτές οι εξειδικευμένες μικροσυσκευές θα περιέχουν μικροκατασκευασμένες με μηχανικό τρόπο μονάδες ιστών, συνδεδεμένες μεταξύ τους με πολύπλοκα δίκτυα συστημάτων μικρορευστομηχανικής. Τα συνδυαστικά συστήματα μικρορευστομηχανικής θα ρυθμίζουν επίσης με ακρίβεια τη σύνθεση και συγκέντρωση των φαρμάκων που θα εξετάζονται και θα μειώνουν το κόστος της φαρμακευτικής ανάπτυξης στη φαρμακευτική βιομηχανία. Αυτή η συνοπτική γενική επισκόπηση περιγράφει μερικά από τα βασικά πλεονεκτήματα και προκλήσεις που σχετίζονται με την ερχόμενη συγχώνευση της μικροκατασκευαστικής τεχνολογίας και των ζωντανών κυττάρων και μιας δειγματοληψίας ευρείας γκάμας συναρπαστικών ευκαιριών και υποσχέσεων στη βιολογία και την ιατρική.

6.1 ΤΙ ΕΙΝΑΙ ΕΝΑ ΒΙΟΤΣΙΠ (BIOCHIP);

Βιοτσιπ είναι μια συλλογή μικρογραφημένων θέσεων εξέτασης (μικροσειρές, μικροδιατάξεις) ταξινομημένες σε ένα στερεό υπόστρωμα που επιτρέπει την εκτέλεση πολλών τεστ την ίδια στιγμή με σκοπό τη επίτευξη υψηλότερου συνολικού όγκου έργου και ταχύτητας. Τυπικά, η επιφανειακή περιοχή ενός βιοτσιπ δεν είναι μεγαλύτερη από ένα νύχι. Όπως ένα τσιπ ηλεκτρονικού υπολογιστή μπορεί να εκτελέσει εκατομμύρια μαθηματικών πράξεων σε ένα δευτερόλεπτο, ένα βιοτσιπ μπορεί να εκτελέσει χιλιάδες βιολογικές αντιδράσεις, όπως είναι η αποκρυπτογράφηση των γονιδίων, σε λίγα δευτερόλεπτα. Το τσιπ ηλεκτρονικού υπολογιστή εκτελεί λογικές πράξεις σε σειρές ηλεκτρονικών μηδενικών και μονάδων. Το βιοτσιπ εκτελεί βιοχημικές αντιδράσεις. Το πρώτο είναι κατασκευασμένο από πυρίτιο. Το βιοτσιπ μπορεί να κατασκευαστεί σε μια

ολισθητική γυάλινη επιφάνεια, ή ακόμα μέσα σε πορώδες τζέλ. Το τσιπ ενός υπολογιστή μπορεί να εξυπηρετήσει μια τεράστια γκάμα σκοπών, κάτι που εξαρτάται από τις οδηγίες που επιβάλλονται απ' έξω. Τα πρόσφατα βιοτσιπς είναι το κάθε ένα σχεδιασμένο να εκτελεί αποκλειστικά μια συγκεκριμένη λειτουργία, όπως είναι ο προσδιορισμός μιας μετάλλαξης σε ένα γονίδιο ή η ανίχνευση ενός βακτηριακού αντιγόνου σε ένα δείγμα νερού. Ένα βιοτσιπ που κατασκευάστηκε να εκπληρώνει οποιοδήποτε τέτοιο σκοπό δεν μπορεί να προγραμματιστεί για κάποιον άλλον. Μερικά βιοτσιπς μπορούν να επαναχρησιμοποιηθούν για λίγες φορές, ενώ άλλα όχι.

Ένα γενετικό βιοτσιπ είναι σχεδιασμένο να 'παγώνει' στη στιγμή τις δομές πολλών μικρών κλώνων του DNA (δεσοξυριβονουκλεϊκό οξύ), τη βασική χημική εντολή που καθορίζει τα χαρακτηριστικά ενός οργανισμού. Χρησιμοποιείται σαν ένα είδος 'σωλήνα δοκιμών' για αληθινά χημικά δείγματα. Ένα ειδικά σχεδιασμένο μικροσκόπιο μπορεί να προσδιορίσει που διασταυρώνεται το δείγμα με τους κλώνους του DNA πάνω στο βιοτσιπ. Τα βιοτσιπς βοήθησαν στη δραματική επιτάχυνση της αναγνώρισης των υπολογισμένων 80.000 γονιδίων στο ανθρώπινο DNA, μια παγκόσμια ερευνητική συνεργασία που βρίσκεται υπό εξέλιξη, και είναι ως Σχέδιο Ανθρώπινου Γονιδιώματος (Human Genome Project). Το μικροτσιπ περιγράφεται σαν ένα είδος λειτουργίας 'παγκόσμιας έρευνας' που μπορεί να βρεί γρήγορα την αλληλουχία του DNA.

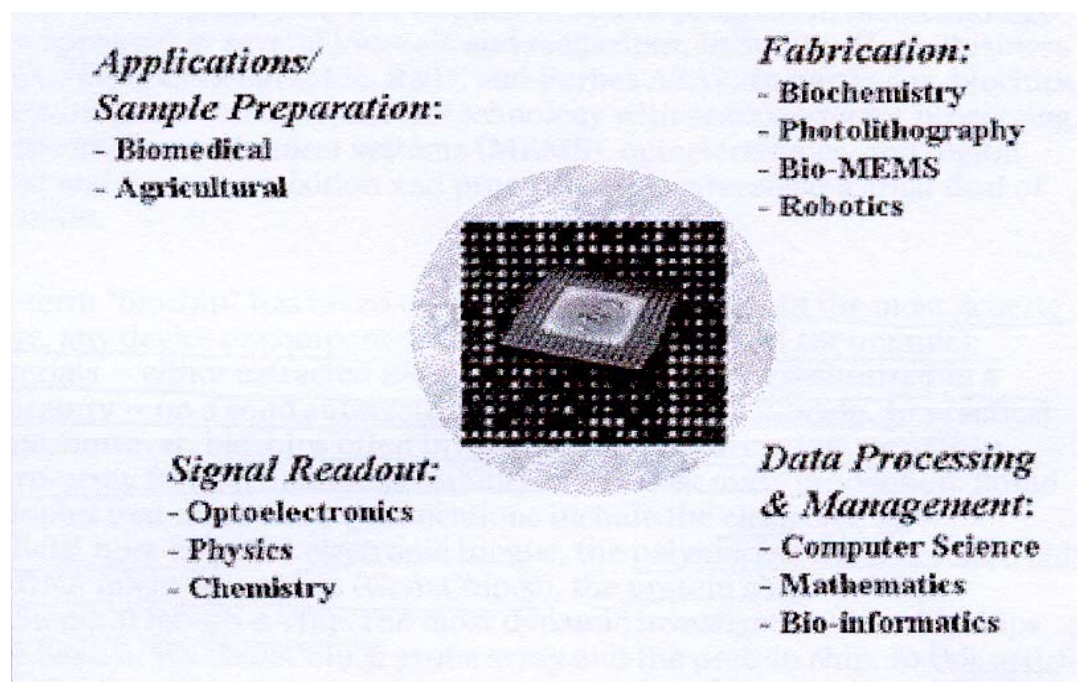
Εκτός από τις γενετικές εφαρμογές, το βιοτσιπ χρησιμοποιείται στη τοξικολογική, πρωτεϊνική, και βιοχημική έρευνα. Τα βιοτσιπς μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για τη γρήγορη ανίχνευση χημικών παραγόντων που χρησιμοποιούνται σε βιολογικούς πολέμους έτσι ώστε να ληφθούν αμυντικά μέτρα.

6.1.1 Συνοπτικά Παραδείγματα

Είδαμε λοιπόν ότι τα βιοτσιπς συνδυάζουν την τριάδα των μικρο-ηλεκτρο-μηχανικών, βιοχημικών, και φωτονικών τεχνολογιών. Ο όρος βιοτσιπ για μια σειρά εννοιών. Στη πιο γενική έννοια, οποιαδήποτε συσκευή ή εξάρτημα που περιλαμβάνει βιολογικά (ή οργανικά) υλικά- είτε είναι αποσπώμενα από βιολογικά είδη είτε παραγόμενα συνθετικά σε εργαστήριο- σε στερεό υπόστρωμα μπορεί να θεωρηθεί ως βιοτσιπ. Σε πρακτικούς όρους, ωστόσο, τα βιοτσιπς συχνά εμπεριέχουν αμφότερες τη μικροσκοπικοποίηση, συνήθως σε μορφή μικροδιάταξης, και τη δυνατότητα της μαζικής παραγωγής χαμηλού κόστους. Μερικά παραδείγματα που απαντούν αυτές τις προϋποθέσεις περιλαμβάνουν την ηλεκτρονική μύτη ή τσιπ τεχνητής μύτης, την ηλεκτρονική γλώσσα, το τσιπ για τις αντιδράσεις της αλυσίδας της πολυμεράσης, το τσιπ μικροδιάταξεων για το DNA

(GeneChip), το πρωτεϊνικό τσιπ, και το βιοχημικό lab-on-a-chip. Οι πιο δυναμικές έρευνες στα βιοτσιπ έχουν γίνει στο GeneChip και στο πρωτεϊνικό τσιπ.

Ένα GeneChip αναφέρεται σε μια δισδιάστατη σειρά κυττάρων μικρής αντίδρασης (καθένα της τάξεως των 100x100μm) που έχει χαλκευτεί σε στερεό υπόστρωμα. Το στερεό υπόστρωμα μπορεί να είναι wafer πυριτίου, λεπτό στρώμα γυαλιού, πλαστική ή νάιλον μεμβράνη. Σε κάθε αντιδραστικό κύτταρο, ακινητοποιούνται τρισεκατομμύρια πολυμερισμένων μορίων από τεμάχιο μονόκλωνου DNA ενός συγκεκριμένου είδους. Τα τεμάχια του DNA μπορούν είτε να είναι κοντές (περίπου 20 με 25) σειρές βάσεων (A,T,G, και C) ή μακρύτεροι κλώνοι συμπληρωματικού DNA (cDNA). Η συγκεκριμένη ακολουθία βάσεων (για παράδειγμα, CTATGC...) σε κάθε κύτταρο είναι προεπιλεγμένη ή σχεδιασμένη στηριζόμενη στη προοριζόμενη εφαρμογή. Οι γνωστές αλληλουχίες τεμαχίων μονόκλωνου DNA που ακινητοποιούνται στο υπόστρωμα συχνά καλούνται πρόβoλοι (probes). Όταν άγνωστα τεμάχια δειγμάτων μονόκλωνου DNA, που καλούνται στόχος, αντιδρούν (ή διασταυρώνονται) με τους πρόβoλους στο τσιπ, σχηματίζονται τεμάχια δίκλωνου DNA εκεί όπου ο στόχος και ο πρόβoλος είναι συμπληρωματικοί σύμφωνα με το κανόνα των ζευγών των βάσεων (η A ζευγαρωμένη με τη Τα, και η G με τη C). Για να διευκολύνουμε τη διάγνωση ή ανάλυση στο διασταυρωμένο τσιπ, τα δείγματα του στόχου συχνά χαρακτηρίζονται με ετικέτες, όπως είναι μόρια που φθορίζουν, βαφές, ή μόρια ραδιο-ισοτόπων. Όταν οι στόχοι περιέχουν περισσότερους



Εικόνα 24: Τα συστατικά και οι σχετιζόμενοι τεχνικοί τομείς που εμπλέκονται στη τεχνολογία των βιοτσιπ.

από ένα τύπος δειγμάτων, το καθένα χαρακτηρίζεται με τη δική του ξεχωριστή ετικέτα. Εξαρτώμενο από το μέγεθος της διάταξης, αυτό το είδος DNA τσιπ παρέχει μια πλατφόρμα όπου ο άγνωστος στόχος ή στόχοι μπορούν πιθανά να αναγνωριστούν με πολύ υψηλή ταχύτητα και υψηλό συνολικό όγκο έργου συνδυάζοντας δεκάδες χιλιάδες διαφορετικού τύπου προβόλους μέσω υβριδοποίησης εκ παραλλήλου.

Τα συστατικά που εμπλέκονται στην έρευνα και ανάπτυξη της τεχνολογίας των βιοτσιπ, και που συνδυάζονται με τεχνικές αγωγές φαίνονται στη παρακάτω εικόνα.

Η τεχνολογία των βιοτσιπ είναι φυσικά διεπιστημονική: είναι απαραίτητη μια συνεργασία επιστημόνων και μηχανικών διαφορετικών τομέων γνώσεων για να ωθήσουν αυτή τη καινοφανή τεχνολογία από μια απλή εργαστηριακή περιέργεια σε πρακτικές συσκευές και συστήματα.

Σχεδόν όλες οι εφαρμογές της βιοτεχνολογίας ή της γενετικής μηχανικής που βασίζονται σε πληροφορίες σχετικές με τις ακολουθίες του DNA θα ωφεληθούν από τη τεχνολογία του GeneChip. Πρόσφατη έρευνα και ανάπτυξη αυτής της τεχνολογίας έχει επικεντρωθεί σε εφαρμογές όπως η πρόγνωση και διάγνωση των γενετικών ασθενειών, ο σχεδιασμός φαρμάκων, οι δοκιμές αποτελεσματικότητας των φαρμάκων, η τοξικολογία, και τα γενετικά γεωργικά προϊόντα.

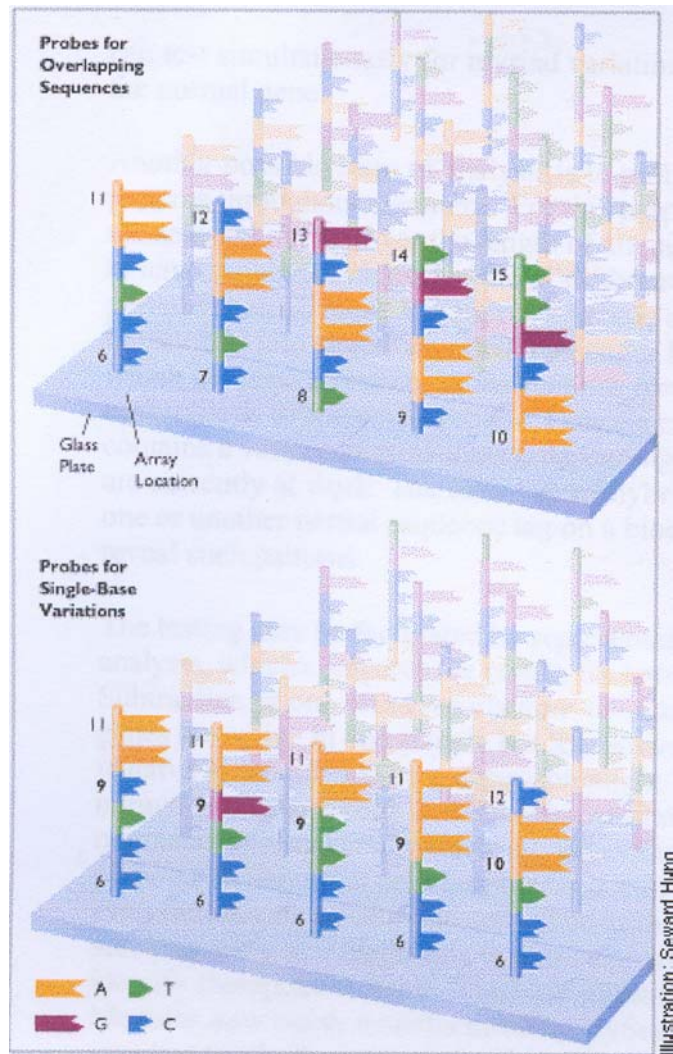
6.2 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΤΩΝ ΤΣΙΠ

Έχουν προκύψει τρεις γενικές κατηγορίες βιοτσιπ: διατάξεις DNA βασισμένες σε πλάκες (plate-based DNA arrays), διατάξεις DNA βασισμένες σε τζέλ (gel-based DNA arrays) και τα βιοτσιπ μικρορευστομηχανικής (microfluidic biochips). Τα δύο πρώτα χρησιμοποιούν ουσιαστικά τις ίδιες αρχές για να κατορθώσουν τον ίδιο σκοπό. Σε ένα υπόστρωμα όπως είναι μια γυάλινη πλάκα ή ένα πορώδες τζέλ, ο κατασκευαστής ακινητοποιεί τους προβόλους του βιοτσιπ, ένα μεγάλο σύνολο μονόκλωνων νουκλεϊνικών οξέων, καθένα από τα οποία μεταφέρει μια γνωστή γενετική ακολουθία. Στη πλάκα, για παράδειγμα, οι κλώνοι είναι καθέτως μπηγμένοι, ο ένας δίπλα στον άλλο σε ένα ευθύγραμμο πλέγμα.

Στη συνέχεια προστίθεται ένα δείγμα προς εξέταση. Θα μπορούσε να είναι DNA απομονωμένο (και διαχωρισμένο σε μονούς κλώνους) από ιστό, τροφή, έδαφος, αέρα, ή νερό, η σύνθεση του οποίου είναι άγνωστη. Σε ορισμένες θέσεις μέσα στο πλέγμα, συμβαίνουν διασταυρώσεις. Η ανάγνωση της εξόδου του βιοτσιπ είναι στην ουσία μια λίστα αυτών των περιπτώσεων. Κάθε περίπτωση κατοχυρώνει τη ταυτότητα ενός μικρού ζεύγους του κώδικα του άγνωστου DNA. Η τοποθεσία του ζεύγους μέσα στο DNA

παραμένει ακαθόριστη. Οι πρόβολοι, ωστόσο, έχουν επιλεχτεί για την εξέταση αλληλεπικαλυμμένων ακολουθιών. Έτσι όταν τα δεδομένα του υβριδισμού ρυθμίζονται για μέγιστη αλληλοεπικάλυψη (από το λογισμικό ενός υπολογιστή), μπορεί να συναχθεί η ταυτότητα μιας πλήρους ακολουθίας.

Εικόνα 25: Το βιοτσιπ σειρών DNA είναι στην ουσία μια μήτρα περιορισμένου μήκους, ακινητοποιημένων, μονόκλωνων νουκλεϊνικών οξέων, κάθε ένα με μια προκαθορισμένη θέση στη σειρά. Από το σχήμα των δεσμών από το ένα στο άλλο ανάμεσα σε αυτά τα οξέα, ένα δείγμα DNA άγνωστης σύνθεσης ίσως να αποκαλύψει την ίδια του την σύνθεση. Για μια συγκεκριμένη μεγάλου μήκους ακολουθία, το βιοτσιπ απαιτεί σειρές με αλληλοεπικαλυπτόμενες ακολουθίες (στο πάνω τμήμα της εικόνας). Αυτές που φαίνονται είναι σχεδιασμένες να ταιριάζουν τις βάσεις 6 με 11, 7 με 12 κλπ. Για την δοκιμή όλων των πιθανών παραλλαγών των ελεύθερων βάσεων μιας φυσιολογικής ακολουθίας, χρειάζεται μια διαφορετική περίσσεια (στο κάτω τμήμα). Οι σειρές των ακολουθιών που απεικονίζονται συνδυάζουν την 6 στην 11 ακολουθία εκτός από το να έχουν όλες τις πιθανές βάσεις στην θέση 9. Επίσης ελέγχουν για διαγραφή της βάσης 9, δεδομένου ότι η τελευταία σειρά αποτελείται από τις βάσεις 6 με 12 με την ένατη να λείπει. Για απλότητα, επίσης, φαίνεται μια μόνο σειρά από κάθε τύπο. Σε ένα πραγματικό βιοτσιπ, ακινητοποιούνται πολλές πανομοιότυπες σειρές νουκλεϊκών οξέων σε κάθε θέση της διάταξης.



Τα επίκαιρα βιοτσιπ έχουν δεκάδες χιλιάδες προβόλους, ο καθένας με μήκος των 10 με 15 βάσεων. Μια τέτοια σειρά είναι επαρκής για την εξέταση ενός ξεχωριστού γονιδίου, όλου ή τμήματος του μήκους του για παραλλαγές μιας μόνο βάσης από τη συνηθισμένη ακολουθία του γονιδίου. Συγκεκριμένα, τα GeneChips ανιχνεύουν παραλλαγές μιας μόνο βάσης στα ανθρώπινα γονίδια BRCA1 και BRC2 (σχετιζόμενα με το καρκίνο του στήθους), p53 (γονίδιο καταστολής όγκων μεταλλαγμένο σε πολλές μορφές καρκίνου), και P450 (κωδικοποιεί ένα βασικό ηπατικό ενζυμικό σύστημα που μεταβολίζει φάρμακα). Άλλα GeneChips αναλύουν το γονιδίωμα του HIV (ιός της ανθρώπινης ανοσο-ανεπάρκειας) για παραλλαγές εντός του κώδικα της ιογενούς πρωτεΐνης και της

ανάστροφης τρανσκριπτάσης. Ο σκοπός είναι να προβλέψουμε τις φαρμακευτικές αντοχές ενός δεδομένου ιογενούς στελέχους ενός ασθενούς.

Οι πρόβολοι στα βιοτσιπ σειρών DNA χρειάζονται για να επικαλύψουν το μήκος των εξεταζόμενων γονιδίων. Για την ανίχνευση παραλλαγών μονών βάσεων, πρόσθετος πλεονασμός. Για αυτό το σκοπό, οι πρόβολοι παρέχονται σε σετ των πέντε, στο οποίο οι πρόβολοι είναι πανομοιότυποι μεταξύ τους εκτός από μια περιοχή μόνο κατά μήκος του μήκους τους, όπου ένας πρόβολος εξετάζεται για την A, ο δεύτερος για την Tα, ο τρίτος για τη G, ο τέταρτος για τη C, και ο πέμπτος για κανένα νουκλεοτίδιο. Στην ουσία, λοιπόν, ένα τέτοιο βιοτσιπ δεν διεξάγει πραγματικά ακολουθιακές αντιδράσεις. Αντί γι' αυτό, εξετάζοντας ένα συγκεκριμένο γονίδιο, μπορεί να εξετάσει ταυτόχρονα μυριάδες παραλλαγές στο φυσιολογικό γονίδιο.

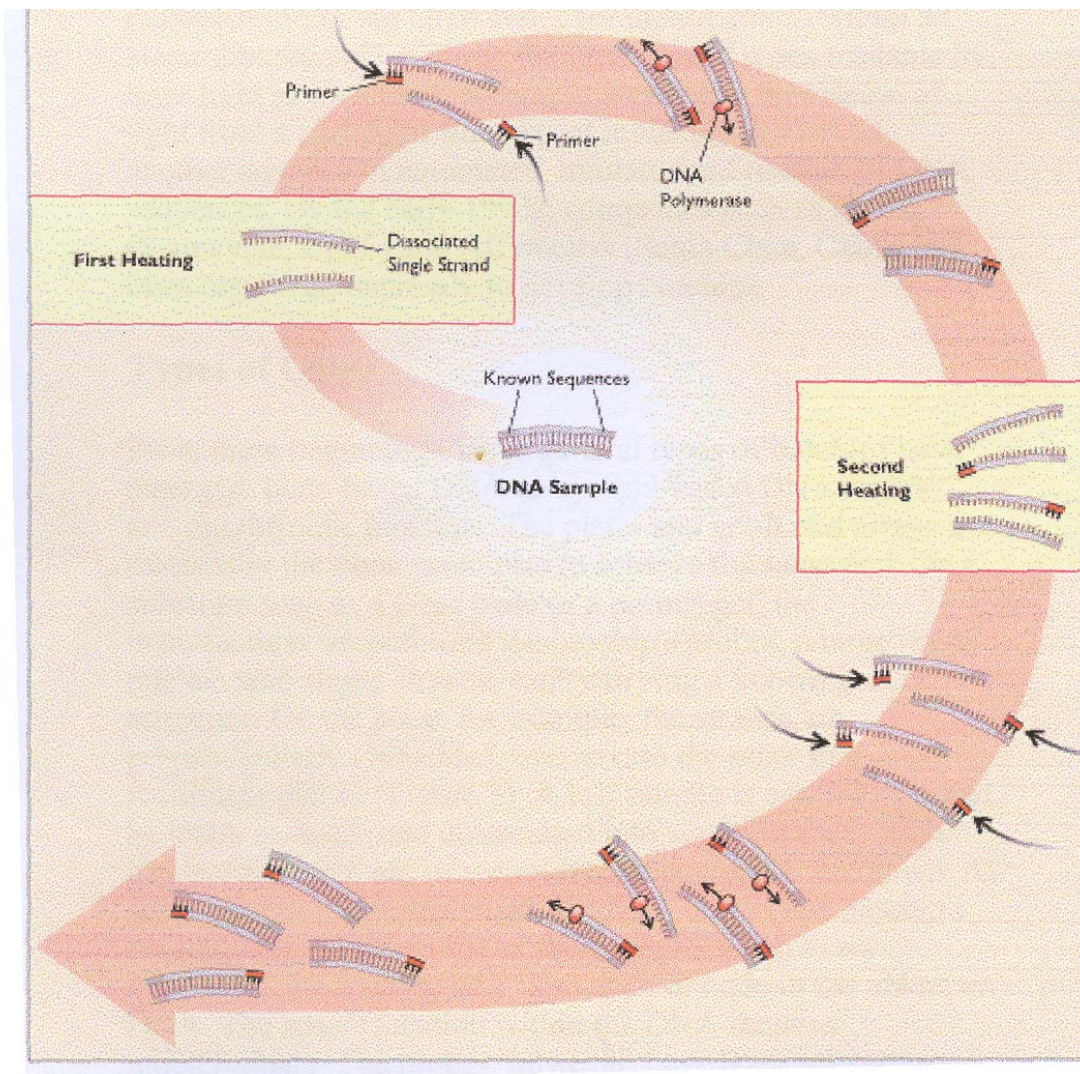
Μια άλλη πιθανή μορφή ανάλυσης είναι να διερευνήσουμε τα σχήματα της γονιδιακής έκφρασης απ' την αρχή μέχρι το τέλος ενός γονιδίου. Για αυτό το σκοπό, οι πρόβολοι επιλέγονται να μην καλύπτουν το μήκος ενός ατομικού γονιδίου αλλά να έχουν χαρακτηριστικές ακολουθίες διαφορετικών γονιδίων. Οποτεδήποτε ένα γονίδιο είναι ενεργό, κ κώδικας του αντιγράφεται σε μονόκλινα αγγελιοφόρα μόρια RNAs, μέσω των οποίων το γονίδιο μεταδίδει τις εντολές του για τη κυτταρική βιοσύνθεση μιας συγκεκριμένης πρωτεΐνης. Συνεπώς το κυτόπλασμα ενός κυττάρου περιέχει μια ποικιλία αγγελιοφόρων, κάτι που εξαρτάται από το ποια γονίδια κατά τη παρούσα περίοδο σε έργο. Οι διασταυρώσεις των αγγελιοφόρων με μια ή άλλη χαρακτηριστική τμηματική αλληλουχία σε ένα βιοτσιπ μπορεί να εξυπηρετήσει στη αποκάλυψη τέτοιων σχημάτων.

Η δοκιμή μπορεί να διευκολυνθεί με ανάλυση των αντιπροσωπευτικών διαφορών, που συνδυάζει τα αποτελέσματα δύο δειγμάτων ιστών. Η αφαίρεση του ενός συνόλου αποτελεσμάτων από το άλλο δείχνει ποια γονίδια είναι ενεργά στο ένα δείγμα αλλά λιγότερο ενεργά ή εντελώς ανενεργά στο άλλο. Η σύγκριση μπορεί να είναι μεταξύ φυσιολογικών και καρκινικών κυττάρων, ή μεταξύ μεταστατικών και μη μεταστατικών καρκίνων. Με αυτό τον τρόπο, η εκτίμηση μπορεί να εντοπίσει με ακρίβεια έναν ανώμαλο κυτταρικό μηχανισμό να συμβαίνει κυρίως ή αποκλειστικά σε άρρωστα κύτταρα. Η εκτίμηση μπορεί έτσι να εξυπηρετήσει όχι μόνο σαν διαγνωστικό μέσο αλλά επίσης σαν μέσο αναγνώρισης θεραπευτικών στόχων.

Ο τύπος των βιοτσιπ που εναπομένει, το τσιπ μικρορευστομηχανικής, είναι διαφορετικός από το προηγούμενο. Αντί να παρέχει προβόλους νουκλεϊνικού οξέος, προσφέρει κανάλια μέσω των οποίων μπορούν να ρέουν τα υγρά, τυπικά κάτω από την ώθηση ενός εφαρμοσμένου ηλεκτρικού πεδίου. Επίσης επιτρέπει τη μίξη των υγρών,

τυπικά σε ποσότητες νανολίτρων. Δύο υγρά μπορεί, για παράδειγμα, μπορεί να συγκλίνουν κατά μήκος των βραχέων βραχιόνων ενός συνόλου καναλιών σε σχήμα Υ. Εκεί όπου συναντούνται, συμβαίνει μια αντίδραση, και τα προϊόντα ρέουν κάτω το άκρο του Υ, για να εντοπιστούν στο μακρινό άκρο του καναλιού. Εναλλακτικά, το προκύπτων υγρό μπορεί να συναντήσει ένα δεύτερο αντιδραστήριο επιδιδόμενο σε μια επακόλουθη συνένωση και να υποβληθεί σε παραπέρα αντίδραση.

Τα υγρά μπορούν να είναι διαλύματα νουκλεϊνικών οξέων, τα οποία, όντας αρνητικά φορτισμένα, είναι υψηλής καταλληλότητας για προώθηση από ηλεκτρικά πεδία. Πράγματι, τέτοια ώθηση θέτει την ηλεκτροφόρηση με τζέλ ουσιαστική για επίκαιρες μεθόδους ανάλυσης της αλληλουχίας του DNA. Κατ' αρχήν, επομένως, η μικρορευστομηχανική τεχνολογία θα μπορούσε από μόνη της να άγει στην ανάλυση



Εικόνα 26: Η ενίσχυση του DNA με PCR (polymerase chain reaction) αποδεικνύει την υψηλή ιδιαιτερότητα των αλληλεπιδράσεων των κλώνων νουκλεϊκών οξέων. Η μέθοδος θέτει σε εφαρμογή κυκλική θέρμανση και ψύξη σε ένα δείγμα δίκλωνου DNA, στην παρουσία μονόκλωνων ουσιών πρώτης επίχρυσης (primers) και μιας πολυμεράσης επιμήκυνσης του DNA. Κατά την διάρκεια κάθε

θέρμανσης, όλοι οι διπλοί κλώνοι διαχωρίζονται. Κατά την διάρκεια κάθε ψύξης, οι primers δεσμεύονται στους χωριστούς κλώνους, εφ' όσον το DNA έχει αλληλουχίες χημικά συμπληρωματικές σε αυτές των primers. Η πολυμεράση τότε μπορεί να ολοκληρώσει την αποκατάσταση των διπλών κλώνων. Η απεικόνιση δείχνει έναν ολοκληρωμένο πρώτο κύκλο, ο οποίος φτιάχνει δύο αντίγραφα του αρχικού DNA, και έπειτα ένα δεύτερο κύκλο, ο οποίος φτιάχνει τέσσερα αντίγραφα από δύο. Η PCR σύντομα θα είναι εκτελέσιμη από τα βιοτσιπς.

της ακολουθίας του DNA. Μπορεί επίσης να οδηγήσει σε PCR ενίσχυση του DNA. Προς τέτοιους στόχους, γίνονται προσπάθειες να επινοηθούν βιοτσιπς που θα ελέγχουν όχι μόνο τις ροές των αντιδραστηρίων αλλά επίσης τη θερμοκρασία (πχ τις περιοδικές θερμάνσεις και ψύξεις που απαιτούνται για την PCR)

Οι ερευνητές ονειρεύονται ένα βιοτσιπ που θα μπορεί να μεγεθύνει το DNA και να προσδιορίζει την αλληλουχία του ή να το υποβάλλει σε άλλες δοκιμές.

Τα νουκλεϊκά οξέα δεν είναι, ωστόσο, οι μόνες πιθανές ουσίες που ελέγχονται από ένα τσιπ μικρορευστομηχανικής. Για παράδειγμα, μπορούν να διερευνηθούν και οι πρωτεΐνες. Έτσι η μικρορευστομηχανική τεχνολογία μπορεί να ελέγξει κατά πόσο το αίμα ενός ασθενή περιέχει ένα συγκεκριμένο αντιγόνο ή κατ'ελάχιστον ένα αντιγόνο ενώνεται με μια συγκεκριμένη πρωτεΐνη. Ανάμεσα σε τωρινούς τύπους βιοτσιπ, τα μικρορευστομηχανικά τσιπ είναι τα μόνα που είναι ήδη ικανά για τέτοιες λειτουργίες. Ωστόσο, οι διατάξεις που βασίζονται σε τζέλ μπορεί σύντομα να γίνουν ικανές για μη DNA εφαρμογές. Μια πιθανότητα που ήδη επιδιώκεται είναι μια πρωτεϊνική διάταξη σχεδιασμένη για την ανάλυση της δραστηριότητας ενός ενζύμου, ή της αλληλεπίδρασης ενός φαρμάκου με προοριζόμενους (και απρομελέτητους) στόχους, ή των ιδιαιτεροτήτων ενός αντιγόνου. Τέτοιες αναλύσεις μπορεί να εξυπηρετήσουν όχι μόνο διαγνωστικές εξετάσεις αλλά επίσης την ανάπτυξη των φαρμάκων.

6.3 NANOTEΧΝΟΛΟΓΙΑ

6.3.1 Εισαγωγή

Η Μητέρα Φύση είναι άριστη νανοτεχνολόγος και αυτό το βλέπουμε στο ότι το γενετικό υλικό (DNA) να αυτοσυγκεντρώσει μηχανισμούς σε νανοκλίμακα και να αποθηκεύσει Gbits πληροφοριών σε ένα μόνο κύτταρο. Για να τιθασεύσουμε αυτή την ενέργεια για νέες εφαρμογές στη νανοτεχνολογία χρειαζόμαστε ένα νανο/ βιο μόριο στη μακροδιασύνδεση.

Η νανοτεχνολογία έχει εφαρμογές σε:

α) Χημικά εργοστάσια σε ένα τσιπ

-Εκατομμύρια εφικτά βήματα σύνθεσης

- Θα μπορούσαν να αντικαταστήσουν τη σύνθεση εξετάσεων σε δοκιμαστικό σωλήνα
- β)DNA τσιπς
- Γονιδιωματικά
 - Προφίλ μονο-νουκλεοτιδικού πολυμορφισμού
 - Πρωτεϊνικά
- γ)Νανο-συναρμολόγηση
- ‘Πάντρεμα’ προσεγγίσεων στη νανοτεχνολογία
 - Μόριο προς μόριο κατασκευή νέων νανο-δομών

6.3.2 Νανοαντλίες Για Προγραμματιζόμενα Βιοτσιπς

Μια πρωτότυπη τεχνολογία ενσωματώνει αντλίες και βαλβίδες χωρίς κινούμενα μέρη πάνω στην επιφάνεια ενός τσιπ. Χρησιμοποιώντας αυτά τα οικοδομήματα που μπορούν να συνδυαστούν με ένα συγκεκριμένο τρόπο, οι βιοχημικές αντιδράσεις στο τσιπ μπορούν να ελεγχθούν ηλεκτρονικά.

Εντούτοις, η συνέχιση της μικροσκοπικοποίησης απαιτεί ένα μεγάλο βήμα:

Τη διάβαση του ορίου μεταξύ του ‘μακρο’ και ‘μικρο’. Εδώ, νέα φυσικά φαινόμενα, που είναι αμελητέα στο κόσμο της καθημερινής ζωής γίνονται όλο και περισσότερο κυρίαρχα. Η επιφανειακή τάση για παράδειγμα υπερτερεί της βαρύτητας. Συμπιεσμένο μέσα σε σωλήνες μικρομεγέθους, το νερό ξαφνικά εμφανίζεται ημίρρευστο όσο και το μέλι, κάνοντας τον έλεγχο των αντλιών δύσκολο ζήτημα. Η ανάμειξη δύο υγρών στο μικρόκοσμο μοιάζει με τη ζύμωση της ζύμης.

Οι μηχανικοί έχουν προσπαθήσει να νικήσουν τους νόμους της φύσης στο κόσμο της μικρορευστομηχανικής για λίγο. Ωστόσο, αυτοί οι νόμοι είναι πολύ ανθεκτικοί και πολλά νανο-υδραυλικά προβλήματα παραμένουν άλυτα μέχρι τώρα.

Υπάρχει όμως και μια διαφορετική στρατηγική: εάν δεν μπορείς να τα νικήσεις, συναρμόσου μαζί τους! Οι κυρίαρχες δυνάμεις στο νανόκοσμο θα πρέπει να είναι φίλοι και όχι εχθροί. Η αυτοοργάνωση και η αυτοσυναρμολόγηση είναι οι κύριες έννοιες για αυτή τη νέα γενιά των μικρορευστομηχανικών συσκευών. Μικρά ποσά υγρών που κρατούνται σε κατοπτρικά πειραματικά γυάλινα δοχεία μεταφέρονται κατά πλάτος της επιφάνειας ενός τσιπ, οδηγούμενα από επιφανειακά ακουστικά κύματα. Είναι η επιφανειακή τάση που συγκρατεί τα αντιδραστήρια σε μικροσκοπικά σταγονίδια που σχηματίζουν αυτά τα γυάλινα δοχεία. Ας σκεφτούμε ένα πλυντήριο αυτοκινήτων για συλλάβουμε αυτό το φαινόμενο: καθώς το αυτοκίνητο μας περνά μέσα από το

στεγνωτήρα ζεστού αέρα σχηματίζονται σταγόνες στο καπό του αυτοκινήτου που γλιστράνε ολότελα μέχρι το πορτ-μπαγκάζ χωρίς να διαλυθούν.

6.4 ΡΕΥΣΤΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ

6.4.1 Δισδιάστατη Ρευστομηχανική

Η αυτογενής διαμόρφωση των σταγονιδίων για μικρά ποσά ρευστών προωθείται από την επιφανειακή τάση από τη μια πλευρά, από την άλλη όμως το μέγεθος και σχήμα τους ελέγχεται από τις χημικές και φυσικές ιδιότητες της επιφάνειας πάνω στην οποία σχηματίζονται. Οι αραχνοειδής ιστοί το καλοκαιρινό πρωινό είναι ένα άριστο παράδειγμα: Κάθε νήμα καλύπτεται με μια σειρά δροσοσταλίδων, παρέχοντας τους κανόνες για το σχηματισμό καλο-καθορισμένων μεγεθών. Σε αντιστοιχία προς το σχηματισμό μιας μικρορευστομηχανικής συσκευής, είναι έργο του επιστήμονα να κατασκευάσει μηχανικά σκοπίμως τις επιφανειακές ιδιότητες ενός τσιπ. Χρησιμοποιώντας τεχνάσματα όπως η αυτοσυναρμολόγηση μονών στοιβάδων συγκεκριμένων χημικών, ή δημιουργώντας μια συγκεκριμένη νανο-δομή στην επιφάνεια, μπορούμε να αρχίσουμε τη κατασκευή ρευστομηχανικών αποτυπωμάτων, σαν την αποτύπωση κυκλωμάτων σε ηλεκτρονικό πίνακα. Με αυτό τον τρόπο, συγκεκριμένες περιοχές της επιφάνειας του τσιπ μπορούν να φτιαχτούν υδροφιλικές ή υδροφοβικές. Οι λιθογραφικές τεχνικές γνωστές από τη κατασκευή των ημιαγωγών μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να δώσουν σε αυτά τα αποτυπώματα πιο επιθυμητό σχήμα. Μπορούν να δημιουργηθούν βιβλιοθήκες τεχνικών μελετών-δομημένες μήτρες διαμόρφωσης για πολύπλοκα δισδιάστατα δίκτυα ρευστών.

Σε αυτά τα αποτυπώματα περικλείονται μικρά ποσά αντιδραστηρίων, χωρίς τους μηχανικούς φραγμούς που χρησιμοποιούνται στη συμβατική μικρορευστομηχανική. Επιπλέον, τέτοιες δισδιάστατες υγρής κατάστασης δομές είναι πολύ εύκολο να κατασκευαστούν σε χαμηλό κόστος, παράγοντας κλειδί για εμπορευματοποίηση.

Οι συμβατικές αντλίες, φυσικά, είναι ανώφελες να ενεργοποιήσουν το υγρό στην ευρεία αυτή έκταση των δισδιάστατων εργαστηρίων. Οι ερευνητές διατύπωσαν μια τελείως διαφορετική ιδέα: την ενσωμάτωση των μικροαντλιών σε υπόστρωμα ίδιο με αυτό του τσιπ. Χρησιμοποιώντας ένα πιεζοηλεκτρικό υλικό για τσιπ παράγουν τα επονομαζόμενα επιφανειακά ακουστικά κύματα (SAW) εφαρμόζοντας σήματα ραδιοσυχνότητας σε ειδικά σχεδιασμένα ηλεκτρόδια. Αυτά τα κύματα διαδίδονται κατά μήκος του υποστρώματος όπως κάνουν οι σεισμοί, μεταφέροντας υγρή και στερεά ύλη στην επιφάνεια του τσιπ. Οι συσκευές SAW υπάρχουν στις τηλεπικοινωνιακές διατάξεις

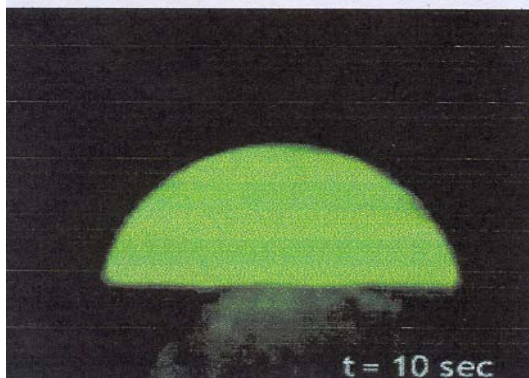
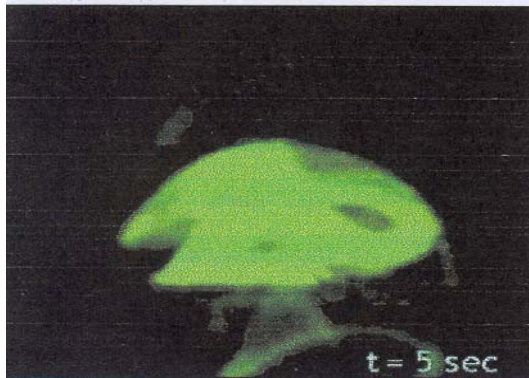
κυκλωμάτων για χρόνια, κάθε κινητό τηλέφωνο έχει φίλτρα που χρησιμοποιούν το φαινόμενο. Ένα ηλεκτρικό σήμα που τροφοδοτείται σε μορφομετατροπείς στην επιφάνεια του τσιπ, μετατρέπεται σε παραμόρφωση του κρυστάλλου που βρίσκεται από κάτω. Δίνοντας τη σωστή συχνότητα του σήματος, προωθείται κατά μήκος του τσιπ ένα μηχανικό κύμα. Έχοντας μήκη κύματος λίγων μικρών και εύρος του ενός μόνο νανόμετρου, οι δυνάμεις εντός του νανοσεισμού είναι αρκετές για να έχουμε μια μακροσκοπική επίδραση. Οποιοδήποτε κομμάτι ύλης στην επιφάνεια κατά μήκος της διαδρομής τους υφίσταται τη παλλόμενη τους δύναμη: ημίρρευστα υλικά όπως τα υγρά απορροφούν πολύ από την ενέργεια τους. Χαμηλής ενέργειας SAW προκαλεί μια εσωτερική ροή μέσα στις ποσότητες των αντιδραστηρίων, SAW μεγαλύτερου εύρους κινούν τα σταγονίδια ολόκληρα.

6.4.2 Η Απώτερη Πλευρά Της Μικρορευστομηχανικής Τεχνολογίας

Τέτοιες νανο-αντλίες που βασίζονται στη SAW τεχνολογία δεν έχουν κινούμενα μέρη. Μπορούν να κατασκευαστούν με μια απλή λιθογραφική επεξεργασία, περίπου όπως είναι η μεταλλοποίηση των τσιπ για υπολογιστές. Η ίδια τεχνολογία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για το προσδιορισμό των ρευστών αποτυπωμάτων. Η παρακάτω εικόνα απεικονίζει το βασικό μηχανισμό πίσω από τη προκαλούμενη ροή των SAW ενός υγρού στην επιφάνεια ενός τσιπ.

Στη παρακάτω εικόνα βλέπουμε τρία στιγμιότυπα ενός σταγονιδίου που μεταφέρεται από ένα νανο-σεισμό κατά μήκος του τσιπ. Η ποσότητα αυτού του σταγονιδίου είναι περίπου 50 νανόλιτρα (10^{-9} λίτρα).

Τα κύματα SAW μας επιτρέπουν να κατασκευάσουμε τους μικρότερους αναμικτήρες στο κόσμο επίσης. Σε χαμηλά επίπεδα ενέργειας, τα SAW μετατρέπονται σε μια εσωτερική ροή μέσα στο σταγονίδιο. Κυρίως, εάν η συχνότητα του SAW αλλάξει κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, προκύπτουν και υπερθέτονται διαφορετικά σχήματα ροής, κάτι που οδηγεί σε εν μέρει χαοτική μίξη. Αυτή είναι μια σημαντική ανακάλυψη στο πεδίο της μικρορευστομηχανικής: η ανάμειξη και η ανάδευση, όσο απλό και αν ακούγεται, είναι μια από τις μεγαλύτερες προκλήσεις. Ντουζίνες διαφορετικών τεχνικών έχουν σχεδιαστεί για να ξεπεράσουν τους κανόνες στο μικρόκοσμο. Ωστόσο, οι περισσότερες αναμειξεις των υγρών χαμηλής ποσότητας έχουν μείνει ακόμα στη διάχυση, μια αργή μάλλον διαδικασία, όπως ξέρει ο οποιοσδήποτε που έχει περιμένει ποτέ τη ζάχαρη να διαλυθεί στο καφέ του από έλλειψη κουταλιού. Στη παρακάτω εικόνα βλέπουμε μια χρονο-σειρά ενός τέτοιου αναδευτήρα εν λειτουργία: Μια φθορίζουσα



βαφή στην επιφάνεια ενός τσιπ καλύπτεται με ένα μικρό σταγονίδιο νερού. Κάτω από την επιρροή του SAW η βαφή διαλύεται γρήγορα φωτίζοντας το σταγονίδιο ομοιογενώς.

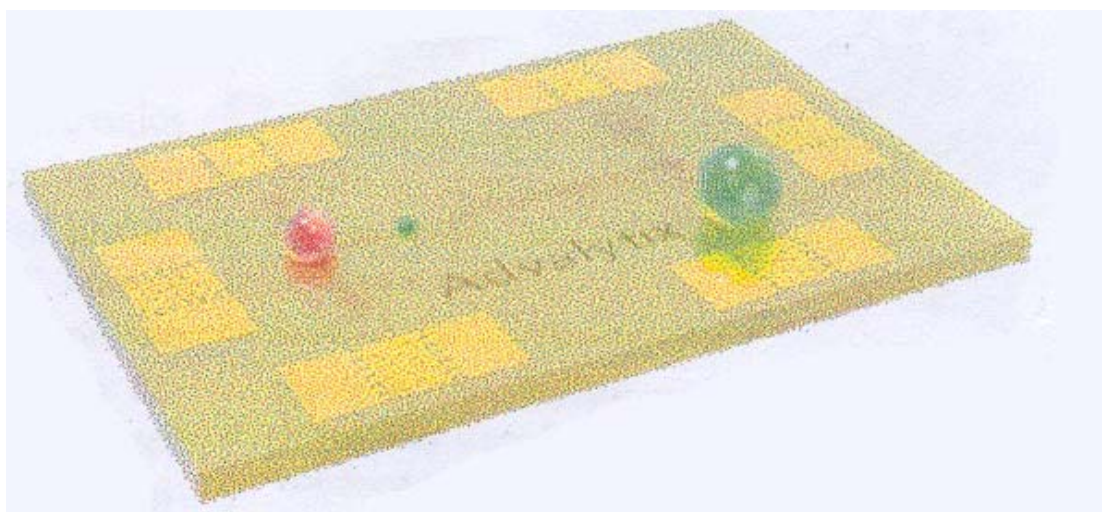
Εικόνα 27: Συνδυασμός νανόλιτρων: ρευστοποιημένη φθορίζουσα βαφή εναποθετημένη στην επιφάνεια του τσιπ. Συνδυασμός του ρευστού που προκαλείται ακουστικά οδηγεί σε ομογενές μίγμα του wafer και της βαφής.

Μια πρώτη εφαρμογή για τη μετάδοση της κίνησης των SAW στη μικρορευστομηχανική είναι η ‘ArrayBooster’, ένας σταθμός υβριδισμού μικροσυνόλων. Φέρνει πρότυπο DNA ή μικροσύνολα πρωτεϊνών σε στενή επαφή με ένα τσιπ ανάμειξης SAW κυμάτων. Η αποδοτική αναταραχή του υγρού δείγματος κατά τη διάρκεια της εκκόλαψης επιταχύνει σημαντικά τον υβριδισμό. Επιπλέον, η ομοιογένεια των φθορίζοντων σημάτων κατά μήκος ιδιαίτερων θέσεων ενισχύεται

σε μεγάλο βαθμό, και οι διακυμάνσεις από σημείο σε σημείο μειώνονται. Το όργανο προβλέπεται για ελάχιστη ποσότητα δείγματος μέχρι 10 μικρόλιτρα.

Ο συνδυασμός της πλευρικής διαμόρφωσης των ιδιοτήτων υγρής κατάστασης της επιφάνειας ενός τσιπ και της ενεργοποίησης των SAW αποτελεί μια εφικτή τεχνολογία για μεγάλη ποικιλία πιθανών εφαρμογών στη βιολογική ή χημική έρευνα. Η εικόνα που βλέπουμε στη συνέχεια περιγράφει ένα υπερμικροσκοπικό πανομοιότυπο διανεμητή. Μια λειτουργική, δομή σε στιλ άβακα σε ένα τμήμα της επιφάνειας διαχωρίζει πολύ μικρά ποσά υγρών [20 πικόλιτρα (10^{-12} λίτρα) σε αυτή τη περίπτωση] από μια μεγαλύτερη ποσότητα [50 νανόλιτρα (10^{-9} λίτρα)] που ωθείται κατά μήκος του άβακα από τα SAW κύματα. Μια πολύ ακριβής διαμόρφωση υπερμικρών σταγονιδίων αφήνεται πίσω στο τσιπ, έτοιμη για παραπέρα αντιδράσεις.

Τα λειτουργικά μπλόκα του δισδιάστατου ρευστομηχανικού δικτύου μπορούν εύκολα να συναρμολογηθούν για τη κατασκευή πολύπλοκων, προγραμματιζόμενων επεξεργαστών ρευστομηχανικής. Διαφορετικά αντιδραστήρια αναμιγνύονται, διαχωρίζονται ή κινούνται σε διαφορετικές θέσεις αντίδρασης. Ακόμα και ξεχωριστά κύτταρα μπορούν να ελεγχθούν από μικροαντλίες, μέσω ελέγχου από ένα υπολογιστή. Σαν πρώτο παράδειγμα ένας τέτοιος μικρορευστομηχανικός επεξεργαστής φαίνεται στην επόμενη εικόνα. Εδώ, απεικονίζεται ένα νανο-τσιπ τιτλοποίησης, πάνω στο οποίο ένα μικρό τμήμα άγνωστου τιτλοποιού (πράσινο) προσθέτεται στον αναλύτη (κόκκινο). Από τη στιγμή που θα προσεγγιστεί μια συγκέντρωση κρίσιμης μάζας, μπορεί να ανιχνευθεί, για παράδειγμα από μια αλλαγή χρώματος του αναλύτη, ή μια αλλαγή της αγωγιμότητας. Αυτό θα μπορούσε να μετρηθεί εύκολα από ένα αισθητήρα ενσωματωμένο στο ίδιο τσιπ.



Εικόνα 28: Απεικόνιση ενός νάνο τσιπ τιτλοποίησης (προσδιορισμός δεδομένου συστατικού διαλύματος με προσθήκη υγρού αντιδραστήριου γνωστής ισχύος, μέχρις ότου ληφθεί το τελικό σημείο, όταν όλο το συστατικό έχει καταναλωθεί με την αντίδραση του με το αντιδραστήριο). Στο ρευστό κύκλωμα ένα μικρό τμήμα διαλύματος τιτλοποίησης (πράσινο) διαχωρίζεται από ένα μεγαλύτερης ποσότητας. Ένα SAW μεταφέρει αυτή την ποσότητα προς τον αναλύτη (κόκκινο) στην θέση αντίδρασης. Οι δομές στην περιφέρεια του τσιπ αντιπροσωπεύουν τους μορφομετατροπείς, ενεργώντας σαν μικροαντλίες χωρίς κινούμενα μέρη.

6.5 ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑΤΑ

6.5.1 Τσιπ Για Τη Παρακολούθηση Κάθε Βήματος Μας (Περπάτημα) Και Των Σωματικών Υγρών Μας

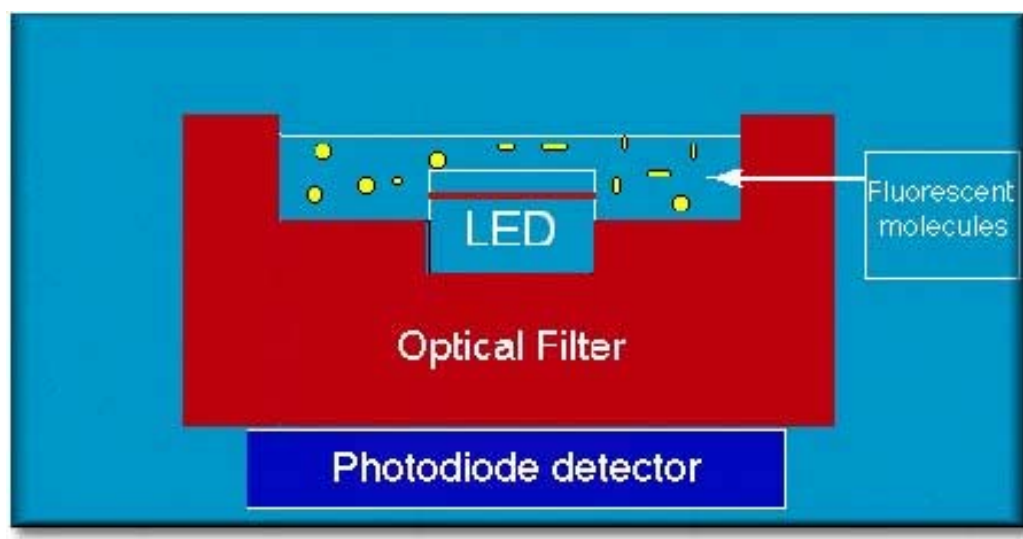
Οι ιατρικοί ερευνητές δουλεύουν για την ενσωμάτωση τσιπ και ανθρώπων εδώ και πολλά χρόνια, συχνά παίρνοντας τμήματα από γνωστές ηλεκτρονικές συσκευές. Έχουν

χρησιμοποιήσει αντιστάσεις ευαίσθητες στη πίεση όπως αυτές που βρίσκονται στα κουμπιά φούρνων μικροκυμάτων σαν χρονοδιακόπτες. Αυτό που έχουν κάνει είναι να τοποθετήσουν ένα αισθητήρα στη φτέρνα ενός παπουτσιού, και ένα άλλο σε ένα δάχτυλο του ανθρώπινου ποδιού, έπειτα πρόσθεσαν έναν υπολογιστή στον αστράγαλο για να υπολογίσουν τη διάρκεια κάθε δρασκελισμού. Νέα, υγιή άτομα μπορούν να ρυθμίσουν τη διάρκεια κάθε βήματος με μεγάλη ακρίβεια. Αλλά ασθενείς μεγαλύτερης ηλικίας επιρρεπείς σε συχνές πτώσεις έχουν εξαιρετικά μεταβλητούς χρόνους βηματισμού, ένας δείκτης που θα μπορούσε να δείχνει ανάγκη για περισσότερο ενδυναμωτικές ασκήσεις ή αλλαγή φαρμακευτικής αγωγής. Το σύστημα αυτό χρησιμοποιείται επίσης για το καθορισμό της επιτυχίας μιας θεραπείας για συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια. Παρακολουθώντας τον αριθμό των βηματισμών που κάνει ένα άτομο, οι ερευνητές μπορούν να μετρήσουν απ' ευθείας το επίπεδο δραστηριότητας του ασθενούς, παρακάμπτοντας τη συχνά ατελή εκτίμηση που γίνεται από τον ίδιο τον ασθενή.

Κάποια από αυτά τα τσιπ είναι εξωτερικά αλλά έχει προταθεί και ένα τσιπ (S4MS) το οποίο θα είναι εισαγόμενο κάτω από το δέρμα. Το τσιπ θα επιτρέψει στους διαβητικούς να παρακολουθούν εύκολα το επίπεδο της γλυκόζης στο αίμα τους. Οι διαβητικοί κατά τη παρούσα περίοδο χρησιμοποιούν ένα επιδερμικό σημάδι κεντραρίσματος και ένα τεστ αίματος που το κρατούν στα χέρια τους, και τότε χορηγούν στον εαυτό τους ινσουλίνη ανάλογα με το αποτέλεσμα. Το σύστημα είναι απλό και δουλεύει καλά, αλλά η ανάγκη της εξαγωγής αίματος σημαίνει ότι οι περισσότεροι διαβητικοί δεν εξετάζουν τους εαυτούς τους τόσο συχνά όσο θα έπρεπε. Αν και ίσως να τη γλιτώσουν με αυτό βραχυπρόθεσμα, αργότερα στη ζωή αυτοί που ελεγχόντουσαν σποραδικά υποφέρουν από τύφλωση, απώλεια της κυκλοφορίας του αίματος, και άλλες επιπλοκές. Η λύση είναι πιο συχνός έλεγχος, χρησιμοποιώντας μια λιγότερο επεμβατική μέθοδο. Πολλές εταιρίες προσπαθούν να εξάγουν το απαιτούμενο σωματικό υγρό, χρησιμοποιώντας είτε ηλεκτρικό ρεύμα ή ένα μικροσκοπικό πόρο προκαλούμενο από laser ή μια μικρή βελόνα. Όλες αυτές οι προσεγγίσεις βελτιώνουν την άντληση του αίματος, αλλά ακόμα απαιτούν χειρισμό του δέρματος, και το δέρμα μπορεί να αναστατωθεί. Το S4MS τσιπ, ωστόσο, θα εφαρμόσει κάτω από το δέρμα, θα εντοπίσει το επίπεδο της γλυκόζης, και θα στείλει το αποτέλεσμα πίσω έξω με επικοινωνία ραδιοσυχνοτήτων.

Μια δίοδος εκπεμπόμενου φωτός (LED) αρχίζει τη διαδικασία ανίχνευσης. Το φως που παράγει προσκρούει μια χημική ουσία που φθορίζει: η οποία απορροφά το εισερχόμενο φως και το ξανα-εκπέμπει σε μεγαλύτερο μήκος κύματος. Το μεγαλύτερο μήκος κύματος φωτός τότε ανιχνεύεται, και το αποτέλεσμα στέλνεται σε ένα ταμπλό ελέγχου έξω από το σώμα. Η γλυκόζη ανιχνεύεται επειδή η ζάχαρη μειώνει το ποσό του

φωτός που ξανα-εκπέμπει η φθορίζουσα χημική ουσία. Το S4MS αναπτύσσει ακόμα το τέλειο φθορίζων χημικό, αλλά το 'κλειδί' στο καινοτομικό σχεδιασμό του S4MS τσιπ έχει υπολογιστεί πλήρως. Η ιδέα είναι απλή: το LED βρίσκεται σε μια μεγάλη ποσότητα φθορίζοντων μορίων. Στους περισσότερους ανιχνευτές η πηγή φωτός είναι μακριά από τα φθορίζοντα μόρια, και η μειονεκτικότητα που εμπίπτει με αυτό σημαίνει περισσότερη ενέργεια και μεγαλύτερες συσκευές. Το πρωτότυπο S4MS τσιπ χρησιμοποιεί ένα 22μW LED, σχεδόν σαράντα φορές λιγότερο ισχυρό από τα μικροσκοπικά ενεργειακά κουμπιά στο ηλεκτρολόγιο ενός υπολογιστή. Οι χαμηλές ενεργειακές απαιτήσεις σημαίνουν ότι η ενέργεια μπορεί να προμηθευτεί από έξω, από μια διαδικασία που λέγεται επαγωγή. Η φθορίζουσα ανίχνευση από μόνη της δεν καταναλώνει χημικά ή πρωτεΐνες, έτσι η συσκευή είναι αυτοσυντηρούμενη.



Εικόνα 29: Το S4MS τσιπ για την ανίχνευση οξυγόνου και γλυκόζης. Φως που παράγεται από την εκπεμπόμενου φωτός δίοδο (LED) προκαλεί το φθορισμό των περιβαλλόντων μορίων. Το φως που αναδύεται έχει νέο μήκος κύματος, και μόνο αυτό το φως περνά μέσα από το φίλτρο για να ανιχνευτεί από τη φωτοδίοδο. Το οξυγόνο ή η γλυκόζη μειώνει το φθορισμό των μορίων στη κορυφή του 'αποθέματος'

Υπάρχει επίσης ένα μοντέλο αισθητήρα οξυγόνου που χρησιμοποιεί την ίδια διάταξη. Με την τωρινή του διάταξη κυκλωμάτων είναι περίπου στο μέγεθος ενός μεγάλου κουμπιού από πουκάμισο, αλλά το τελικό wafer πυριτίου θα είναι λιγότερο από ένα μιλιμετρικό τετράγωνο. Ο αισθητήρας οξυγόνου θα είναι χρήσιμος όχι μόνο για τη παρακολούθηση της αναπνοής σε μονάδες εντατικής φροντίδας, αλλά επίσης για τον έλεγχο των πακέτων τροφής, ή δοχείων ημιαγωγών που φυλάσσουν αέριο αζώτου. Αναπτύσσεται ακόμα ένα τσιπ που να ανιχνεύει το οξυγόνο, αλλά αυτή η εκδοχή στέλνει

φωτεινούς παλμούς στο σώμα. Το φως απορροφάται σε διάφορες ευρύτητες, κάτι που εξαρτάται από το πόσο οξυγόνο μεταφέρεται στο αίμα, και το τσιπ ανιχνεύει το φως που παραμένει. Ανιχνεύονται επίσης οι συρροές αίματος που αντλούνται από τη καρδιά, έτσι το ίδιο τσιπ είναι και όργανο παρακολούθησης των παλμών.

6.5.2 Εγχείρηση Εγκεφάλου Με Διακόπτη On-Off

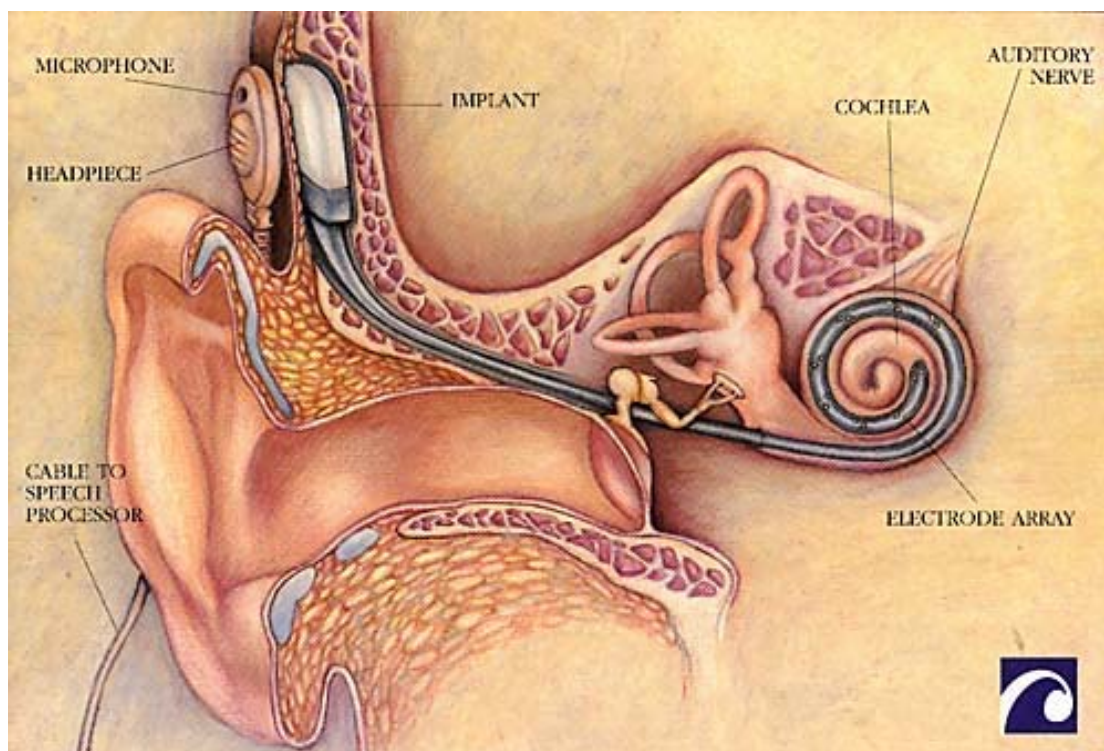
Οι καρδιακοί βηματοδότες χρησιμοποιούν την εξής προσέγγιση: μεγάλα έντονα ξαφνιάσματα ηλεκτρισμού για να συγχρονιστεί η άντληση της καρδιάς. Οι ηλεκτρικοί παλμοί του εμφυτεύματος Activa κατευθύνονται όχι στη καρδιά αλλά στον εγκέφαλο. Διακόπτουν τα εγκεφαλικά σήματα που προκαλούν τις ανεξέλεγκτες κινήσεις, ή ρίγη, που σχετίζονται με ασθένειες όπως αυτή του Parkinson.

Η φαρμακευτική θεραπεία για την ασθένεια του Parkinson στοχεύει στην αντικατάσταση του εγκεφαλικού αγγελιοφόρου ντοπαμίνης, ένα προϊόν των εγκεφαλικών κυττάρων που πεθαίνουν. Αλλά τελικά οι φαρμακευτικές επιδράσεις υφίστανται βαθμιαία φθορά, και οι σπασμωδικές κινήσεις επανέρχονται.

Μια άλλη δυνατότητα είναι η απομάκρυνση ενός τμήματος του θαλάμου, μια εγκεφαλική δομή που πυροδοτεί τα ρίγη. Το εμφύτευμα, είναι μια νέα εναλλακτική που χρησιμοποιεί ηλεκτρικούς παλμούς υψηλής συχνότητας για να απομονώσει αντιστρεπτά τον θάλαμο. Έχει τα ίδια οφέλη με τη θαλαμοτομή (την εγχείρηση εγκεφάλου) χωρίς τα ρίσκα. Η εγχείρηση εμφύτευσης είναι πολύ λιγότερο τραυματική από την θαλαμοτομή, και εάν υπάρξουν μετεγχειρητικά προβλήματα ο διεγέρτης (παράγοντας που προκαλεί λειτουργική δραστηριότητα) μπορεί εύκολα να διακοπεί.

6.5.3 Επαναφορά Των Αισθήσεων

Το εμφύτευμα Activa προκαλεί περισπασμό σε ασυνήθιστη εγκεφαλική λειτουργικότητα. Οι πιο φιλόδοξοι βιομηχανικοί προσπαθούν να επαναφέρουν εγκεφαλικές λειτουργίες, αποκαθιστώντας την όραση και την ακοή εκεί όπου υπήρχε σκοτάδι και σιωπή. Το επιτυχημένο επίτευγμα σε αυτό το πεδίο είναι το κοχλιακό εμφύτευμα. Οι περισσότερες ακουστικές βοήθειες προσδίδουν υπερβολική αίγλη στους ενισχυτές, αλλά το κοχλιακό εμφύτευμα είναι για ασθενείς που έχουν χάσει τα τριχοειδή κύτταρα που εντοπίζουν τα ακουστικά κύματα. Για αυτά τα άτομα, κανένα ποσό ενίσχυσης δεν είναι αρκετό.



Εικόνα 30: Το κοχλιακό εμφύτευμα Clarion. Ο ήχος λαμβάνεται από ένα μικρόφωνο, το οποίο επεξεργάζεται από ένα μίνι-υπολογιστή (δεν φαίνεται στην εικόνα), και τότε μεταδίδονται ηλεκτρικά σήματα στο εμφύτευμα μέσω μετάδοσης με ραδιοσυχνότητα. Μετά την αποκρυπτογράφηση του σήματος, τα σύνθετα ηλεκτρόδια ενεργοποιούν κατ' ευθείαν τα νευρικά κύτταρα που μεταδίδουν τις ηχητικές πληροφορίες στον εγκέφαλο

Το κοχλιακό εμφύτευμα χορηγεί ηλεκτρικούς παλμούς απευθείας στα νευρικά κύτταρα του κοχλία, την ελικοειδής διαμόρφωσης δομή που μεταφράζει τον ήχο σε νευρικούς παλμούς. Σε άτομα φυσιολογικής ακοής, τα ακουστικά κύματα δημιουργούν δονήσεις στα τοιχώματα του κοχλία, και τα τριχοειδή κύτταρα ανιχνεύουν αυτές τις δονήσεις. Θόρυβοι υψηλής συχνότητας (βαθιές νότες) δονούν τη βάση του κοχλία, ενώ οι νότες χαμηλής συχνότητας δονούν πιο κοντά στη κορυφή του κοχλία. Το εμφύτευμα μιμείται τη δουλειά των τριχοειδών κυττάρων. Προκαλεί διάσπαση των συχνοτήτων των εισερχόμενων θορύβων σε έναν αριθμό καναλιών (τυπικά οχτώ), και τότε διεγείρει το κατάλληλο τμήμα του κοχλία.

Τα δύο πιο επιτυχημένα εμφυτεύματα είναι το Clarion(αναπτύχθηκε από το πανεπιστήμιο της Καλιφόρνια στο San Francisco) και το Nucleus (αναπτύχθηκε από το πανεπιστήμιο της Μελβούρνης στην Αυστραλία). Οι αναβαθμίσεις εστιάζονται σε μεγάλο βαθμό στη βελτίωση του λογισμικού επεξεργασίας του λόγου, το οποίο χειρίζεται

από ένα μίνι υπολογιστή που φοριέται στη ζώνη του ασθενούς. Θεωρητικά, αυξάνοντας τον αριθμό των καναλιών (και των ηλεκτροδίων) θα μπορούσε να βελτιωθεί η αντίληψη του λόγου. Αλλά ο λόγος αντιλαμβάνεται σε μια περιοχή του κοιλία μόνο 14 mm μήκους, και η τοποθέτηση των ηλεκτροδίων πολύ κοντά το ένα με το άλλο προκαλεί την αιμορραγία των σημάτων από το ένα κανάλι στο άλλο.

Το αποτέλεσμα είναι μια διαφορετική απόδοση του λόγου (κάτι σαν εκτεταμένο βούρτσισμα). Ενώ μερικοί παραλήπτες των συσκευών αναφέρουν ήχους που να μοιάζουν με λόγο, πολλοί χαρακτηρίζουν το καινούργιο τους κόσμο σα να κατοικείται από πλήθη παπιών που κράζουν ή σα βροντοχτύπημα από κονσερβοκούτια. Αλλά η επιτυχία είναι αναμφισβήτητη. Τα δύο τρίτα των ασθενών (με πιο πρόσφατα μοντέλα) μπορούν να καταλάβουν τον λόγο χωρίς να διαβάζουν τα χείλη.

Με τη μερική τουλάχιστον υπερνίκηση της κώφωσης, ο επόμενος λογικός στόχος είναι το μάτι. Αρκετές ομάδες δουλεύουν σε εμφυτευόμενα τσιπ που μιμούνται τη δράση των φωτουποδοχέων, τα κύτταρα που ανιχνεύουν το φως στο πίσω μέρος του οφθαλμού. Οι φωτουποδοχείς έχουν χαθεί τόσο στην αμφιβληστροειδίτιδα (φλεγμονή του αμφιβληστροειδή), μια γενετική ασθένεια, όσο και στον εκφυλισμό της κηλίδας από τη πάροδο του χρόνου, η πιο συνηθισμένη αιτία απώλειας της όρασης στον αναπτυγμένο κόσμο.

Οι ερευνητές έχουν φτιάξει ένα τσιπ του 1mm² με 20 ηλεκτρόδια, και το εμφύτευσαν στο πίσω τμήμα του οφθαλμού κουνελιών. Το αυθεντικό τσιπ, πάχους μιας ανθρώπινης τρίχας, βάζει πολύ ένταση στο μάτι, έτσι ώστε η νέα απόδοση είναι δέκα φορές πιο λεπτή. Το τελικό στήσιμο θα περιλαμβάνει μια μικροσκοπική κάμερα τοποθετημένη σε ένα ζευγάρι γυαλιά. Η κάμερα θα ανιχνεύει και θα κρυπτογραφεί το σκηνικό, τότε θα το στέλνει μέσα στο μάτι σαν παλμό laser, με το laser να παρέχει επίσης την ενέργεια για το χειρισμό του τσιπ. Οι ερευνητές έχουν επιβεβαιώσει ότι αυτή η μικρή διάταξη των υποδοχέων φωτός (φωτοδίοδων) μπορεί να παράγει αρκετό ηλεκτρισμό για να λειτουργήσει το τσιπ. Έχουν επίσης βρεί ότι το ποσό του ηλεκτρισμού που χρειάζεται για τη διέγερση ενός νευρικού κυττάρου σε δράση είναι περίπου 100 φορές χαμηλότερη στο μάτι από ότι στο αυτί, έτσι τα ρεύματα μπορούν να είναι μικρότερα, και τα ηλεκτρόδια πιο κοντά τοποθετημένα.

Προς το παρόν η παροχή ενέργειας προέρχεται από ένα καλώδιο που εισάγεται κατευθείαν μέσα στο μάτι και, χρησιμοποιώντας αυτή τη συσκευή, οι ερευνητές έχουν ανιχνεύσει σήματα που φτάνουν τον εγκέφαλο. Ξέρουν ότι μπορούν να πάρουν οπτικές πληροφορίες στον εγκέφαλο, λένε, αλλά δεν ξέρουν τι είδους όραση θα καταλήξει αυτό.

Η προσέγγιση υπό τον αμφιβληστροειδή πιο στενά μιμείται τη δράση των χαμένων φωτουποδοχέων. Το τσιπ παραδίνει το μήνυμα του στη πηγή, πριν κάνουν κάποια πολύπλοκη επεξεργασία παρεμβαίνοντα στρώματα αμφιβληστροειδικών νευρικών κυττάρων. Πιστεύεται ότι ο υλικός εξοπλισμός του τσιπ θα είναι ικανός να αντισταθμίσει αυτούς τους υπολογισμούς. Η πρώτη μεγάλη επίδειξη δοκιμής ότι μια συσκευή ελάχιστης ενέργειας μπορεί να δώσει αληθινά οπτικά σήματα είναι έτοιμη να γίνει.

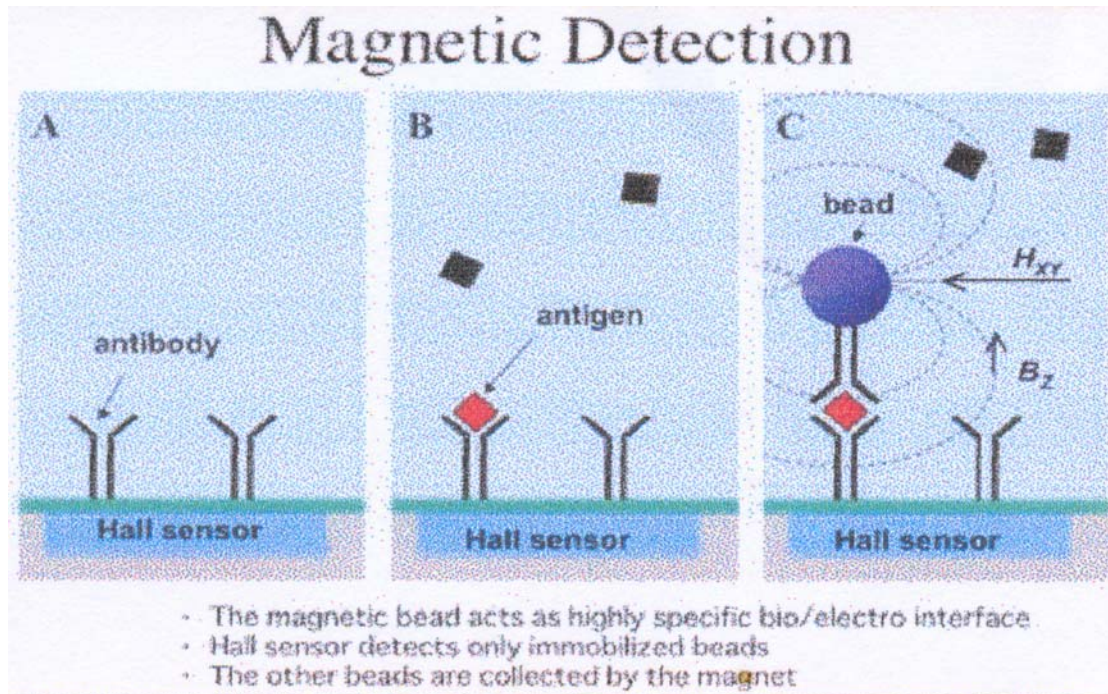
6.5.4 Διάγνωση Πάνω Σε Τσιπ

Ένα μικροσκοπικό βιοτσιπ που σχεδιάστηκε τον προηγούμενο χρόνο θα βοηθήσει τους ερευνητές στη Νικαράγουα να καταλάβουν και να ελέγξουν μια τροπική ασθένεια που επιφέρει αναπηρία σε 100 εκατομμύρια ανθρώπους κάθε χρόνο. Με τη συγχώνευση της μικροβιολογίας και των μικροδιατάξεων κυκλωμάτων έχει δημιουργηθεί ένας ανοσοαισθητήρας σχήματος τετραγώνου των 2mm ο οποίος παρέχει ένα γρήγορο και φθινό τεστ για τον ιό του Δάγγειου πυρετού (μια λοιμώδης εξανθηματική εμπύρετος ιογενής νόσος των τροπικών περιοχών, μεταδίδεται με τους κώνωπες *Aedes*), γνωστός συνήθως ως ‘break-bone fever’, ακόμα και εάν το πλησιέστερο κλινικό εργαστήριο βρίσκεται εκατοντάδες μίλια μακριά.

Στον τρίτο κόσμο δεν υπάρχουν πολλά ειδικευμένα εργαστήρια που μπορούν να εξετάσουν αυτά τα δείγματα αίματος, πολλές περιοχές δεν έχουν ούτε τη ποιότητα νερού που χρειάζεται για τα παραδοσιακά τεστ. Η λύση ήταν να τοποθετηθεί το εργαστήριο πάνω στο τσιπ, σε κόστος λιγότερο του 1\$ το καθένα. Στη πραγματικότητα, αυτό το διάστημα έχουν ετοιμαστεί 1.000 ανοσοαισθητήρες για να αποσταλούν στη Νικαράγουα για να προλάβουν το Δάγγειο πυρετό. Διαδιδόμενος από κουνούπια, ο Δάγγειος πυρετός προκαλεί έντονους πονοκεφάλους, σφοδρό πυρετό, εξανθήματα, και σε νήπια κίνδυνο θανάτου.

Κατά τη παρούσα περίοδο, ασθένειες όπως ο Δάγγειος ιός ανιχνεύονται με ένα τεστ που καλείται ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), το οποίο εντοπίζει αντιγόνα και αντισώματα στο αιματολογικό δείγμα. Τα αντισώματα διαμορφώνονται στο σώμα σε απάντηση των αντιγόνων-μορίων, συχνά άγνωστα, τα οποία το ανοσολογικό σύστημα αναγνωρίζει σαν απειλή. Για κάθε αντιγόνο, υπάρχει ένα αντίσωμα που δεσμεύεται σε αυτό. Είναι αυτή η βιοχημική αντίδραση που σηματοδοτεί το ανοσολογικό σύστημα να αρχίσει να καταπολεμά μια ασθένεια. Με το ELISA, προστίθεται στο δείγμα ένα ένζυμο που ενεργοποιεί μια ορατά χρωματισμένη βαφή στη παρουσία ενός συγκεκριμένου αντιγόνου ή αντισώματος.

Στη θέση των ρυπαρών ενζύμων και βαφών, ο ανοσοαισθητήρας χρησιμοποιεί μαγνητισμό και μικροηλεκτρονική.



Εικόνα 31: Αυτή η απεικόνιση περιγράφει πώς τα αντιγόνα δεσμεύονται επίσης στα μαγνητικά σταγονίδια και στους μαγνητικούς αισθητήρες, που λέγονται αισθητήρες Hall, στην επιφάνεια του τσιπ.

Πρώτα, μια σταγόνα αίματος τοποθετείται σε ένα φρεάτιο, μεγέθους της τάξεως του εκατομμυριοστού, πάνω στο τσιπ. Εκεί, αναμιγνύεται με μικροσκοπικά μαγνητικά σταγονίδια του ίδιου μεγέθους, προ-επιστρωμένα με ένα αντίσωμα που συνενώνεται στο ενδεικτικό αντιγόνο μιας συγκεκριμένης νόσου. Εάν τα αντιγόνα είναι στο αιματολογικά δείγμα, τα σταγονίδια γραπώνονται πάνω τους. Τότε, η βαρύτητα προκαλεί τη πτώση των σταγονιδίων πάνω σε μια μικροσκοπική διάταξη 256 μαγνητικών αισθητήρων στο βάθος του φρεατίου. Η διάταξη των αισθητήρων είναι επίσης επιστρωμένη με το συγκεκριμένο αντίσωμα που δεσμεύεται στο αντιγόνο της νόσου. Αφού τα σταγονίδια καθιζάνουν, εφαρμόζεται μαγνητικό πεδίο. Τα σταγονίδια που δεν έχουν καθηλωθεί από το αντιγόνο στην επιφάνεια του τσιπ απομακρύνονται από τη διάταξη των αισθητήρων. Αυτή η μέθοδος συνηθίζεται να καλείται 'μαγνητική πλύση'.

Τελικά, η διάταξη των αισθητήρων ενεργοποιείται. Η ηλεκτρική αντίσταση της διάταξης αντιστοιχεί στον αριθμό των σταγονιδίων τα οποία είναι ακινητοποιημένα στους αισθητήρες χάρη στο δεσμό αντισώματος- αντιγόνου. Η ανίχνευση των

ακίνητοποιημένων σταγονιδίων σημαίνει ότι το συγκεκριμένο αντιγόνο είναι παρών και ότι το άτομο του οποίου το αίμα εξετάστηκε πολύ πιθανόν είναι μολυσμένο με τον ιό του Δάγγειου πυρετού. Ολόκληρη η μέθοδος διαρκεί λίγο περισσότερο από ένα λεπτό.

Τώρα, το τσιπ συνδέεται σε ένα συμβατικό φορητό μικροϋπολογιστή που λειτουργεί το λογισμικό του ανοσοαισθητήρα το οποίο παρέχει τα δεδομένα στο πρόσωπο που διαχειρίζεται το τεστ. Το επόμενο βήμα, είναι να γίνουν τα τσιπ ασύρματα και να τεθεί το λογισμικό σε μια υπολογιστική πλατφόρμα στο μέγεθος της παλάμης μας, αυξάνοντας έτσι ακόμα περισσότερο την κινητικότητα τους. Εν τω μεταξύ, οι ερευνητές δουλεύουν για την ανάπτυξη ενός HIV τεστ που θα μπορεί επίσης να λειτουργήσει σε μια πλατφόρμα ανοσοαισθητήρα. Μπορούμε να φανταστούμε μεγάλες ποσότητες τέτοιων τσιπ, όλα επιστρωμένα με διαφορετικά αντισώματα έτσι ώστε όχι μόνο να μπορεί να ανιχνευθεί στη στιγμή εάν κάποιος είναι άρρωστος, αλλά και να μπορεί να βρεθεί ακριβώς τι ασθένεια έχει.

6.6 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΜΙΚΡΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΙΣΤΩΝ ΒΑΣΙΣΜΕΝΩΝ ΣΕ ΤΡΙΧΟΕΙΔΙΚΑ ΤΣΙΠ

6.6.1 Η Ανάγκη Για Συστήματα Βασισμένα Σε Ιστούς

Στην ιατρική χρειάζονται αρκετά συστήματα εξέτασης βασισμένα σε κύτταρα και ιστούς για την αξιολόγηση νέων θεραπειών, για το καθορισμό ατομικών θεραπειών, για τη διαγνωστική και για ποιοτικό έλεγχο στις μεθόδους κυτταρικής θεραπείας. Κάθε ασθενής αντιδρά διαφορετικά σε μια θεραπεία. Για τη βέλτιστη θεραπεία των ασθενειών, η επιλεγμένη θεραπεία πρέπει να βασίζεται στις συνθήκες του ασθενούς. Μια θεώρηση για το καθορισμό της βέλτιστης θεραπείας για έναν ασθενή είναι η αναγνώριση μικρών παραλλαγών στο DNA του ασθενούς, δηλαδή, η πολυμορφική ανάλυση ελεύθερων νουκλεοτιδίων. Ωστόσο, αυτή απλά ανιχνεύει παραλλαγές της ασθένειας βασισμένες στις ανοχές του γονιδιώματος. Το γονιδίωμα είναι, κατ' αρχήν, μια καθορισμένη και στατική ποσότητα. Εντούτοις, οι ασθένειες προκαλούνται σε τελική ανάλυση από την αλληλεπίδραση των πρωτεϊνών. Όλες οι πρωτεΐνες που συνθέτονται σε ένα κύτταρο κάτω από συγκεκριμένες περιβαλλοντολογικές συνθήκες λέγονται πρωτεϊνώμα (proteome). Σε αντίθεση με το γονιδίωμα, το οποίο είναι πανομοιότυπο στα διαφορετικά κύτταρα του σώματος, το πρωτεϊνώμα διαφέρει σύμφωνα με τις περιβαλλοντολογικές συνθήκες όπως η θερμοκρασία, το θρεπτικό περιβάλλον και οι επιδράσεις του άγχους ή των φαρμάκων. Για να προσδιορίσουμε τη καλύτερη θεραπεία για έναν ασθενή, θα πρέπει να ληφθούν υπόψη οι αλληλεπιδράσεις όλων των πρωτεϊνών ενός πρωτεϊνώματος.

Ο μόνος τρόπος για να γίνει αυτό είναι δοκιμάζοντας πιθανές θεραπευτικές δυνατότητες κατευθείαν πάνω στα κύτταρα ή τους ιστούς του ασθενούς.

Έχει αποδειχτεί ότι η πρωτεϊνική διαμόρφωση συγκεκριμένου κυττάρου μένει σταθερή ακόμα και κάτω από υψηλά τεχνητές συνθήκες μιας *in vitro* (εντός δοκιμαστικού σωλήνα) καλλιέργειας. Επομένως, είναι θεωρητικά πιθανό η δοκιμή θεραπευτικών δυνατοτήτων *in vitro* σε κύτταρα που έχουν παρθεί από τον ασθενή. Γι' αυτό απαιτείται η ανάπτυξη ενός αποδοτικού συστήματος εξετάσεων βασισμένου σε μικροηλεκτρομηχανικά συστήματα. Αυτά τα συστήματα εξετάσεων πρέπει να είναι ικανά να προσδιορίσουν μη επεμβατικά και σε σύντομο χρονικό διάστημα, τα αποτελέσματα πολλών θεραπευτικών δυνατοτήτων σε έναν αριθμό κυτταρικών παραμέτρων. Τα αποτελέσματα πιθανών θεραπειών μπορούν να υποβληθούν σε δοκιμή απευθείας σε κυτταρικά ή ιστολογικά δείγματα που έχουν παρθεί από τον ιστό του ασθενούς. Επιπρόσθετα, θα μπορούσε να είναι πιθανή η καλλιέργεια και ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων του ασθενούς για τη παραγωγή ειδικών κυτταρικών και ιστολογικών προτύπων του ασθενούς για αξιολόγηση της θεραπείας.

6.6.2 Χαρακτηρισμός Κυττάρων Χωρίς Επισήμανση (Marker-Free Cell Characterization)

Ένα πρόβλημα με τις τωρινές τεχνικές για το χαρακτηρισμό των ιστών είναι ότι τα κύτταρα χαρακτηρίζονται έμμεσα χρησιμοποιώντας χημικές ουσίες επισήμανσης. Οι χρήση τέτοιων ουσιών απαιτεί πολυέξοδη και χρονοβόρα προ-θεραπευτική αγωγή, επηρεάζει τη κυτταρική φυσιολογία και ο λειτουργικός χαρακτηρισμός του κυττάρου μπορεί να επιτευχθεί μόνο με μεγάλη προσπάθεια. Οι μικροτεχνολογίες προσφέρουν νέες ευκαιρίες για την υλοποίηση συστημάτων χωρίς σήμανση. Οι τεχνικές αυτές χαρακτηρίζουν ένα φυσιολογικό/ παθολογικό περιστατικό στα βιολογικά συστήματα μετρώντας μια φυσική ποσότητα που συσχετίζεται με το εν λόγω περιστατικό.

Τα φυσιολογικά/ παθολογικά περιστατικά μπορούν να προσδιοριστούν, για παράδειγμα, μετρώντας διαφοροποιήσεις στη τιμή του pH που σχετίζεται με το κυτταρικό μεταβολισμό ή στις ηλεκτρικές ιδιότητες που προκαλούνται από αλλαγές στις κυτταρικές μεμβράνες και στα κυτταρικά οργανύλλια (εξειδικευμένη δομή κυττάρου). Αυτή η φυσική ποσότητα μετατρέπεται από ένα σύστημα μορφομετατροπέα σε σήμα το οποίο μπορεί να επεξεργαστεί παραπέρα, και τελικά ηλεκτρικό σήμα. Κατά τη παρούσα περίοδο, τα περισσότερα από τα διαθέσιμα συστήματα εξετάσεων βασίζονται σε δισδιάστατες (2D) κυτταρικές στοιβάδες. Ωστόσο, σε πολλές περιπτώσεις απαιτούνται

τριδιάστατα (3D) μοντέλα ιστών ή δείγματα ιστών για τη μίμηση in vivo (εντός του ζώντος οργανισμού, σε φυσικό περιβάλλον) καταστάσεων.

Οι ηλεκτρικές και διηλεκτρικές ιδιότητες ενός ιστού καθορίζονται από τις φυσιολογικές και μορφολογικές ιδιότητες του. Επειδή οι ηλεκτρικές και διηλεκτρικές ιδιότητες ενός δείγματος μπορούν να προσδιοριστούν καταγράφοντας την ηλεκτρική του αντίσταση πάνω από ένα φάσμα συχνοτήτων (φασματοσκοπία αντίστασης), τα φυσιολογικά γεγονότα και οι μορφολογικές ιδιότητες των βιολογικών ιστών είναι προσδιορίσιμα από τη φασματοσκοπία ηλεκτρικής αντίστασης. Ένα τριχοειδικό σύστημα μέτρησης αντίστασης έχει αναπτυχθεί για χωρίς επισήμανση, μη επεμβατικό και γρήγορο χαρακτηρισμό μικρών ιστολογικών δειγμάτων όπως οι βιοψίες και 3D ιστολογικά μοντέλα με τη φασματοσκοπία αντίστασης. Ο ιστολογικός χαρακτηρισμός μπορεί να διαρκέσει από αρκετά δευτερόλεπτα μέχρι αρκετά λεπτά και εξαρτάται, για παράδειγμα, από τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για τη μέτρηση της αντίστασης. Ο χρόνος που απαιτείται τυπικά για κλασικό χαρακτηρισμό ιστοπαθολογικού και ιστοχημικού ιστού κυμαίνεται από ώρες μέχρι ημέρες.

6.6.3 Ευπαθή Και Αναπαραγόμενη Μέτρηση Της Αντίστασης

Για τη μέτρηση της αντίστασης ενός βιολογικού δείγματος, απαιτούνται τουλάχιστον δύο ηλεκτρόδια σε ηλεκτρολυτικό περιβάλλον, δηλαδή, ένα ηλεκτροχημικό κύτταρο με ένα βιολογικό δείγμα.

Τα βασικά συστατικά ενός μοντέλου ισοδύναμου κυκλώματος ενός ηλεκτροχημικού κυττάρου είναι η διαχωριστική εμπέδηση ηλεκτροδίου-ηλεκτρολύτη, η συνολική αντίσταση του ηλεκτρολυτικού διαλύματος, η εμπέδηση του βιολογικού δείγματος, μια αντίσταση διακλάδωσης και μια τυχαία χωρητικότητα.

Για αξιόπιστη και ευαίσθητη μέτρηση της εμπέδησης, στη πράξη, πρέπει να εκπληρώνονται οι παρακάτω συνθήκες:

- Η αντίσταση της πορείας διακλάδωσης πρέπει να είναι υψηλή και σταθερή
- Η εμπέδηση της διαχωριστικής επιφάνειας ηλεκτροδίου-ηλεκτρολύτη πρέπει να είναι χαμηλή σε σύγκριση με την εμπέδηση του ιστού
- Η τυχαία χωρητικότητα του μετρούμενου κυττάρου πρέπει να είναι χαμηλή

Κανονικά, όταν είναι να μετρηθεί η εμπέδηση μικρών δειγμάτων, χρειάζονται μικρά ηλεκτρόδια. Το πρόβλημα της χρήσης μικρών ηλεκτροδίων σε ένα ηλεκτροχημικό κύτταρο είναι ότι η υψηλή τους εμπέδηση διαχωρισμού μπορεί να υπερισχύσει της

συνολικής εμπέδησης των μετρούμενων κυττάρων. Εάν έχουμε μια τέτοια περίπτωση, η εμπέδηση ενός δείγματος μέσα σε ένα μετρούμενο κύτταρο είναι προσδιορίσιμη μόνο με χαμηλή ευαισθησία.

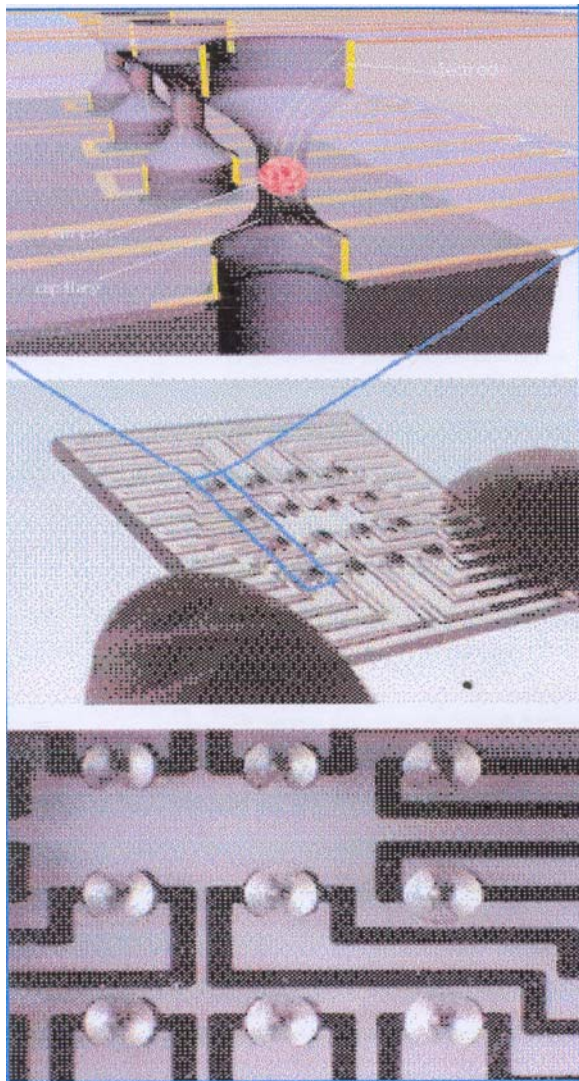
6.6.4 Σχεδιασμός Της Μέτρησης Των Τριχοειδικών Κυττάρων

Για να ικανοποιηθούν οι προαναφερθείσες συνθήκες, έχει σχεδιαστεί και κατασκευαστεί ένα τριχοειδικό μετρούμενο κύτταρο. Το ιστολογικό δείγμα τοποθετείται υδροδυναμικά σε ένα κάθετο τριχοειδές μέτρησης με χοανοειδή εισόδους. Η διάμετρος του τριχοειδούς είναι σταθερή στη τοποθετούμενη περιοχή του ιστολογικού δείγματος. Δύο ηλεκτρόδια ρυθμίζονται πάνω και κάτω από τις χοανοειδείς εισόδους. Για τη μέτρηση της εμπέδησης, χορηγείται ρεύμα στα εξωτερικά ηλεκτρόδια και η επακόλουθη πτώση τάσης καταγράφεται μέσω των εσωτερικών ηλεκτροδίων, παρέχοντας έτσι μέτρηση σε διάταξη τεσσάρων ηλεκτροδίων. Αυτή η διάταξη ηλεκτροδίων και η γεωμετρία του τριχοειδούς μετρητικού κυττάρου επιτρέπουν μετρήσεις εμπέδησης με αμελητέα επίδραση των εμπεδήσεων των ηλεκτροδίων: η έκταση των ηλεκτροδίων μπορεί να επιλεγεί ανεξάρτητα από το μέγεθος του δείγματος και η μέτρηση μπορεί να εκτελεστεί σε μια τεσσάρων ηλεκτροδίων διάταξη. Η αντίσταση της διακλάδωσης είναι υψηλή επειδή το δείγμα περιβάλλεται από τα τοιχώματα του τριχοειδούς, και σταθερή επειδή ο τομέας του τριχοειδούς στον οποίο είναι τοποθετημένο το δείγμα έχει σταθερή διάμετρο.

6.6.5 Αξιολόγηση Αντικαρκινικών Θεραπειών

Οι πρώτες εφαρμογές του τριχοειδικού μετρητικού κυττάρου είναι η εκτίμηση νέων αντικαρκινικών θεραπειών χρησιμοποιώντας 3D in vitro ιστολογικά μοντέλα. Φάσματα εμπεδήσεων καταγράφονται από μοντέλα νεοπλασμάτων, τα οποία ελίσσονται με μια αντικαρκινική θεραπευτική γονιδιακή δομή και σε διαφορετικές δόσεις ακτινοβολήσης. Οι παράμετροι ενός ισοδύναμου μοντέλου κυκλωμάτων για τα νεοπλασματικά μοντέλα καθορίζονται από τα δεδομένα της εμπέδησης. Στη περίπτωση αντικαρκινικής θεραπείας, η μείωση της εξωκυττάριας αντίστασης έχει ήδη δείξει ότι η θεραπεία έχει το επιθυμητό αποτέλεσμα. αυτή η παράμετρος σχετίζεται με το εξωκυτταρικό ποσοστό όγκου του ιστού (ποσοστό του όγκου του εξωκυτταρικού χώρου προς τον όγκο του εσωκυτταρικού χώρου). Ο στόχος μιας αντικαρκινικής θεραπείας είναι να σταματήσει το πολλαπλασιασμό των κυττάρων και να προκαλέσει απόπτωση. Και τα δύο φαινόμενα οδηγούν σε αύξηση του εξωκυτταρικού ποσοστού όγκου και συνεπώς σε μείωση της εξωκυτταρικής αντίστασης.

Το ηλεκτροχημικό κύτταρο μέτρησης δεν είναι μόνο κατάλληλο για ιστολογικό χαρακτηρισμό με τη φασματοσκοπία εμπέδησης, αλλά και για καταγραφή δυναμικών πεδίων ηλεκτροφυσιολογικών ενεργών διαλυμάτων όπως δείγματα καρδιομυϊκού ιστού ή ιστολογικά μοντέλα νευρώνων. Σε αυτές τις εφαρμογές, τα ηλεκτρόδια του μετρητικού κυττάρου συνδέονται με ένα καταγραφικό σύστημα ηλεκτρικού δυναμικού αντί ενός αναλυτή εμπέδησης.



Στη πρώτη εκτίμηση του σχεδιασμού του ελεύθερου τριχοειδικού μετρητικού κυττάρου, χρησιμοποιήθηκε ένα πρωτότυπο από γυαλί. Ωστόσο, έχει αναπτυχθεί επίσης ένα τριχοειδικό τσιπ με 16 καθέτως διευθετημένα μετρητικά τριχοειδή και ενσωματωμένα ηλεκτρόδια σε πλαστικό χρησιμοποιώντας τεχνολογία διαμόρφωσης με μικροεμφεκασμό (microinjection-moulding technology).

Εικόνα 32: Τριχοειδικό τσιπ. Ανώτερο πλαίσιο: Σχήμα ενός τμήματος. Μεσαίο πλαίσιο: ολόκληρο το τσιπ. Κατώτερο πλαίσιο: Φωτογραφία κομμένου τσιπ με άνοιγμα των τριχοειδών, των ηλεκτροδίων και των διασυνδεδεμένων γραμμών.

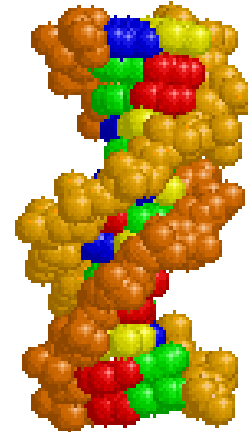
Για μη επεμβατικό και ευαίσθητο χαρακτηρισμό ενός βιολογικού δείγματος, η διάμετρος του τριχοειδούς θα πρέπει να ταιριάζει με το βιολογικό δείγμα. Εάν η διάμετρος του τριχοειδούς είναι πολύ μικρή, το δείγμα παραμορφώνεται, εάν είναι πολύ μεγάλη, η αντίσταση διακλάδωσης είναι πολύ μικρή. Το τριχοειδές τσιπ μπορεί να περιέχει τριχοειδή διαμέτρου μέχρι 100 μm .

6.7 DNA CHIPS

6.7.1 Κατασκευή

Για υψηλή ανάλυση μεγάλου αριθμού γονότυπων με την μία, η τεχνική της φωτολιθογραφικής μικροκατασκευής (από τεχνολογία ημιαγωγών) έχει συνδυαστεί με αυτή της χημείας ολιγονουκλεοτικής σύνθεσης για τη παραγωγή μιας μικροσκοπικής διάταξης για την παρουσίαση μεγάλων αριθμών προκαθορισμένων οργάνων σε γονιδιωματικό DNA.

Τα τσιπ κατασκευάζονται επικαλύπτοντας πρώτα μια επιφάνεια όπως γυαλί ή πυρίτιο με ένα κολλώδες χημικό. Τότε σε καθορισμένες θέσεις, προσκολλούνται νουκλεοτίδια. Αυτά περιλαμβάνουν τις τέσσερις βάσεις αδενίνη (A), κυτοσίνη (C), γουανίνη (G) και θυμίνη (T). τα νουκλεοτίδια τότε συνδέονται για να σχηματίσουν μικρές αλυσίδες με διαφορετικές ακολουθίες.



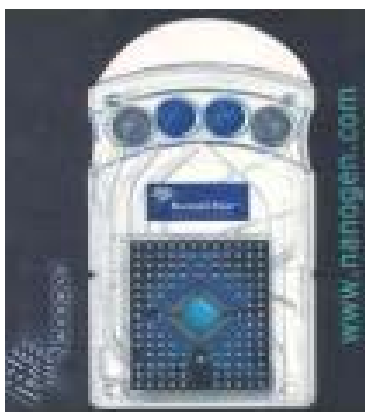
Εικόνα 33: Η ελικοειδή μορφή του DNA.

Μερικοί κατασκευαστές φτιάχνουν πρώτα το τσιπ και έπειτα τα συγκολλούν στην επιφάνεια, ενώ άλλοι τα κατασκευάζουν προσθέτοντας μόρια ένα-ένα. Όταν τελειώσουν, η μικροδιάταξη διαστίζεται από νουκλεοτίδια, που κυμαίνονται από λίγες ντουζίνες σε δεκάδες χιλιάδες μικρών κλώνων νουκλεοτιδίων.

Αυτό το ρεπερτόριο των ακολουθιών αφήνει το DNA chip να κάνει τη δουλειά του-την αναζήτηση συγκεκριμένων ακολουθιών από το γονιδίωμα ενός οργανισμού. Η μέθοδος δουλεύει επειδή το DNA αποτελείται από δύο κλώνους κατά μήκος των οποίων η 'A' στον ένα κλώνο δεσμεύεται με την 'T' στον άλλον και η 'G' στον ένα κλώνο δεσμεύεται πάντα με τη 'C' στον άλλον. Αυτό δίνει στην διπλή έλικα μια 'συμπληρωματική φύση'. Για την επιλογή ενός γονιδίου, τα νήματα του DNA πάνω στο DNA τσιπ δεν χρειάζεται να είναι πολύ μακρά. Ένα τυπικό γονίδιο μπορεί να περιέχει 10.000 ζευγάρια νουκλεοτιδίων, ή περισσότερα. Αλλά μέσα στην αλυσίδα ενός γονιδίου υπάρχει συνήθως μια μικρή ακολουθία, όχι περισσότερες από 25 βάσεις σε μήκος, μοναδική για αυτό το γονίδιο. Κρυπτογραφώντας αυτή την μικρή, μοναδική αλυσίδα σε ένα τσιπ, οι γενετιστές μπορούν να αναπαριστάνουν ολόκληρο το γονίδιο. Αυτή η στενογραφία κάνει ολόκληρη τη διαδικασία κατορθωτή.

6.7.2 Χρήση Των Τσιπ

Για τη χρησιμοποίηση του τσιπ, ένας φυσικός ή τεχνητός εργαστηρίου εξάγει δείγμα DNA ενός οργανισμού από λίγο αίμα ή ιστό. Το DNA καθαρίζεται, αντιγράφεται, χωρίζεται σε μονούς κλώνους και τελικά διασπάται από ένζυμα σε μικρά κομμάτια. Κάθε κομμάτι έπειτα τιτλοφορείται με ένα φθορίζον μόριο.



Εικόνα 34: DNA Chip

Παλιότερα αυτή τη δουλειά την έκαναν οι τεχνικοί, αλλά σήμερα όλες αυτές οι διαδικασίες γίνονται σε αντιδραστικούς θαλάμους που ελέγχονται από υπολογιστή.

Αυτό το μείγμα έπειτα αφήνεται πάνω στο τσιπ. Εάν ένας κλώνος του DNA μέσα στο σύνολο κομματιών συναντήσει ένα συμπληρωματικό ομόλογο στο τσιπ, τα ταιριαστά τμήματα 'κουμπώνονται' μαζί για να σχηματίσουν ένα διπλό κλώνο. Όσο καλύτερο είναι το ταίριασμα, τόσο περισσότεροι είναι οι δεσμοί μεταξύ των κλώνων, και τόσο δυνατότερη η σύνδεση. Η διάταξη τότε ξεπλένεται με ένα χημικό διάλυμα που διασπά όλους τους διπλούς κλώνους που δεν έχουν συνδεθεί καλά. Στη θεωρία, το ζευγάρι που παραμένει είναι το τέλειο ταίριασμα. Στη πράξη, ωστόσο, υπάρχει ένα ποσοστό λάθους 5%. Έτσι ένα τυπικό τσιπ έχει εντοιχισμένες περισσευούμενες δοκιμαστικές θέσεις με το ίδιο μοναδικό κομμάτι DNA, κάθε μια προσφέροντας μια δεύτερη γνώμη στα αποτελέσματα των άλλων. Οι περισσότερες προσπάθειες στην ανίχνευση μεταλλαγών χρησιμοποιώντας τα DNA τσιπ αναφέρουν μη ψευδή θετικά και μόνο τα σποραδικά ψευδή αρνητικά, έτσι η τεχνική αναφέρεται ότι έχει >90% ευαισθησία και γύρω στα 100% ιδιαιτερότητα. Ωστόσο, η έμφυτη δυσκολία στη τελειοποίηση στη μέθοδο υβριδισμού ίσως κάνει δύσκολη την ολοκληρωτική εξάλειψη των λαθών (ειδικά σε αυτή τη μικρή κλίμακα) και αυτό ίσως να θέσει ένα όριο στις χρήσεις των oligo-διατάξεων σε διαγνωστικό πλαίσιο.

Όταν το ξέπλυμα τώρα ολοκληρωθεί, ένα υπολογιστής διαβάζει τη τοποθεσία οποιωνδήποτε φθορίζοντων σημείων που λάμπουν από την επιφάνεια του τσιπ και ταιριάζει αυτές τις θέσεις στο αρχείο του των νουκλεοτιδικών αλυσίδων που είναι εναποθετημένες σε αυτά τα σημεία. Το αποτέλεσμα είναι μια έκθεση πλήρους καταλόγου όλων των γενετικών συστατικών.

Τα DNA τσιπς χρησιμοποιούνται για έναν αριθμό χρήσεων, αρκετές από τις οποίες έχουν ήδη αναπτυχθεί αποτελεσματικά:

- Εύρεση της αλληλουχίας του DNA και πληθυσμιακές μελέτες: Η ανάγνωση ολόκληρης της μιτοχονδριακής γονιδιοματικής αλληλουχίας και το επακόλουθο σκορ πολυμορφισμών σε ασθενείς και σε αντικείμενα μελέτης αποδεικνύει τη προοπτική των DNA τσιπς για αμφότερες διαγνωστικές εφαρμογές και για μελέτη πληθυσμιακών παραλλαγών. Η εκτεταμένη μεταβλητότητα στα γονιδιώματα γρήγορα εξελισσόμενων παθογόνων όπως ο HIV έχει επίσης διευθετηθεί με τη τεχνολογία των τσιπ.
- Μελέτες έκφρασης γονιδίων: ολίγο-cDNA σειρές δείχνουν να είναι ένα ευαίσθητο σύστημα ανίχνευσης για απόλυτα και σχετικά επίπεδα μέσω καταγραφής, και έχουν χρησιμοποιηθεί για τη μέτρηση παραλλαγών γονιδιακής έκφρασης σε καρκινικούς ιστούς.
- Χαρτογράφηση του γονιδιώματος: όργανα που αναγνωρίζουν ένα μεγάλο σύνολο γνωστών μονοβασικών πολυμορφικών επισυναπτικών ουσιών μπορούν να διευθετηθούν πάνω στα τσιπ και να χρησιμοποιηθούν σαν ένα επιπλέον εργαλείο για τη χαρτογράφηση του γονιδιώματος, καθώς και για συνδετικές (σύνδεση: η σύνδεση γονιδίων που εντοπίζονται στο ίδιο χρωμόσωμα, με αποτέλεσμα την τάση μιας ομάδας τέτοιων μη αλληλόμορφων γονιδίων να κληρονομούνται από κοινού) και απλοτυπικές (απλότυπος: η ομάδα των αλληλόμορφων συνδεδεμένων γονιδίων) μελέτες.
- Η πιο ελκυστική προοπτική για εφαρμογή των DNA τσιπ είναι πιθανό να είναι στο πεδίο του εντοπισμού των παραλλαγών, με την αυξανόμενη γκάμα των γενετικών ανωμαλιών για την οποία έχει καθοριστεί ένα ευρύ φάσμα μοναδικών μεταλλαγών. Η κυριότερη προσπάθεια σε αυτή τη κατεύθυνση μέχρι τώρα έχει γίνει για το BCRA1 γονίδιο, όπου ένα πλέγμα πάνω από 96.000 ολίγων έχει εντοπίσει επιτυχώς γνωστές μεταλλαγές των 11 στους 15 ασθενείς με καρκίνο του στήθους.

6.7.3 Ιδιαιτερότητα Στις Ασθένειες

Τα τσιπ μπορούν επίσης να εξειδικευτούν σε ιδιαίτερες παθήσεις, κατασκευάζοντας πανομοιότυπο μικρού αριθμού συγκεκριμένων γονιδίων που εμπλέκονται σε μια ιδιαίτερη ασθένεια από την αρθρίτιδα μέχρι το HIV. Για παράδειγμα, μελετούνται τα ανθρώπινα γονίδια BRCA1 και BRCA2, τα οποία εμπλέκονται σε κληρονομικό καρκίνο του στήθους. Όταν εμφανίζεται καρκίνος του στήθους σε μια οικογένεια, τουλάχιστον το 80% των γυναικών που έχουν προσβληθεί δείχνουν μεταλλαγές σε κάποιο από τα δύο ή

και στα δύο αυτά γονίδια. Οι μεταλλαγές κάνουν τη πιθανότητα των γυναικών να αναπτύξουν καρκίνο τόσο υψηλή όσο το 85%.

Οι ερευνητές δοκιμάζουν τσιπ που διατάσσουν τη πλήρη ακολουθία των 'υγιών' γονιδίων BRCA1 και BRCA2- 5.000 και 10.000 ζεύγη βάσεων αντίστοιχα. Πλημμύρισαν, λοιπόν, ένα τσιπ με το δείγμα των BRCA γονιδίων από μια γυναίκα της οποίας η οικογένεια έχει ιστορικό της ασθένειας. Εάν το γενετικό της δείγμα ταιριάζει σημείο προς σημείο, δηλαδή εάν οι συμπληρωματικές ακολουθίες συνδεθούν σε όλα τα νήματα της μικροδιάταξης, έχει φυσιολογικά BRCA γονίδια και δεν θα πρέπει να ανησυχεί στη ζωή της. Εάν όμως υπάρχουν αποτυχημένοι συνδυασμοί, δηλαδή, ένα ή περισσότερα νήματα δεν βρίσκουν συμπληρωματικά τμήματα, κινδυνεύει να αναπτύξει την ασθένεια.

Χωρίς τα τσιπς, είναι σχετικά εύκολο να ελέγξεις μια μεταλλαγή όταν ξέρεις που να την αναζητήσεις. Αλλά το πρόβλημα είναι ότι το BRCA1 έχει περισσότερες από 500 γνωστές μεταλλαγές και συνεχώς βρίσκονται περισσότερες. Οι περισσότεροι ερευνητές αισθάνονται ότι χρησιμοποιώντας συμβατικές μεθόδους, κάποιος τείνει να μελετήσει μόνο αυτές τις θέσεις, όπου αναμένεται να βρεθεί μια μεταλλαγή. Αλλά, χρησιμοποιώντας τα DNA τσιπς, κάποιος μπορεί να πάρει ολόκληρη έκθεση δεδομένων ενός δείγματος DNA και να καθορίσει εύκολα τη θέση της μεταλλαγής και ακόμα τους παράγοντες, που θα μπορεί να έχουν επηρεάσει τη παραλλαγή.

Αυτή η ικανότητα θα πρέπει να βοηθήσει στη προσαρμογή φαρμάκων για το συγκεκριμένο γενετικό χαρακτήρα κάθε ατόμου. Στα σημερινά χρόνια οι βιολόγοι έχουν ολοκληρωμένη ιδέα του μέσου όρου της γενετικής διαμόρφωσης των ανθρώπινων όντων. Αλλά συγκεκριμένες παραλλαγές από το φυσιολογικό είναι συχνά κρίσιμες για το καθορισμό της ευαισθησίας ενός ατόμου στην ασθένεια ή στην αντίδραση του στα φάρμακα. Τα τσιπς θα επιτρέψουν στους γιατρούς να πάρουν ένα γρήγορο στιγμιότυπο των γονιδίων ενός ατόμου για να δουν ποια θεραπεία είναι η καλύτερη και ποια φάρμακα να αποφύγουν.

Το DNA τσιπ θα είναι ένα ισχυρό μέσο για τη κατανόηση τύπων της γενετικής έκφρασης στα κύτταρα. Ένα γονίδιο εκφράζει τον εαυτό του όταν ενεργεί σαν πατρών για να φτιάξει τη χαρακτηριστική του πρωτεΐνη. Η δύναμη της έκφρασης ενός γονιδίου εξαρτάται από το πόσο πολύ από αυτή τη πρωτεΐνη προκαλείται να φτιαχτεί. Η ύπαρξη ενός εύκολου τρόπου για τη μέτρηση της δύναμης της έκφρασης ενός γονιδίου θα ήταν εξαιρετικά χρήσιμη στους βιολόγους. Αλλά ένα γονίδιο δεν φτιάχνει τη πρωτεΐνη του κατ' ευθείαν. Αντί γι' αυτό, το κύτταρο αποσπά τις πληροφορίες που χρειάζεται για να φτιάξει μια πρωτεΐνη και τις στέλνει σε περιοχές πρωτεϊνικής σύνθεσης στη μορφή του

RNA. Το ποσό της πρωτεΐνης που κατασκευάζεται είναι απευθείας ανάλογο της μετάφρασης του RNA.

6.7.4 Γονιδιακή Έκφραση

Για τη μέτρηση της γονιδιακής έκφρασης σε ένα τσιπ, οι σχεδιαστές ρύθμισαν μικροτεμάχια DNA στο wafer που ταιριάζουν σε διάφορα γονίδια. Αυτή τη φορά, ωστόσο, κάθε γονίδιο αντιπροσωπεύεται από χιλιάδες πανομοιότυπα νήματα. Οι ερευνητές τότε απομόνωσαν το RNA από το δείγμα ενός ασθενούς, το τεμάχισαν, το τιτλοφόρησαν με μια φθορίζουσα 'σημαία', και το άφησαν πάνω στο τσιπ. Κάθε τεμάχιο RNA δεσμεύεται στο κλώνο του γονιδίου από τον οποίο δημιουργήθηκε. Έτσι, εάν ένα γονίδιο εκφράζεται έντονα, τα τεμάχια του RNA μπορεί να δεσμευτούν στους περισσότερους κλώνους που αντιπροσωπεύουν αυτό το γονίδιο στη σειρά, ενώ αυτά ενός γονιδίου που εκφράζεται ασθενώς θα συγκεντρώσουν μόνο λίγα μικροτεμάχια RNA. Με αυτό τον τρόπο, οι βιολόγοι μπορούν να υπολογίσουν τις αναλογίες κάθε εκδοχή αναπαράστασης RNA και να μάθουν πόσο έντονα εκφράζεται το κάθε γονίδιο.

Μπορούμε, για παράδειγμα, να χρησιμοποιήσουμε την έκφραση των γονιδίων για να μελετήσουμε τι κάνει το σώμα για να πολεμήσει μια βακτηριακή μόλυνση- ή τι κάνουν τα βακτήρια για να επιβιώσουν μέσα στον ξενιστή. Το τσιπ δίνει επεξεργασμένα δεδομένα γενετικών προτύπων στις φυσιολογικές και μολυσμένες καταστάσεις 100 με 1000 φορές γρηγορότερα από τις συμβατικές μεθόδους. Μας λέει ποια από τα γονίδια είναι ενεργά κατά τη διάρκεια της μολυσματικής διαδικασίας και επίσης τα γονίδια τα οποία επιτίθενται στα βακτήρια για να αποτρέψουν την ανάπτυξη τους. επίσης δείχνει την ισχυρότερη αντίδραση που παρουσιάζεται από το σώμα του ξενιστή. Με αυτό τον τρόπο θα βοηθήσει στη μελέτη του μηχανισμού δράσης του ξενιστή και του παθογόνου οργανισμού κατά τη διάρκεια της πορείας μιας μόλυνσης.

Η ικανότητα της ανάγνωσης των προτύπων έκφρασης επιτρέπει επίσης στους επιστήμονες να διακρίνουν ανθρώπους με προφανώς πανομοιότυπες ασθένειες. Η μελέτη των προτύπων έκφρασης δεκάδων χιλιάδων γονιδίων, ασθένειες όπως το Λέμφωμα (οποιαδήποτε νεοπλασία του λεμφοειδούς ιστού), μπορεί να διακριθεί αποκαλύπτοντας υποσύνολα ασθενών με διαφορετικούς τύπους γονιδιακής έκφρασης. Μικροσκοπικές διαφορές μπορεί να είναι θέμα ζωής και θανάτου, δεδομένου ότι κάθε υποσύνολο μπορεί να ανταποκριθεί διαφορετικά στην ίδια θεραπευτική αγωγή. Με τη κατανόηση της

γενετικής συμπεριφοράς μιας συγκεκριμένης μορφής μιας ασθένειας και της αντίδρασης της σε διαφορετικές αγωγές, οι θεραπείες μπορούν να σχεδιαστούν πιο προσεκτικά για κάθε ασθενή. Οι ερευνητές χρησιμοποιούν τους τύπους έκφρασης για να καθορίσουν εάν οι ασθενείς είναι σε υψηλό κίνδυνο και χρειάζονται γρήγορη και ριζική αγωγή ή λιγότερο δραματική θεραπεία για μακρύ χρονικό διάστημα.

Νέες εφευρέσεις οι οποίες έχουν προβλεφθεί σε σχέση με τα τσιπ περιλαμβάνουν την ανάπτυξη ολοκληρωμένων συστημάτων πολλαπλών συστατικών (πχ το 'lab-on-a-chip') τα οποία αναζητούν τη μικροσκοπικοποίηση και τη κατηγοριοποίηση τέτοιων διαδικασιών όπως την αφομοίωση ενζύμων περιστολής, τη PCR, και τη τριχοειδική ηλεκτροφόρηση σε μια μοναδική λειτουργική συσκευή. Και τη τεχνική της 'μινι-αλληλοδιαδοχής' η οποία ανιχνεύει μεταλλαγές όχι με υβριδοποίηση αλλά με επιμήκυνση μιας σταθερής συμπληρωματικής ακολουθίας σε μια αμέσως γειτονική σε μια γνωστή πολυμορφική θέση (μέχρι στιγμής εφαρμόσιμη μόνο σε γυάλινα υποστρώματα, αλλά θεωρητικά προσαρμόσιμα σε πυριτιούχα τσιπ) και η οποία επικαλείται να προσφέρει εντονότερη διάσπαση ομοζυγωτικών και ετεροζυγωτικών μεταλλαγμένων γονότυπων απ' ότι είναι πιθανή με τις ολίγο-διατάξεις.

6.7.5 Σχεδιασμός Φαρμάκων

Τα τσιπ θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σχεδιασμοί φαρμάκων και για ιατρική διάγνωση. Οι φαρμακευτικές εταιρίες δοκιμάζουν τεράστιο αριθμό ενδεχόμενων φαρμάκων ενάντια σε ένα φάσμα βιοχημικών για να καθορίσουν τις αλληλεπιδράσεις τους. επίσης δοκιμάζουν χιλιάδες παραλλαγές οποιοδήποτε υποσχόμενου συστατικού για να δουν τα μέγιστα οφέλη του και τις ελάχιστες παρενέργειες τους. τα τσιπ μπορεί να επιταχύνουν αυτές τις διαδικασίες ελέγχου.

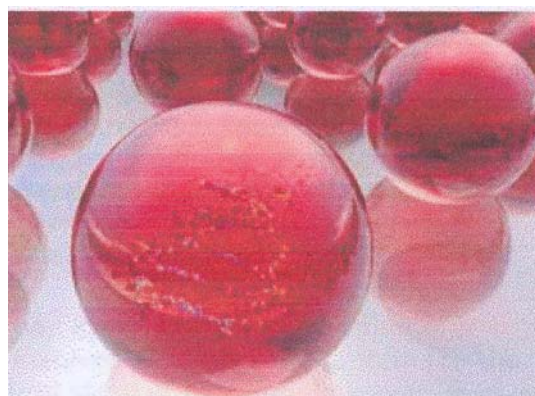
6.8 GENE CHIP

Πολλές ακαδημίες και βιομηχανικά ινστιτούτα έχουν συνεργαστεί για να αναπτύξουν βιοτσιπ που είναι προσιτά οικονομικά και που ανιχνεύουν γρήγορα λοιμώξεις που είναι απειλητικές για τη ζωή όπως το HIV και η φυματίωση σε πρώιμο στάδιο. Η έγκαιρη ανίχνευση είναι ένα από τα σημαντικότερα 'κλειδιά' στην επιτυχή αντιμετώπιση των περισσότερων μολυσματικών νόσων. Κατά τη χρονική περίοδο της λοίμωξης ένα ολόκληρο φάσμα γονιδίων, ειδικά αυτά του ανοσολογικού συστήματος, είτε

ενεργοποιούνται είτε καταστέλλονται. Αυτά πρέπει να αναγνωριστούν. Οι πληροφορίες που εξάγονται από τη τεχνολογία αυτού του τσιπ παρέχει στους κλινικούς γιατρούς ένα ολότελα νέο και πολύ αποτελεσματικό διαγνωστικό μέσο.

Ένα τέτοιο ανοσοτσιπ μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη κλινική για τη προσεκτική εξέταση ενός ασθενούς για συγκεκριμένες ασθένειες. Για να ανιχνευθεί η δραστηριότητα του ανοσολογικού συστήματος ενός ασθενούς, το RNA του ασθενούς (αγγελιοφόρα μόρια που λένε στο κυτταρικό μηχανισμό πόσο και από ποια πρωτεΐνη να φτιάξει) απομονώνεται από ένα αιματολογικό δείγμα, μετατρέπεται σε εκατομμύρια μόρια DNA, επισυνάπτεται με μια φθορίζουσα ουσία και φέρεται σε επαφή με το DNA στο τσιπ. Προϊόντα ενεργών γονιδίων από τον ασθενή αναγνωρίζουν τους συμπληρωματικούς τους παρτενέρ πάνω στο τσιπ και ενώνονται μαζί τους, παράγοντας ένα χαρακτηριστικό πράσινο, κόκκινο ή κίτρινο φθορίζων σήμα.

Εικόνα 35: Μικροσταγονίδια που εξυπηρετούν σαν μικροσκοπικοί δοκιμαστικοί σωλήνες. Επεξεργάζονται με ένα πατενταρισμένο λεπτό στρώμα επικάλυψης που επιτρέπει στους επιστήμονες να επισυνάψουν πιο αποδοτικά εκατομμύρια DNA, RNA, πρωτεΐνες ή φαρμακευτικά μόρια στην επιφάνεια του τσιπ.



Πώς μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε ένα τέτοιο βιοτσιπ για να ψάξουμε στα γονίδια ενός ατόμου; Το μόνο που έχουμε να κάνουμε είναι να λάβουμε λίγο από το DNA του ατόμου, πχ από ένα αιματολογικό δείγμα ή ακόμα και από λίγες τρίχες. Στη συνέχεια να ρίξουμε το υγρό που περιέχει το DNA στην επιφάνεια του βιοτσιπ. Κάθε σημείο που το DNA έχει ένα γονίδιο που να ταιριάζει σε έναν από τους κλώνους του βιοτσιπ, θα συγκολληθεί σε αυτό με έναν τρόπο που ο υπολογιστής μπορεί να ανιχνεύσει.

Πρόσφατα ανακοινώθηκε ότι έχει ουσιαστικά ολοκληρωθεί κατά το 90% ο προσδιορισμός της ακολουθίας του DNA. Ήδη οι ερευνητές είναι απασχολημένοι με τη σύγκριση της, κατά γενική τους παραδοχή, 'ακολουθία αναφοράς' με το DNA διαφόρων ατόμων, και την επισήμανση των διαφορών που εντοπίζουν. Καλούμενες μοναδικοί νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί, ή SNPs (προφέρονται 'snips'), αυτές οι διαφορές στη ταυτότητα συγκεκριμένων νουκλεοτιδίων επισημαίνουν κάθε τρόπο με τον οποίο ένα συγκεκριμένο νουκλεοτίδιο διαφέρει από τη ακολουθία αναφοράς. Μερικά SNPs προκαλούν ασθένειες όπως τη κυστική ίνωση ή τη δρεπανοκυτταρική αναιμία. Άλλα μπορεί να μας δώσουν κόκκινα μαλλιά ή αυξημένη χοληστερόλη στο αίμα μας. Καθώς το σχέδιο του Ανθρώπινου Γονιδιώματος ολοκληρώνεται, οι ερευνητές του

συγκεντρώνουν ένα τεράστιο ηλεκτρονικό αρχείο από SNPs. Η έρευνα δείχνει ότι τα SNPs είναι αναμενόμενο να συμβούν σε συχνότητα του ενός στα χίλια νουκλεοτίδια, διασκορπισμένα τυχαία πάνω στα χρωμοσώματα. Καθένας από μας, ωστόσο, διαφέρει από τον πρότυπο ‘τύπο αλληλουχίας’ σε αρκετές χιλιάδες νουκλεοτιδικά SNPs. Κάθε τι γενετικό πάνω μας που διαφέρει από ένα ξένο που συναντούμε προκαλείται από λίγες χιλιάδες SNPs, διαφορετικά θα ήμασταν πανομοιότυποι με αυτό τον ξένο.

6.8.1 Τεχνολογία Των Gene Chip

Τα GeneChips είναι νουκλεοτιδικές μικροδιατάξεις οι οποίες έχουν ακολουθίες των 10-25 ζευγών βάσεων που αντιπροσωπεύουν κάθε γονίδιο ενός συγκεκριμένου γονιδιώματος. Αυτές οι διατάξεις επιτρέπουν στους ερευνητές να αναγνωρίσουν γενετικές παραλλαγές σε μεγάλη και μικρή κλίμακα μέσω αξιοποίησης της ανάλυσης ολόκληρου του γονιδιώματος. Με την ακρίβεια και την αναπαραγωγή του GeneChip, είναι πιθανό να παρακολουθήσουμε τη πορεία των δραστηριοτήτων χιλιάδων γονιδίων ταυτόχρονα. Πριν τη τεχνολογία των μικροδιατάξεων, οι ερευνητές ήταν περιορισμένοι στη παρατήρηση λίγων γονιδίων τη φορά. Με την ανάλυση ολόκληρου του γονιδιώματος, είναι πιθανός ο εντοπισμός των κρίσιμων γονιδίων που εμπλέκονται σε μια συγκεκριμένη διαδικασία. Αυτό συμπύσσει σημαντικά την έρευνα των διερευνητών, εξοικονομώντας χρόνο και χρήμα.



Εικόνα 36: GeneChip

Οι μικροδιατάξεις των GeneChips κανονικά χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση των mRNAs που μεταγράφονται από τα γονίδια για να κρυπτογραφήσουν τις αντίστοιχες πρωτεΐνες. Το συνολικό RNA εξάγεται από πολλά κύτταρα ενός μόνο τύπου, μετατρέπεται σε cDNA, και τότε ενισχύεται. Το ενισχυμένο cDNA μετατρέπεται τότε σε cRNA, το οποίο τότε τεμαχίζεται και υβριδοποιείται πάνω σε ένα GeneChip. Το τσιπ πλένεται, χρωματίζεται με μια φθορίζουσα ουσία, και ανιχνεύεται. Τα αποτελέσματα μιας ανίχνευσης αναλύονται από ένα ή περισσότερα προγράμματα. Η εικόνα που παράγεται από το GeneChip αποκαλύπτει πρόσφατα μεταγραμμένα ή ‘εκφρασμένα’ γονίδια. Κάθε σημείο που μοιάζει με pixel αντιπροσωπεύει μια μήλη, η οποία είναι ένα συγκεκριμένο σημείο πάνω σε ένα γονίδιο-ένα σύνολο τέτοιων μηλών είναι το άθροισμα των μήλων σε ένα γονίδιο.

Η διευκόλυνση της γονιδιακής έκφρασης έχει τώρα τη ικανότητα της χρήσης ενός παράλληλου επιπέδου τεχνολογίας για τη διεξαγωγή πειραμάτων με DNA. Μελέτες σύνδεσης, χρωμοσωμική ανάλυση, απώλεια της ετεροζυγωτίας, και πληθυσμιακές

μελέτες είναι πιθανές με πειραματισμό που αρχίζει με υψηλής ποιότητας DNA και τελειώνει σε υβριδοποιημένο σύνολο SNP. Με αμφοτέρα RNA και DNA τσιπς, χρησιμοποιείται ένα πρόγραμμα ανάλυσης δεδομένων για τη μετάφραση των εντάσεων των μηλών, η οποία γίνεται διαφορετικά από κάθε πρόγραμμα. Η διευκόλυνση της γονιδιακής έκφρασης χρησιμοποιεί ένα συνδυασμό διαθέσιμων προγραμμάτων για να εξασφαλίσει τη πιο ακριβή ερμηνεία των δεδομένων.

6.8.2 Χρήση Των Βιοτσιπ Στην Εξέταση Του Καρκίνου

Μια από τις μεγαλύτερες αποφάσεις που αντιμετωπίζει ένας ογκολόγος (γιατρός ειδικευμένος στο καρκίνο) για την αντιμετώπιση ενός όγκου είναι η επιλογή της κατάλληλης θεραπείας. Τα περισσότερα καρκινικά κύτταρα μοιάζουν να είναι παρόμοια, παρόλο που οι όγκοι μπορούν στη πραγματικότητα να προκληθούν από διαφορετικές μορφές καρκίνου. Εάν ο ογκολόγος μπορούσε ξεκάθαρα να προσδιορίσει το καρκίνο, θα μπορούσε να ήταν δυνατή η ύπαρξη συγκεκριμένων θεραπειών. Ωστόσο επειδή είναι ανίκανοι να πουν τη διαφορά με σιγουριά, δεν το ρισκάρουν. Οι όγκοι αντιμετωπίζονται με θεραπεία που προσβάλλει όλους τους καρκίνους, συνήθως με αρκετές παρενέργειες.

Πρόσφατα οι ερευνητές έκαναν ένα μεγάλο βήμα απέναντι στην αντιμετώπιση του καρκίνου, χρησιμοποιώντας τεχνολογία DNA για να ανακαλύψουν τις διαφορές μεταξύ διαφορετικών μορφών ενός θανάσιμου καρκίνου του ανοσολογικού συστήματος. Ο τρόπος να πεις τη διαφορά μεταξύ δύο ειδών καρκίνου είναι να συγκρίνεις τις μεταλλαγές που οδηγούν στον καρκίνο κατά πρώτο λόγο. Οι βιολόγοι καλούν αυτές τις γονιδιακές αλλαγές μεταλλάξεις. Οι μεταλλάξεις που προκαλούν πολλούς καρκίνους του πνεύμονα προκαλούνται από μια τροποποίηση, που προκαλείται από τη νικοτίνη, σε ένα μόνο νουκλεοτίδιο του DNA σε ένα γονίδιο. Τέτοιες διαφορές μεταξύ της παραλλαγής ενός γονιδίου που έχουν δύο άτομα, ή που έχει ένας καρκινοπαθής, είναι παραδείγματα τέτοιων SNPs.

Σε ένα πείραμα οι ερευνητές πήραν κύτταρα από μυελό των οστών από ασθενείς δύο τύπων λευχαιμίας (καρκίνος των λευκών αιμοσφαιρίων του αίματος), και εκθέσανε DNA από το καθένα σε βιοτσιπς που περιείχαν όλα τα γνωστά ανθρώπινα γονίδια, 6.817 συνολικά.

Χρησιμοποιώντας υπολογιστικά προγράμματα υψηλής ταχύτητας εξέτασαν κάθε μια από τις 6.817 θέσεις στο τσιπ. Οι δύο μορφές λευχαιμίας έδειξαν η κάθε μια γονιδιακές αλλαγές από το φυσιολογικό, αλλά οι αλλαγές ήταν διαφορετικές σε κάθε περίπτωση! Κάθε μια είχε το δικό τους χαρακτηριστικό SNP. Έτσι τα βιοτσιπ μπορούν να προσφέρουν γρήγορο και αξιόπιστο τρόπο για την αναγνώριση κάθε τύπου καρκίνου.

6.8.3 Η Χρήση Των Gene Chips Σύντομα Θα Είναι Καθολική

Η τεχνολογία των βιοτσιπ αναμένεται να κυριαρχήσει στην ιατρική, μια προοπτική συναρπαστική αλλά και τρομακτική. Οι ερευνητές έχουν ανακοινώσει σχέδια για τη κατάρτιση ενός ηλεκτρονικού αρχείου εκατοντάδων χιλιάδων SNPs στα επόμενα δύο χρόνια. Ο έλεγχος των SNPs και η σύγκριση τους με γνωστά αρχεία SNP σύντομα θα επιτρέψει στους γιατρούς να εξετάζουν τον καθένα από μας σε αντίγραφα γονιδίων που οδηγούν σε γενετικές ασθένειες. Πολλές γενετικές ασθένειες σχετίζονται με τα SNPs, περιλαμβάνοντας την κυστική ίνωση και την μυϊκή δυστροφία.

6.8.4 Τα Βιοτσιπ Προκαλούν Κρίσιμα Ζητήματα Για Την Προσωπική Ζωή

Το τρομαχτικό μέρος στα τσιπς είναι τα SNPs. Οι ερευνητές έχουν προσδιορίσει 300.000 διαφορετικά SNPs, όλα εκ των οποίων θα μπορούσαν να εδρεύουν σε ένα μόνο βιοτσιπ. Όταν το DNA κάποιου ρέεται σε ένα SNP βιοτσιπ, οι ακολουθίες που φωτίζουν θα αποκαλύψουν στιγμιαία το SNP προφίλ του. Τα γενετικά χαρακτηριστικά που κάνουν κάποιο να είναι αυτός που είναι, γονίδια που ίσως επηρεάσουν την υγεία του, τη συμπεριφορά του, όλα είναι εκεί για να διαβαστούν από οποιονδήποτε αρκετά έξυπνο να ερμηνεύσει αυτό το προφίλ.

Σε τι βαθμό είμαστε τα γονίδια μας; Οι επιστήμονες τσακώνονται για αυτή την ερώτηση, και κανένας πραγματικά δεν ξέρει την απάντηση. Είναι προφανές ότι πολύ από αυτό που ο καθένας μας είναι, επηρεάζεται έντονα από τη γενετική μας διαμόρφωση. Οι ερευνητές έχουν αποδείξει πέρα από κάθε πραγματική αντιπαράθεση ότι η νοημοσύνη και πρωτεύοντα γνωρίσματα της προσωπικότητας όπως η επιθετικότητα και η περιέργεια είναι περίπου 80% κληρονομήσιμες (δηλαδή, το 80% της παραλλαγής σε αυτά τα γνωρίσματα αντιπροσωπεύουν παραλλαγή στα γονίδια).

Το SNP προφίλ μας θα αντιπροσωπεύσει όλη αυτή τη παραλλαγή, ένας πίνακας περιεχομένων των χρωμοσωμάτων μας, ένα μοριακό παράθυρο στο ποιο είμαστε. Όταν εκατομμύρια τέτοιων SNP προφίλ έχουν συλλεχτεί στα επρχόμενα χρόνια, οι υπολογιστές θα είναι ικανοί να αναγνωρίσουν άλλα άτομα με προφίλ σαν το δικό μας, και, εξετάζοντας μητρώα της υγείας μας, πρότυπα τεστ προσωπικότητας, θα αντιστοιχίζουν τμήματα του προφίλ μας με συγκεκριμένα χαρακτηριστικά γνωρίσματα. Ακόμα τα χαρακτηριστικά της συμπεριφοράς που αφορούν πολλά γονίδια, τα οποία μέχρι τώρα

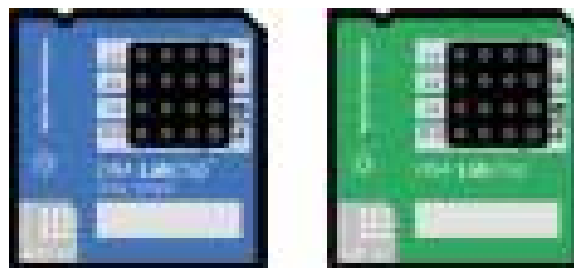
έχουν θεωρηθεί πολύ πολύπλοκα για να αναλυθούν, δεν μπορούν να αντισταθούν σε μια καθορισμένη εφόρμηση από υπολογιστή που συγκρίνει SNP προφίλ.

Ένα βιοτσιπ είναι μια διακεκριμένη συλλογή γονιδιακών τεμαχίων σε ένα τσιπ στο μέγεθος γραμματοσήμου το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο της παρουσίας συγκεκριμένων γονιδιακών παραλλαγών. Τα βιοτσιπς επιτρέπουν γρήγορο έλεγχο των γονιδιακών προφίλ, ένα μέσο που υπόσχεται να έχει επαναστατικό αντίκτυπο στην ιατρική και τη κοινωνία.

6.9 LAB ON A CHIP

Ένα πολλά υποσχόμενο αναλυτικό εργαλείο για την ανάλυση των πρωτεϊνών και πρωτεϊνικά πολυμερή στο βιολογικό εργαστήριο του μέλλοντος είναι μια μικρορευστομηχανική συσκευή που κατά γενικό κανόνα καλείται ‘Lab-on-a-chip’.

Εικόνα 37: Απεικόνιση των Lab-on-a-chips



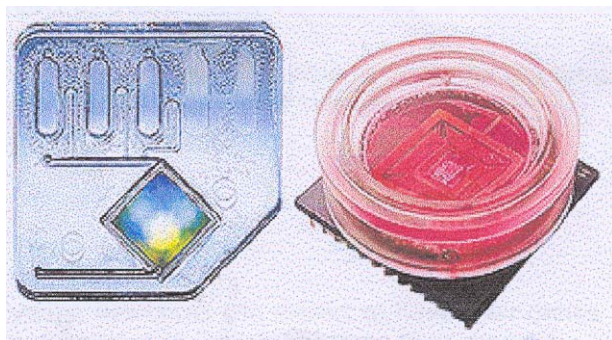
Αυτά τα ‘εργαστήρια’ είναι κατασκευασμένα χρησιμοποιώντας φωτολιθογραφικές διαδικασίες

αναπτυγμένες στη μικροηλεκτρονική βιομηχανία για τη δημιουργία κυκλωμάτων από μικροσκοπικούς θαλάμους και κανάλια σε τσιπ από χαλαζία, πυρίτιο ή γυαλί. Αυτά τα τσιπ κατευθύνουν τη ροή των υγρών, χημικών αντιδραστηρίων ακριβώς όπως οι ημιαγωγοί κατευθύνουν τη ροή των ηλεκτρονίων. Αυτά τα αντιδραστήρια μπορούν να αραιωθούν, να συνδυαστούν, να αντιδράσουν με άλλα αντιδραστήρια, ή να διαχωριστούν με τριχοειδική ηλεκτροφόρηση ή με ηλεκτροχρωματογράφηση – όλα σε ένα μοναδικό τσιπ.

Αυτά τα μικρορευστομηχανικά κυκλώματα μπορούν να σχεδιαστούν για να προσαρμόσουν ουσιαστικά οποιαδήποτε βιοχημική επεξεργασία. Για παράδειγμα, ένα lab-on-a-chip για ανοσολογικές αναλύσεις πιθανών να ενσωματώνει εισαγωγή δείγματος, αραιώση, αντίδραση, και διαχωρισμό, ενώ κάποιο το οποίο είναι σχεδιασμένο για τη χαρτογράφηση ενζυμικών τεμαχίων περιστολής ίσως να έχει ένα θάλαμο ενζυμικής αφομοίωσης ακολουθούμενος από μια σχετικά μακρά στήλη διαχωρισμού. Πολλά χαρακτηριστικά αυτών των lab-on-a-chip τα κάνουν ταιριαστά για αναλύσεις υψηλού έργου. Το μικρό τους μέγεθος μειώνει τους χρόνους επεξεργασίας και το ποσό των αντιδραστηρίων που είναι απαραίτητα για μια ανάλυση, μειώνοντας σημαντικά τις δαπάνες. Ακριβώς όπως οι μικροηλεκτρονικές συσκευές μπορούν να κατασκευαστούν με

πολλά στοιχεία σε ένα μόνο τσιπ, οι μικρορευστομηχανικές συσκευές μπορούν να κατασκευαστούν με πολλά κανάλια, επιτρέποντας τεράστια ποσότητα παράλληλων χημικών αναλύσεων σε λογικό κόστος. Ταιριάζουν μοναδικά σε αναλύσεις μικρής κλίμακας, οι δειγματικές ποσότητες για ένα μόνο πείραμα συχνά είναι στη κλίμακα των νανολίτρων (10^{-9} λίτρα) και πικολίτρων (10^{-12} λίτρα), ανοίγοντας έτσι τη πόρτα στη πιθανότητα της ανάλυσης συστατικών ελεύθερων κυττάρων.

Το lab on a chip, λοιπόν, θα βοηθήσει τους γιατρούς να κάνουν γρηγορότερες και ακριβέστερες διαγνώσεις καθώς και θα υποδείξουν φθηνότερες και πιο αποτελεσματικές θεραπείες. Όλα αυτά χάρη στη πρόοδο των πυριτιούχων τσιπ και της δύναμης των υπολογιστών. Το lab on a chip κάτω από ανάπτυξη θα επιτρέψει στους γιατρούς να προσδιορίζουν γοργά και με ακρίβεια νόσους, ενώ ταυτόχρονα θα παίρνουν τις απαραίτητες πληροφορίες για τον ασθενή για να προσαρμόσουν την καλύτερη δυνατή θεραπεία για αυτόν.



Εικόνα 38: Βιοτσιπς (αριστερά) θα επιτρέψουν στους γιατρούς να προσδιορίζουν τις ασθένειες γρήγορα, ενώ εξελιγμένα όπως το νευροτσιπ (δεξιά) μπορούν να μετρήσουν σήματα που εκπέμπονται από ζωντανά νευρικά κύτταρα.

Για παραπέρα βελτίωση της τεχνολογίας των πρωτεϊνικών τσιπ, μια μέθοδος γνωστή ως γηγενής στιγματισμός (native spotting) είναι ήδη προς ανάπτυξη. Ο γηγενής στιγματισμός προϋποθέτει τη προσκόλληση των πρωτεϊνών στην επιφάνεια του τσιπ στη 'γγενή' ή φυσική τους κατάσταση. Η φυσική κατάσταση των πρωτεϊνών, ωστόσο, είναι σε υδατοειδές περιβάλλον. Επομένως, οι ερευνητές έχουν χρησιμοποιήσει τη πατενταρισμένη νανοτεχνολογία, γνωστή ως lab-on-a-chip για να βυθίσει τις σταθερές πρωτεΐνες σε μικροσταγονίδια. Αυτά τα μικροσταγονίδια όχι μόνο κρατούν τις πρωτεΐνες στο τσιπ στη γηγενή τους κατάσταση, αλλά επίσης βελτιώνουν τα αποτελέσματα των εξετάσεων. Τα μικροσταγονίδια ενεργούν σαν μίνι δοκιμαστικοί σωλήνες χωρίς τοιχώματα, μειώνοντας έτσι την απώλεια πολύτιμης πρωτεΐνης από τον ασθενή, εξαιτίας της απορρόφησης του υλικού του δοκιμαστικού σωλήνα.

Οι πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις μπορούν να είναι χρήσιμες, όχι μόνο για τη έγκαιρη διάγνωση πολλών ασθενειών, αλλά επίσης και για τη μελέτη του μηχανισμού της φαρμακευτικής δράσης στο σώμα ή για το προσδιορισμό της προσωπικής προδιάθεσης ορισμένων ασθενών στις παρενέργειες των φαρμάκων και στις αλλεργίες.

Όταν τα σωματικά υγρά ενός ασθενούς όπως είναι το σάλιο ή το αίμα έρθουν σε επαφή με το βιοτσιπ, μόρια ρέουν μέσα στα φρεάτια, τα οποία έχουν μέσα τους ειδικά μόρια 'ανίχνευσης'- όπως αισθητήρες. Εάν μια ορισμένη πάθηση είναι παρούσα στα μόρια του ασθενούς, οι αισθητήρες εκπέμπουν φως. Για παράδειγμα, εάν ένας γιατρός θέλει να εξετάσει έναν ασθενή για συμπτώματα πυρετού, θα είναι ικανός να εξετάσει το σάλιο ή το αίμα του ασθενούς χρησιμοποιώντας ένα βιοτσιπ 'πυρετού' το οποίο, με τη σειρά του, εξετάζει τις πιθανές αιτίες του πυρετού. Μετά το τεστ, ο γιατρός μπορεί να εξετάσει τη διαμόρφωση του φωτός του τσιπ για να επιβεβαιώσει την ανάλυση του.

Καθώς τα διαφορετικά φρεάτια στο βιοτσιπ αντιδρούν με διαφορετικές γενετικές παθήσεις, ένας ασθενής που πάσχει από σφοδρό και οξύ αναπνευστικό σύνδρομο (Sars) θα παρουσιάσει μια διαφορετική διαμόρφωση φωτός από κάποιον που πάσχει από γρίπη. Εκτός από διάγνωση, τα βιοτσιπ μπορούν επίσης να προσδιορίσουν τη γενετική διαμόρφωση του ασθενούς όπως έχω ήδη αναφέρει. Το οργανικό προσχέδιο θα επιτρέψει στο γιατρό να εκτιμήσει πόσο καλά ένας ασθενής θα ανταποκριθεί σε διάφορες θεραπείες. Αυτό σημαίνει ότι οι θάνατοι λόγω αλλεργίας σε φάρμακα, μια από τις πρώτες 10 αιτίες θανάτου στο κόσμο σήμερα, θα ανήκει στο παρελθόν. Και πλέον δεν θα ξανακούσουμε τον γιατρό να μας λέει να γυρίσουμε σε μια βδομάδα εάν τα χορηγούμενα φάρμακα δεν φέρουν τα επιδιωκόμενα αποτελέσματα. Θα ξέρει ήδη στα σίγουρα τη θεραπεία στην οποία ανταποκρινόμαστε καλύτερα.

Σχετικά απλά labs-on-a-chip χρησιμοποιούνται ήδη για ορισμένες αναλύσεις νουκλεϊκού οξέος και πρωτεϊνών, αλλά η τεχνολογία ρευστομηχανικών σύντομα θα επιτρέψει την εκτέλεση ανά ημέρα εκατομμυρίων αυτόματων βιοχημικών πειραμάτων χρησιμοποιώντας μικροσκοπικές ποσότητες αντιδραστηρίων. Τελικά, η ατομική ανάλυση ίσως να αντικατασταθεί από πρωτόκολλα στα οποία δεκάδες χιλιάδες αναλυτικές μετρήσεις θα παριστάνονται παράλληλα είτε στο ίδιο είτε σε πολλαπλά δείγματα.

6.10 VERICHIP

6.10.1 Τι Είναι Το Verichip, Και Πώς Εισάγεται

Το VeriChip είναι ένα αδρανές, περιβαλλόμενο από κάψα μικροτσιπ που ηλεκτροδοτείται και μεταδίδει τις πληροφορίες του όταν ενεργοποιείται από έναν αναγνώστη VeriChip. Επειδή το VeriChip είναι πολύ μικρό είναι ουσιαστικά μη ανιχνεύσιμο και πρακτικά άφθαρτο άπαξ και εισαχθεί κάτω από το δέρμα. Το τσιπ έχει μια ειδικά κάψα από πολυαιθυλένιο που βοηθά το δέρμα να συγκολληθεί σε αυτό – έτσι παραμένει στη θέση του. Εφόσον το τσιπ δεν έχει μπαταρία, δεν υπάρχουν χημικά για να ανησυχήσουμε και το τσιπ ποτέ δεν ‘εξασθενεί’, η προσδοκούμενη ζωή του φτάνει τα 20 χρόνια.

Το τσιπ εισάγεται κάτω από το δέρμα στο εύσαρκο μέρος (στο εσωτερικό τμήμα) του άνω βραχίονα. Ο ειδικός εισαγωγέας και το τσιπ προ-συγκεντρώνονται και αποστειρώνονται για την ασφάλεια μας. Ο εισαγωγέας έπειτα από την εισαγωγή πετιέται, είναι δηλαδή μιας χρήσεως. Κατά την εισαγωγή υπάρχει μια πολύ μικρή δυσφορία, μικρότερη από αυτή που έχουμε όταν μας κάνουν μια ένεση.

Η διαδικασία που γίνεται είναι η εξής: ένα άτομο αγοράζει το τσιπ από την εταιρία στην τιμή των \$200. το άτομο που αναζητά την εμφύτευση παίρνει τη μικροσκοπική συσκευή- στο μέγεθος ενός κόκκου ρυζιού, στο γιατρό του, ο οποίος μπορεί να την εισάγει με την κατάλληλη βελόνα. Ο γιατρός παρακολουθεί τη συσκευή μέσω οθόνης για αρκετές εβδομάδες για να βεβαιωθεί ότι δεν κινείται και ότι δεν αναπτύσσει μόλυνση. Η συσκευή αντί για ενέργεια, περιέχει ένα μαγνητικό πεδίο μήκους 1 mm το οποίο ενεργοποιείται όταν μια συσκευή ανίχνευσης διατρέχει το δέρμα πάνω από αυτό. Ένας μικροσκοπικός πομπός εκπέμπει τα δεδομένα.

6.10.2 Άλλες Χρήσεις Του VeriChip

Το VeriChip προωθείται ως παγκόσμιο μέσο αναγνώρισης. Προσδοκάται να χρησιμοποιηθεί σε ποικιλία εφαρμογών περιλαμβάνοντας χρηματοοικονομική και μεταφορική ασφάλεια, αστική και εμπορική πρόσβαση σε κτίρια, στρατιωτική και κυβερνητική ασφάλεια.

6.10.3 Τεχνολογία Του VeriChip

Οι περισσότεροι άνθρωποι είναι εξοικειωμένοι με τους σαρωτές laser στα μαγαζιά που σκανάρουν γραμμοκώδικες και αναγνωρίζουν τα αγαθά για να αγοραστούν. Οι γραμμοκώδικες χρησιμοποιούνται επίσης από τη ταχυδρομική υπηρεσία για την αυτόματη αναγνώριση δεμάτων και γραμμάτων, όπως και από πολλές άλλες υπηρεσίες. Το σύστημα ηλεκτρονικής αναγνώρισης παρέχει ουσιαστικά την ίδια δυνατότητα για την αναγνώριση των ανθρώπων, όπου ένα ID σύστημα που χρησιμοποιεί ετικέτες δεν είναι πρακτικό.

Το VeriChip σε σχήμα αγωγού περιλαμβάνει μια μνήμη που κρατά 128 χαρακτήρες πληροφοριών, μια ηλεκτρομαγνητική σπείρα για την εκπομπή δεδομένων και ένα πυκνωτή συντονισμού, όλα περιβαλλόμενα από κάψα σιλικόνη και γυαλί. Η παθητική RF μονάδα, που λειτουργεί στα 125 KHz, ενεργοποιείται μετακινώντας ένα ειδικά σχεδιασμένο σαρωτή. Αυτή η μετακίνηση διεγείρει το πηνίο και ‘ξυπνάει’ το τσιπ, επιτρέποντας την εκπομπή δεδομένων. Τα τσιπ θεωρούνται ότι είναι παρόμοια με αυτά που ήδη έχουν εμφυτευτεί σε εκατομμύρια σκύλους και γάτες για να επιτρέψουν στους ιδιοκτήτες τους να αναγνωρίσουν και να ανακτήσουν κατοικίδια που έχουν προσωρινά χαθεί. Τα ανθρώπινα τσιπ διαφέρουν κυρίως στο βιοσυμβατό στρώμα επικάλυψης που χρησιμοποιείται για να εμποδίσει το σώμα να απορρίψει το εμφυτευόμενο τσιπ. Το VeriChip πιστεύεται ότι είναι το πρώτο τσιπ σχεδιασμένο για την ανθρώπινη αναγνώριση.

Υπάρχουν δύο βασικές διαφορές μεταξύ της ηλεκτρονικής εξακρίβωσης και της τεχνολογίας γραμμοκώδικα: **στο πως ο αριθμός ID διαβάζεται και στο πως αποθηκεύεται.** Η ηλεκτρονική εξακρίβωση χρησιμοποιεί ένα συνηθισμένο ασύρματο σήμα χαμηλής ενέργειας για την ανάγνωση ενός αριθμού ID που είναι αποθηκευμένος σε ένα μικροσκοπικό ηλεκτρονικό κύκλωμα, παρά ένα φως laser για την ανάγνωση μιας ετικέτας. Η ηλεκτρονική ID βασισμένη σε αυτά τα ασύρματα σήματα αναφέρεται επίσης και σαν αναγνώριση ραδιοσυχνότητας, ή RFID. Αυτά τα κύματα χαμηλής ραδιοσυχνότητας, σε αντίθεση με το φως, μπορεί να διαπεράσει όλα τα συμπαγή αντικείμενα εκτός από το μέταλλο. Επομένως, η χρήση ηλεκτρονικής ID εκθέτεται σε απώλεια και σε τροποποίηση, εκτός θέας, ή να φορεθεί όπως για παράδειγμα, θα μπορούσε να γίνει ένα εξωτερικό βραχιόλι.

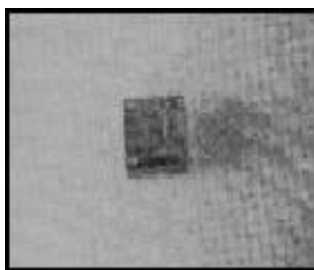
Η μικροσκοπική ηλεκτρονική συσκευή που χρησιμοποιείται για την αποθήκευση του



Εικόνα 39: Veri Chips

ηλεκτρονικού αριθμού ID καλείται εκπομπός (transponder). Ο εκπομπός εισάγεται εύκολα, παρόμοια με τη δημιουργία μιας ενδοφλέβιας χαρακιάς. Η συσκευή που παραμένει μέσα στο άτομο, όπου παρέχει ένα μοναδικό αριθμό ID κάθε φορά που σαρώνεται από ένα συμβατό ηλεκτρονικό σύστημα ανάγνωσης ID. Τα συστήματα ανάγνωσης των VeriChip, ή σαρωτές, στέλνουν ένα σήμα χρησιμοποιώντας μια συχνότητα στα 125 KHz, πολύ χαμηλότερη από τις συχνότητες που χρησιμοποιούνται στη εκπομπή μεσαίων κυμάτων AM. Η ενέργεια του ασύρματου σήματος που εκπέμπεται από τον σαρωτή είναι λιγότερη του ενός χιλιοστού του Watt (ένα

Οι εκπομποί των VeriChip είναι παθητικές συσκευές, εννοώντας ότι δεν μεταφέρουν μπαταρία και παραμένουν ανενεργοί το περισσότερο χρόνο. Το μικροσκοπικό ηλεκτρονικό κύκλωμα του εκπομπός ενεργοποιείται από τη χαμηλής ενέργειας ασύρματη δέσμη που στέλνεται από μια συμβατή συσκευή ανάγνωσης. Ο εκπομπός στέλνει τον αριθμό ID σαν ασύρματο σήμα πίσω στον σαρωτή, ο οποίος τότε αποκρυπτογραφεί τον αριθμό και τον εκθέτει σε μια μικρή οθόνη παρόμοια με αυτή του ηλεκτρονικού υπολογιστή. Οι εκπομποί είναι κυλινδρικοί, μετρούν 11 mm σε μήκος και 2.1 mm σε διάμετρο. Υπάρχουν μόνο τρία συστατικά μέσα τους: **ένα υπολογιστικό**



μικροτσίπ (συνηθισμένου ολοκληρωμένου κυκλώματος) που φαίνεται στη φωτογραφία σε ένα ανθρώπινο δάχτυλο.

Εικόνα 40: Το υπολογιστικό μικροτσίπ που περιέχει ο εκπομπός.

Αυτό το μικροτσίπ περιέχει το μοναδικό αριθμό ID παραχωρημένο στον εκπομπό, και όλη την ηλεκτρονική διάταξη κυκλωμάτων που είναι απαραίτητη για την αποστολή του αριθμού στον σαρωτή, όταν λαμβάνει το ασύρματο σήμα του σαρωτή.

Το δεύτερο συστατικό του εκπομπού είναι **ένα πηνίο από χάλκινο σύρμα** τυλιγμένο γύρω από ένα πυρήνα φερριτίου (σίδηρος). Αυτό λειτουργεί σαν μια μικροσκοπική ασύρματη κεραία για τη συλλογή του σήματος από τον σαρωτή, και την αποστολή του κρυπτογραφημένου αριθμού ID από το μικροτσίπ πίσω στον σαρωτή. Το τρίτο συστατικό είναι **ένας πυκνωτής** που χρησιμοποιείται για συντονισμό. Κάθε μοναδικός αριθμός ID του εκπομπού είναι κρυπτογραφημένος μέσα του κατά τη διάρκεια της κατασκευαστικής μεθόδου. Ένα laser εντυπώνει τον κώδικα στην επιφάνεια του μικροτσίπ πριν τη συναρμολόγηση του εκπομπού και πριν τη περιβολή του σε γυαλί. Εάν ο αριθμός κρυπτογραφηθεί είναι αδύνατο να αλλάξει μετά. Η κρυπτογράφηση του ίδιου αριθμού χρησιμοποιεί 38 bits πληροφορίας που επιτρέπουν 490 δισεκατομμύρια πιθανούς αριθμούς ID.

Το εξωτερικό του εκπομπού είναι από γυαλί ανθρακικού νατρίου και υδροξειδίου του ασβεστίου που είναι ειδικά επιλεγμένο για τη γνωστή βιοσυμβατότητα του. Κατά τη κατασκευή, αυτό το γυαλί σφραγίζεται στεγανά έτσι είναι απίθανο οποιαδήποτε υγρασία των ανθρώπινων σωματικών υγρών να φτάσει τα ηλεκτρονικά στο εσωτερικό. Ενώ το γυαλί είναι βιοχημικά αδρανές είναι επίσης και πολύ ομαλό, κάτι που σε σπάνιες περιπτώσεις θα μπορούσε να επιτρέψει τη μετακίνηση του εκπομπού στο σώμα άπαξ και εισαχθεί. Γι' αυτό, έχει επινοηθεί ένα ειδικό, προστατευτικό περίβλημα από πορώδες πολυπροπυλένιο που καλύπτει τη μια άκρη του εκπομπού. Αυτό το Biobond στρώμα επίστρωσης προσφέρει επιφάνεια με την οποία αρχίζει να συνενώνεται ινώδης συνδετικός ιστός μέσα σε 24 ώρες από την εισαγωγή.

Η θέση της εισαγωγής μπορεί να είναι ο ώμος ή, για αναγνώριση μιας εμφυτευμένης ιατρικής συσκευής, κοντά στο εμφύτευμα. Σε αυτή την εφαρμογή θα μπορούσε να προσκολληθεί στο εξωτερικό της καρδιακής συσκευής ή να εμφυτευτεί πλησίον στο σώμα. Αυτό θα μπορούσε να επιτρέψει στο ιατρικό προσωπικό να προσδιορίσει και να παρακολουθεί τις εμφυτευμένες συσκευές ενός ασθενή αποκλειστικά και μόνο με την κύλιση ενός χειροκίνητου σαρωτή πάνω στο στήθος του ασθενούς. Για παράδειγμα, εάν κάποιος είναι χρήστης βηματοδότη και βρεθεί σε ένα ατύχημα και σε κατάσταση σοκ, ένας συνοδός ασθενοφόρου θα μπορούσε να σαρώσει το σώμα και να παραλάβει πληροφορίες για τη συσκευή. Το τσιπ θα μπορούσε να παρέχει πληροφορίες για τις ρυθμίσεις του βηματοδότη, ποιος είναι ο κατασκευαστής του και κατά πόσο ο ασθενής έχει ιατρικές αλλεργίες. Για αυτές τις εισαγωγές, λοιπόν, κάθε εκπομπός έρχεται προ-εισαγόμενος σε μια σωληνοειδή βελόνα, και αυτή η συναρμολόγηση πακετάρεται σε αποστειρωμένους πλαστικούς φακέλους. Κάθε τέτοιο σετ απορρίπτεται μετά από μια χρήση.

Έχουν εκτελεστεί πολυάριθμες μελέτες για να αποδείξουν την ασφάλεια του εκπομπού. Αυτές οι μελέτες έχουν ασχοληθεί με θηλαστικά, πουλιά, ψάρια και ερπετά που δεν έχουν δείξει επιβλαβή αντιδράσεις στον εκπομπό, είτε βιολογικές είτε συμπεριφορικές.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Έχοντας αναλύσει πλέον τι και ποιες είναι οι συσκευές MEMS μπορούμε να καταλήξουμε στα εξής πλεονεκτήματα που έχουν έναντι άλλων τρεχόντων συσκευών που εκτελούν τις ίδιες λειτουργίες. Αυτά είναι τα παρακάτω:

- ✓ Οι συσκευές MEMS μπορούν να είναι τόσο μικρές που εκατοντάδες αυτών μπορούν να χωρέσουν στον ίδιο χώρο όσο μια μόνο μακρο-συσκευή που εκτελεί την ίδια λειτουργία.
- ✓ Τα ογκώδη ηλεκτρικά εξαρτήματα δεν χρειάζονται πλέον, αφού τα ηλεκτρονικά μπορούν να τοποθετηθούν κατ' ευθείαν πάνω στη συσκευή MEM. Αυτή η ενσωμάτωση έχει επίσης το πλεονέκτημα να παίρνουμε λιγότερο ηλεκτρικό θόρυβο, βελτιώνοντας έτσι την ακρίβεια και την ευαισθησία των αισθητήρων.
- ✓ Χρησιμοποιώντας μεθόδους IC, εκατοντάδες χιλιάδων αυτών των συσκευών μπορούν να κατασκευαστούν σε ένα μόνο wafer. Αυτή η μαζική παραγωγή μειώνει σημαντικά την τιμή των ατομικών συσκευών. Έτσι, οι συσκευές MEMS θα είναι πολύ λιγότερο ακριβές απ' ό,τι οι ομόλογες τους στον μακρόκοσμο.

Στα σημερινά χρόνια ο μέσος άνθρωπος επισκέπτεται το φαρμακείο μια φορά τη βδομάδα για να ξαναπάρει μια παλιά συνταγή ή για να αγοράσει καινούργια φάρμακα. Οι άνθρωποι έχουν συνηθίσει να παίρνουν και ένα χάπι μαζί με το γεύμα τους ή να χορηγούν μια ένεση ινσουλίνης κάθε πρωί. Τα μικρορευστομηχανικά συστήματα παροχής φαρμάκων ίσως παρέχουν εναλλακτικές σε αυτούς τους τρόπους χορήγησης. Όπως ακριβώς οι τεχνολογίες του σιλι 'Lab-on-a-Chip' περιορίζουν κλιμακωτά ολόκληρα εργαστήρια σε μια μόνο συσκευή με την ικανότητα της εκτέλεσης πολύπλοκων βιοχημικών θεμάτων, είναι τώρα προβλεπόμενο ότι μια εύχρηστη, μικροκατασκευαστική συσκευή θα είναι σύντομα ικανή να εκτελεί την ίδια λειτουργία με ένα γιατρό ή φαρμακοποιό. Μια ολοκληρωμένη, 'έξυπνη' συσκευή που είναι ικανή να ανταποκρίνεται συνεχώς σε φυσιολογικές άλλες και να παρέχει ακριβή ποσά θεραπευτικών συστατικών θα έχει σημαντική επίπτωση στον τρόπο που οι άνθρωποι ζούνε τις ζωές τους. στο κοντινό μέλλον, ο μέσος άνθρωπος ίσως να μην έχει να ανησυχεί για την αγορά φαρμάκων από τα φαρμακεία. Το 'Pharmacy-on-a-Chip' θα χορηγεί φάρμακα όπου χρειάζονται, όταν χρειάζονται.

Τα βιοτσιπς τώρα, είδαμε ότι είναι ακριβή, μικροσκοπικά, και προσδοκούνται να γίνουν οικονομικά επωφελή- προσόν που τα κάνει ανάλογα με τα υπολογιστικά τσιπς. Κάποιος περιμένει να δει επιταχυνόμενη τάση υπερ-μικροσκοπικοποίησης, που ίσως να περιλαμβάνει πρωτότυπα μέσα μαζικής ενημέρωσης, και μια αυξημένη ικανότητα ανάλυσης όχι μόνο γενετικού υλικού αλλά επίσης και άλλων τύπων βιολογικών μορίων. Κάποιος περιμένει, επίσης, μια επακόλουθη εναρμόνιση των τεχνολογιών, έτσι ώστε να προκύψουν επικρατέστερες κατασκευαστικές στρατηγικές, τουλάχιστον για ορισμένους τύπους εφαρμογών, περιλαμβάνοντας μια ευνοϊκότερη διάταξη για γενετική ανάλυση και μια άλλη για αντισώματα και άλλες πρωτεΐνες. Από τη στιγμή που οι ενδεχόμενες εφαρμογές είναι απέραντες, και για έρευνα και για κλινική χρήση, οι εκμεταλλεύσιμοι τομείς της αγοράς για τα βιοτσιπς θα είναι τεράστιοι, μια πανίσχυρη κινητήρια δύναμη για την συνεχόμενη ανάπτυξη τους.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ

1. <http://ems.wvu.edu/mems/memsr.htm>
2. <http://www.hosprract.com/genetics/9911mmc.htm>
3. <http://www.manufacturingcenter.com/dfx/archives/0899/899MEM.ASP>
4. <http://www.its.caltech.edu/~sciwrite/journal03/A-L2/lammers.html>
5. <http://www.manufacturingcenter.com/tooling/archives/0902/0902medical.asp>
6. <http://www.Spie.org/web/oer/march/mar00/biochips.html>
7. <http://www.tms.org/pubs/journals/JOM/0010/Kumar/Kumar-0010.html>
8. <http://computertimes.asia1.com.sg/news/story/0,514,1208,00.html>
9. <http://www.erc-assoc.org/showcase/accomplishments/microelectronic/caltech1-electro...> <http://books.nap.edu/books/0309084989/html/99.html>
10. <http://www.nsf.gov/home/crssprgm/nano/mole.htm>
11. <file://A:\FAQ's%20Verichip.htm>
12. <file://A:\verichip3.htm>
13. <file://A:\verichip2.htm>
14. <http://www.adxs.com/investorrelations/pdfs/VeriBro.pdf>
15. <http://www.techweb.com/wire/story/TWB20030718S0003>
16. <file://A:\page1.htm>
17. <file://A:\Lab-on-a-Chip%20Microfluidics.htm>
18. <file://A:\DNAchip2.htm>
19. <http://yekuo.edu/Biochips.htm>
20. <http://www.txtwriter.com/Backgrounders/Genetech/Gepage15.htm>
21. <http://www.coe.berkeley.edu/labnotes/1003/boser.html>
22. <http://www.accessexcellence.org/AB/BA/biochip.html>
23. <http://www.ornl.gov/info/ornlreview/rev293/text/biosens.htm>

24. www.medicaldevicesonline.com
25. www.landesbioscience.com/iu/output.php?id=415
26. ncbi.nlm.nih.gov/enterz
27. mic.ki.se/others

ENTYIII

1. <<Implantable Microsystems for Monitoring and Neural rehabilitation>>, του Thomas Stieglitz
2. << Integrated microsystems for controlled drug delivery>>, των S. Zafar Razzacki, Prasanna K. Thwar, Ming Yang, Victor M. Ugaz, Mark A. Burns
3. <<Nanopumps for programmable Biochips>>, των Achim Wixforth, Jurgen Scriba