

Σύγκριση παθητικών μικροαναμικτών για βιοαναλυτικές εφαρμογές μέσω υπολογιστικής μελέτης

Ιωάννα Ν. Κεφαλά, Βασίλειος Ε. Παπαδόπουλος, Γεωργία Κάπρου, Γεώργιος Κόκκορης, Γεώργιος Παπαδάκης και Αγγελική Τσερέπη

Ινστιτούτο Νανοεπιστήμης & Νανοτεχνολογίας, ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος,
Αγία Παρασκευή 15310

Ο σχεδιασμός και η ανάπτυξη μικρορευστονικών διατάξεων ακολουθεί το όραμα της ολοκλήρωσης πολλών διαδικασιών, κατά προτίμηση όλων, ενός εργαστηρίου (βιο)χημικής ανάλυσης, σε υποστρώματα μικροσκοπικών διαστάσεων. Στις διατάξεις αυτών των μικροεργαστηρίων σε ψηφίδα (Lab-on-Chip, LoC) λαμβάνουν χώρα μεταφορά, ανάμιξη, διαχωρισμός ή/και αντιδράσεις συστατικών, μέχρι και ανίχνευση μέσω αισθητήρων/ανιχνευτών. Η τελική απόδοση ενός μικροεργαστηρίου σε ψηφίδα εξαρτάται από την αποτελεσματικότητα των επιμέρους διατάξεων.

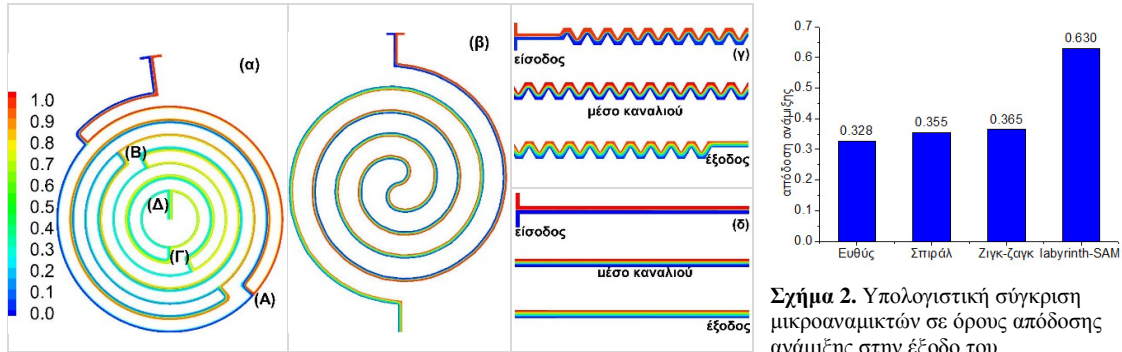
Οι μικροαναμίκτες αποτελούν κρίσιμα συστατικά στοιχεία των μικροεργαστηρίων. Κατά το σχεδιασμό ενός μικροαναμίκτη, ο στόχος είναι η ταχεία ανάμιξη μεταξύ δύο τουλάχιστον υγρών ροών. Λόγω των μικροσκοπικών διαστάσεων των μικροαναμικτών και της μικρής ταχύτητας ροής, ο αριθμός Reynolds (Re) είναι πολύ μικρός (<1), η τύρβη είναι απύσα και άρα η ανάμιξη είναι αργή.

Το αντικείμενο της παρούσας εργασίας είναι η σύγκριση μέσω υπολογιστικής μελέτης απλών, επίπεδων, παθητικών μικροαναμικτών ώστε να επιλεγεί ο πλεονεκτικότερος για βιοαναλυτικές εφαρμογές, όπως η ενζυμική πέψη δεσοξυριβοζονουκλεϊκού οξέος (DNA). Στην ενζυμική πέψη, ο μικροαναμίκτης αναμιγνύει το DNA με κατάλληλο ένζυμο πριν την αντίδραση (πέψη) [1]. Ο πρώτος μικροαναμίκτης έχει κανάλια με σχήμα λαβυρίνθου (Σχήμα 1α) και βασίζεται στην αρχή του διαχωρισμού και επανένωσης της ροής (Split and Merge - SAM ή Split and Recombine - SAR), συνδυάζοντας πολλά πλεονεκτήματα από διάφορους μικροαναμίκτες της βιβλιογραφίας. Γενικά, οι μικροαναμίκτες SAM ελαττώνουν το μήκος διάχυσης και αυξάνουν την διεπιφάνεια των δύο προς ανάμιξη ρευμάτων μέσω του διαχωρισμού και της επανένωσης της ροής. Το νεωτεριστικό χαρακτηριστικό του πρώτου μικροαναμίκτη είναι η λαβυρινθώδης γεωμετρία του, η οποία επιπρόσθετα δημιουργεί υψηλή βαθμίδα συγκέντρωσης στη διεπιφάνεια των δύο ρευμάτων βελτιώνοντας έτσι την απόδοση της ανάμιξης: Η βαθμίδα συγκέντρωσης στη διεπιφάνεια είναι υψηλή και έτσι αυξάνεται και ο ρυθμός διάχυσης. Ο δεύτερος μικροαναμίκτης έχει γεωμετρία σπιράλ (Σχήμα 1β), ο τρίτος έχει γεωμετρία ζιγκ-ζαγκ (Σχήμα 1γ) και ο τελευταίος είναι ένα ευθύ κανάλι (Σχήμα 1δ). Οι γεωμετρικές προδιαγραφές (βάθος και πλάτος καναλιών) επιβάλλονται από την τεχνολογία εύκαμπτων τυπωμένων κυκλωμάτων (flexible printed circuit, FPC) και τις σχετικές λιθογραφικές διαδικασίες που χρησιμοποιούνται για την κατασκευή τους. Όλοι οι μικροαναμίκτες έχουν τον ίδιο όγκο και η σύγκριση γίνεται υπό τις ίδιες συνθήκες ροής. Η σύγκριση αφορά στην απόδοση ανάμιξης (mixing efficiency) στην έξοδο κάθε μικροαναμίκτη.

Το μαθηματικό πρότυπο που χρησιμοποιείται για την υπολογιστική μελέτη αποτελείται από τις εξισώσεις συνέχειας και Navier-Stokes, καθώς και την εξίσωση διατήρησης της μάζας του διαλυμένου συστατικού (ενζύμου στην περίπτωση της ενζυμικής πέψης). Οι εξισώσεις λύνονται αριθμητικά με εμπορικό κώδικα (Fluent Ansys) στις 3 διαστάσεις.

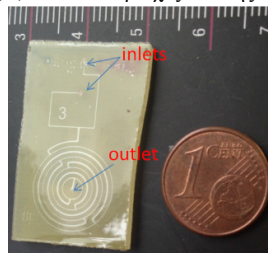
Οι υπολογισμοί δείχνουν ότι ο μικροαναμίκτης με τα κανάλια σε σχήμα λαβυρίνθου (Σχήμα 1α) παρουσιάζει τη μεγαλύτερη απόδοση ανάμιξης. Στο Σχήμα 1 φαίνονται οι ισοϋψείς της συγκέντρωσης για τους τέσσερις μικροαναμίκτες. Συγκρινόμενοι με το ευθύ κανάλι, ο σπιράλ μικροαναμίκτης βελτιώνει την ανάμιξη κατά 8%, ο ζιγκ-ζαγκ κατά 11% και αυτός με τα κανάλια σε σχήμα λαβυρίνθου κατά 92% (Σχήμα 2). Στους υπολογισμούς αυτούς, ο συντελεστής διάχυσης των βιομορίων είναι 10^{-10} m^2/s , ο Re είναι 0.5 και ο συνολικός όγκος κάθε μικροαναμίκτη είναι 2.54 μl .

Ο μικροαναμίκτης με τη μέγιστη απόδοση (Σχήμα 1α) κατασκευάζεται με απλή και οικονομική διαδικασία [2], χρησιμοποιώντας τεχνολογία FPC (Σχήματα 3 και 4). Τέλος, αξιολογείται πειραματικά με χρήση μικροσκοπίου φθορισμού (αποτελέσματα στο Σχήμα 5) καθώς και μέσω ενζυμικής πέψης DNA. Η ανάμιξη των αντιδραστηρίων (ένζυμο + δείγμα DNA) στο μικροαναμίκτη είναι αποτελεσματική, αφού χρειάζονται μόνο 30 s για την ενζυμική πέψη που ακολουθεί την ανάμιξη.

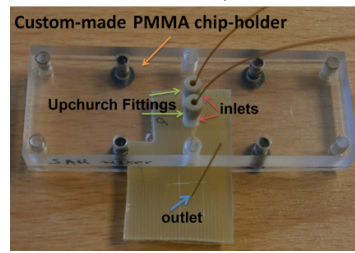


Σχήμα 2. Υπολογιστική σύγκριση μικροαναμιχτών σε όρους απόδοσης ανάμιξης στην έξοδο του μικροαναμίκτη (ο συντελεστής διάχυσης είναι $10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ και ο αριθμός Re είναι 0.5).

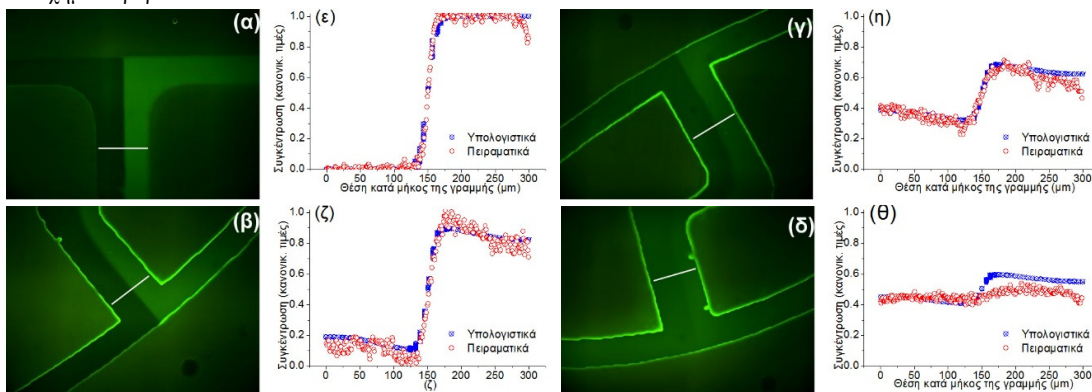
Σχήμα 1. Ισοϋψές συγκέντρωσης στο μέσο του ύψους των τεσσάρων μικροαναμιχτών: α) labyrinth-SAM, β) σπирάλ, γ) ζιγκ-ζαγκ και δ) ευθύς. Οι περιοχές (A)-(D) είναι οι περιοχές ένωσης των δύο χωρισμένων ροών.



Σχήμα 3. Κατασκευασμένος μικροαναμίκτης με κανάλια σε σχήμα λαβυρίνθου



Σχήμα 4. Ο chip-holder του μικροαναμίκτη του Σχήματος 3



Σχήμα 5. Εικόνες μικροσκοπίου φθορισμού στις περιοχές ένωσης της ροής για τον μικροαναμίκτη με τα κανάλια σε σχήμα λαβυρίνθου: α) Ένωση των ροών κατά την είσοδο, β) περιοχή A, γ) περιοχή B, και δ) περιοχή Γ και στο Σχήμα 1α. Οι κανονικοποιημένες τιμές της έντασης φθορισμού κατά μήκος των γραμμών των Σχημάτων 5α-5δ φαίνονται στα Σχήματα 5ε-5θ μαζί με τα αντίστοιχα υπολογιστικά αποτελέσματα. Ο συντελεστής διάχυσης είναι $4.9 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$.

[1] L.-M. Fu and C.-H. Lin, "A rapid DNA digestion system," *Biomedical Microdevices*, vol. 9, pp. 277-286, 2006.

[2] V. E. Papadopoulos, I. N. Kefala, G. Kaprou, G. Kokkoris, D. Moschou, G. Papadakis, *et al.*, "A passive micromixer for enzymatic digestion of DNA," *Microelectronic Engineering*, vol. 124, pp. 42-46, 2014.