

Lab on Chip τεχνολογία για αυτοματοποιημένες γονιδιακές εξετάσεις.

Ερευνητικό έργο Corallia : “Lab on Chip”
Στοιχεία Μικροηλεκτρονικής για Lab-On-Chip
Όργανα Μοριακών Αναλύσεων για Γενετικές
και Περιβαλλοντικές Εφαρμογές



του Δρ. Σπύρου Μπλιώνα

Η μεγάλη και αυξανόμενη ζήτηση σε γενετικές αναλύσεις παγκοσμίως, για διάφορες εφαρμογές (όπως η κλινική διαγνωστική, η ασφάλεια και ο έλεγχος οικοσυστημάτων), έχει αυξήσει τις απαιτήσεις στις μεθόδους γενετικών τεστ, τα οποία μέχρι στιγμής είναι χρονοβόρα, απαιτούν εξειδικευμένο προσωπικό και κατά συνέπεια έχουν και ιδιαίτερα υψηλό κόστος. Λόγω των μειονεκτημάτων των υπάρχουσών μεθόδων, υπάρχει ζήτηση για ευρύτερη και οικονομικότερη χρήση γενετικών τεστ, ακόμη και σε ιδιωτικές κλινικές και ιατρεία (Point-of-Care συστήματα, εκτός εξειδικευμένων εργαστηρίων γενετικών ελέγχων). Η ανάπτυξη συστημάτων Point-of-Care (PoC), για γονιδιακές εξετάσεις με μικρούς χρόνους επεξεργασίας και μικρό μέγεθος συσκευών, στα σημεία παροχής ιατρικής φροντίδας προς τους ασθενείς και όχι σε εργαστήρια, είναι στόχος εταιρειών κατασκευής οργάνων γενετικών αναλύσεων. Ειδική κατηγορία PoC συστημάτων είναι αυτή που βασίζεται σε Lab-On-Chip (LoC).

Τα συστήματα Lab-On-Chip είναι μικροσυσκευές που υπάγονται στην κατηγορία των MEMS (Microelectromechanical systems) και συχνά αναφέρονται και ως “Micro Total Analysis Systems” (μTAS). Τα LoC ολοκληρώνουν μία ή περισσότερες λειτουργίες εργαστηριακών αναλύσεων σε ένα και μόνο τσιπ μεγέθους από μερικά τετραγωνικά χιλιοστά μέχρι μερικά τετραγωνικά εκατοστά και διαχειρίζονται ιδιαίτερα μικρές ποσότητες υγρών (πολλές φορές λι-

γότερο από πικο-λίτρα) ενσωματώνοντας μικρο-ροϊκά συστήματα. Η λειτουργία των LoCs γίνεται με τη χρήση στοιχείων όπως μικρο-αντλίες, μικρο-βαλβίδες, μετρητές ροής, ιξωδόμετρα και διάφορους άλλους αισθητήρες που ελέγχονται και παρακολουθούνται ηλεκτρικά από τις ειδικές συσκευές PoC. Οι μεν κατασκευαστές των LoC χρησιμοποιούν βιοαισθητήρες και οι δε των συστημάτων PoC χρησιμοποιούν εξειδικευμένες hardware λύσεις με αντίστοιχο λογισμικό και firmware όπως τα ολοκληρωμένα κυκλώματα. Για την περίπτωση των γενετικών αναλύσεων, τυπικά ένα LoC πρέπει να υποστηρίζει μερικές ή όλες από τις παρακάτω λειτουργίες:

- Εξαγωγή DNA από δείγμα βιολογικού ιστού (π.χ. αίματος, πτυέλων, γύρης κλπ.)
- Επαύξηση του DNA με συγκεκριμένες βιοχημικές αντιδράσεις ώστε να μπορέσει να γίνει ανιχνεύσιμο (π.χ. με τη μέθοδο της Polymerase-Chain Reaction, PCR)
- Ανίχνευση των χαρακτηριστικών του DNA (π.χ. της παρουσίας ή απουσίας μεταλλάξεων) με τη βοήθεια ειδικών βιοαισθητήρων. Η διαδικασία αυτή τυπικά βασίζεται στις λεγόμενες «μικροσυστοιχίες» με τη μέθοδο της λεγόμενης «υβριδοποίησης»

Η Ελληνική Πρωτοβουλία Τεχνολογικών Συνεργατικών Σχηματισμών – Corallia, είναι ο πρώτος φορέας οργάνωσης και ανάπτυξης συνεργατικών σχηματισμών (cluster Ini-

tiative, cluster facilitator ή cluster organization) στην Ελλάδα. Είναι μέλος του European Cluster Alliance, με σημαντική εμπειρία στη χάραξη πολιτικής για την ανάπτυξη συνεργατικών σχηματισμών και στην προώθηση της καινοτομίας, της ανταγωνιστικότητας και της εξωστρέφειας τους. Ο πρώτος συνεργατικός σχηματισμός που έγινε ήταν της Μικροηλεκτρονικής, το mi-Cluster, που φέρει τη σφραγίδα του πρώτου cluster καινοτομίας στην Ελλάδα, το οποίο από τη σύστασή του, το 2006, έως και σήμερα, ακολουθεί μια αύξουσα πορεία σε αριθμό μελών και, πλέον, αριθμεί περισσότερους από 100 φορείς (ελληνικές καινοτόμες επιχειρήσεις, πανεπιστημιακά εργαστήρια και ερευνητικά ινστιτούτα), από όλη την Ελλάδα.

Η Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας του Υπουργείου Ανάπτυξης το 2009, στα πλαίσια της προγραμματικής περιόδου «2007-2013 – ΕΣΠΑ», του επιχειρησιακού προγράμματος «Ανταγωνιστικότητα και Επιχειρηματικότητα», στον άξονα προτεραιότητας «Δημιουργία και αξιοποίηση της καινοτομίας υποστηριζόμενης από έρευνα και τεχνολογική ανάπτυξη», προκήρυξε μέσω του Corallia την πρόσκληση για υποβολή προτάσεων «Φάση-2 Ενίσχυσης Ελληνικών Τεχνολογικών Συνεργατικών Σχηματισμών στη Μικροηλεκτρονική». Στα πλαίσια της προκήρυξης αυτής εγκρίθηκε και ξεκίνησε από τον Οκτώβριο 2009, το ερευνητικό έργο με ακρωνύμιο "Lab on Chip", και πλήρη τίτλο «Στοιχεία Μικροηλεκτρονικής για Lab-On-Chip Όργανα Μοριακών Αναλύσεων για Γενετικές και Περιβαλλοντικές Εφαρμογές». Στο έργο συμμετέχουν:

- Μικρο-Συστήματα Μικρο-Ροής Για Γενετικούς Ελέγχους & Μοριακή Διαγνωστική Ε.Π.Ε (Micro2Gen),
- INTRACOM A.E. Τηλεπικοινωνιακών Λύσεων,
- ALMA Τεχνολογίες Α.Ε.,
- 4PLUS A.E.B.E.,

- RAYMETRICS A.E.,
- Ινστιτούτο Μικροηλεκτρονικής "ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ" (NCSRDI-MEL),
- Τομέας Ηλεκτρονικής & Η/Υ στο Τμήμα Φυσικής στο Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (AUTH-ELAB),
- Εργαστήριο Ηλεκτρονικών Εφαρμογών, τμήμα Ηλεκτρολόγων Μηχανικών & Τεχνολογίας Υπολογιστών στο Πανεπιστήμιο Πατρών (UPATRAS-APEL),
- Εργαστήριο Φυσικής στην Σχολή Εφαρμοσμένων Μαθηματικών και Φυσικών Επιστημών στο ΕΜΠ (NTUA-SAMPS),
- Εργαστήριο Μικροκυμάτων και Οπτικών Ινών, στο τμήμα Ηλεκτρολόγων Μηχανικών Η/Υ στο ΕΜΠ (NTUA-MFOL),
- Τμήμα Εφαρμοσμένης Πληροφορικής & Πολυμέσων στο ΤΕΙ Κρήτης (ATEI-CRETE).

Το Τμήμα Εφαρμοσμένης Πληροφορικής & Πολυμέσων (Ε.Π.Π.) του ΤΕΙ Κρήτης είναι από τους φορείς με τη μεγαλύτερη συμμετοχή στο έργο, και ο ρόλος του θα περιγραφεί μετά από την αναλυτική του παρουσίαση.

Στόχος του έργου Lab-On-Chip είναι ο σχεδιασμός, η ανάπτυξη και πιλοτική εφαρμογή προηγμένων Intellectual Property (IP) blocks ολοκληρωμένων κυκλωμάτων και αισθητήρων, που προορίζονται για χρήση σε υποσυστήματα μετρήσεων και ελέγχου οργάνων μοριακών αναλύσεων για γενετικές και άλλες εφαρμογές, π.χ. ιατρικών μηχανημάτων ανάλυσης στα σημεία περίθαλψης (Point of Care). Τα IP που θα αναπτυχθούν αφορούν την κατηγορία οργάνων που χειρίζονται μικροροϊκά συστήματα τύπου Lab-On-Chip μίας χρήσης. Πρόκειται δηλαδή για την ανάπτυξη καινοτόμων συστοιχιών βιοαισθητήρων για τα LoC καθώς και εξειδικευμένων IP blocks ολοκληρωμένων κυκλωμάτων που θα μπορούν να χρησιμοποιηθούν από τους κατασκευαστές μηχανημάτων γενετι-

κών αναλύσεων με LoC, για τη δημιουργία συστημάτων με μεγαλύτερη ακρίβεια και σημαντικά μειωμένο μέγεθος και κόστος έναντι των σημερινών υπαρχόντων.

Το έργο στοχεύει στην ανάπτυξη και κατασκευή ολοκληρωμένων κυκλωμάτων ελέγχου και μετρήσεων, όπως και καινοτόμων συστοιχιών βιοαισθητήρων, για όργανα LoC χρησιμοποιώντας καινοτόμες τεχνολογίες αιχμής οι οποίες θα εξασφαλίσουν ταχύτερες αναλύσεις, μεγαλύτερη ακρίβεια, αξιοπιστία και μικρότερο κόστος για τους κατασκευαστές οργάνων, και κατά συνέπεια ιδιαίτερα αυξημένο ανταγωνιστικό πλεονέκτημα για τους συνεργαζόμενους φορείς του συνεργατικού έργου.

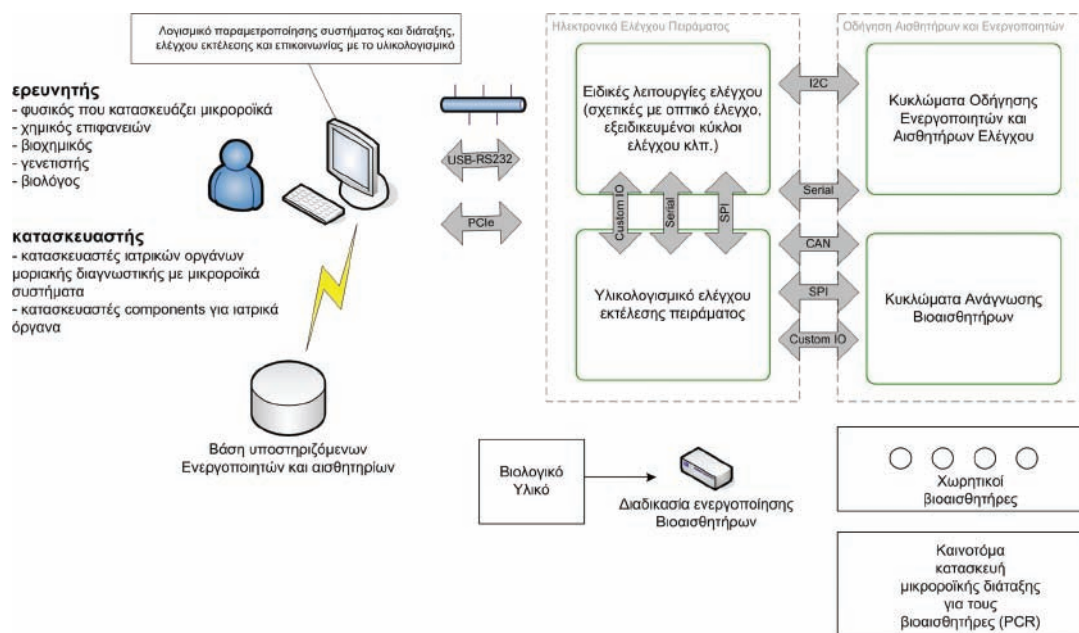
Στο έργο διαχωρίζονται τα τμήματα που αφορούν το μικρο-ροϊκό σύστημα, τους βιοαισθητήρες στο Lab-on-Chip και τα εξειδικευμένα ολοκληρωμένα κυκλώματα που απαιτούνται για το Point of Care. Πιο συγκεκριμένα σχεδιάζονται τα παρακάτω ολοκληρωμένα και θα κατασκευαστούν τα αντίστοιχα πρωτότυπα:

- Συστοιχία βιοαισθητήρων χωρητικότητας για την ανίχνευση της υβριδοποίησης (μιας διαδικασίας η οποία οδηγεί στον εντοπισμό συγκεκριμένων μεταλλάξεων), βασισμένους σε τεχνολογίες αιχμής
- Αναλογικό-ψηφιακό ολοκληρωμένο κύκλωμα για την ανάγνωση της συστοιχίας των αισθητήρων. Οι αλληλαγές στην ηλεκτρική αντίσταση ή χωρητικότητα των αισθητήρων αντιστοιχούν σε μικρές μεταβολές της τάσης ή του ρεύματος εισόδου Μετατροπέων Αναλογικού σε Ψηφιακό (Analog to Digital Converter – ADC) ενώ στη συνέχεια πραγματοποιείται περαιτέρω διαχείρισή τους με κατάλληλο ψηφιακό κύκλωμα το οποίο μπορεί να φιλτράρει, συμπιέσει κλπ. τις μετρούμενες τιμές. Κάθε αισθητήρας μπορεί να ελέγχεται από έναν ξεχωριστό απλό και αργό ADC ή όλοι οι αισθητήρες μπορεί να ελέγχονται από

έναν κοινό γρήγορο Μετατροπέα ο οποίος διαβάζει τις τιμές τους μέσω πολυπλεξίας (Multiplexing). Οι ενδείξεις του κάθε αισθητήρα πιθανόν να χρειάζονται διαφορετική ενίσχυση και προσαρμογή πριν δειγματοληπτηθούν από τον ADC.

- Εξειδικευμένο ψηφιακό ολοκληρωμένο κύκλωμα ψηφιακής ανάκτησης, επεξεργασίας και μηχανικής όρασης (embedded system), για τον οπτικό έλεγχο ροής υγρών, ογκομέτρηση και ποιοτικό έλεγχο σε πραγματικό χρόνο (real time), κάτι που θα αποτελέσει μία ιδιαίτερη καινοτομία στο χώρο. Ο αλγόριθμος μηχανικής όρασης μπορεί να εντοπίζει τη μετατόπιση της πρόσθιας επιφανείας του, κινούμενου υγρού για τη μέτρηση της ταχύτητας ροής, αλληλαγές στο χρώμα υγρού για την τοπική μέτρηση της πυκνότητας και της σύστασης, τη δημιουργία φουσαλίδων, η οποία αποτελεί ένα από τα μεγαλύτερα προβλήματα στα μικρο-ροϊκά κυκλώματα και οδηγεί συχνά σε λάθος μετρήσεις ή ακύρωση όλης της διαδικασίας κλπ. Στόχος είναι οι μετρήσεις αυτές να γίνονται ταυτόχρονα για περισσότερα μικρο-ροϊκά κανάλια.
- Αναλογικό-ψηφιακό ολοκληρωμένο κύκλωμα για τον έλεγχο-οδήγηση και παρακολούθηση λειτουργίας του Lab-on-Chip. Το κύκλωμα αυτό θα δέχεται εντολές από το προηγούμενο κύκλωμα μηχανικής όρασης και οι οποίες μπορεί επίσης να καθορίζονται από τις τρέχουσες τιμές των αισθητήρων. Ο έλεγχος αισθητήρων και η οδήγηση ενεργοποιητών (actuator) όπως είναι οι μικροβαλβίδες, μικροαντλίες κλπ. μπορεί να πραγματοποιηθεί με απευθείας εφαρμογή ψηφιακών σημάτων ή αναλογικών σημάτων, οπότε και θα είναι αναγκαία η χρήση μετατροπέων ψηφιακού σε αναλογικό σήμα (DAC).

Η διάταξη των υποσυστημάτων που



Εικόνα 1: Γενική διάταξη των υποσυστημάτων

πρόκειται να αναπτυχθούν, όπως αυτή αναμένεται να ολοκληρωθεί σε ένα τελικό σύστημα, φαίνεται και στην Εικόνα 1.

Ο τύπος LoC που θα υποστηρίζεται από τα κυκλώματα που θα αναπτυχθούν θα μπορεί να έχει διαφορετικούς βαθμούς πολυπλοκότητας, αλλά οι δοκιμές θα γίνουν με τη βοήθεια μικρο-ροϊκού συστήματος για τις φάσεις της ενίσχυσης του DNA καθώς και της υβριδοποίησης. Η μονάδα αυτή θα περιλαμβάνει όλα τα απαραίτητα κανάλια και μικρομηχανικά στοιχεία ελέγχου (μικροαντλίες, μικρο-βαλβίδες κ.ο.κ) ώστε να είναι επιδειξιμη η τεχνολογία που θα αναπτυχθεί με ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα LoC συστημάτων. Παράλληλα θα κατασκευαστεί και πρωτότυπο Point-of-Care σύστημα, το οποίο θα χρησιμοποιηθεί για τη επίδειξη της καλής λειτουργίας των κυκλωμάτων σε πραγματικές συνθήκες. Τα πρωτότυπα υποσυστήματα δηλαδή, θα ολοκληρωθούν σε ένα επιτραπέζιο σύστημα, με το οποίο θα γίνει ο έλεγχος και ο απαραίτητος χαρακτηρι-

σμός.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η ανάπτυξη των ολοκληρωμένων κυκλωμάτων και του Lab-on-Chip θα αποτελέσει μία καινοτομία στο χώρο των λύσεων για μηχανήματα γενετικών αναλύσεων, η οποία θα μειώσει δραστικά το μέγεθος και το κόστος κατασκευής μηχανημάτων διαγνωστικής για γονιδιακού ελέγχου. Ειδικότερα το ολοκληρωμένο κύκλωμα οπτικής ανάλυσης θα αυξήσει σημαντικά την ακρίβεια του ελέγχου του μικρο-ροϊκού τμήματος των Lab-on-Chip, δίνοντας για πρώτη φορά συνδυασμένα και τη δυνατότητα ποιοτικού ελέγχου της υβριδοποίησης (π.χ. σχηματισμός φυσαλίδων στο μικρο-ροϊκό σύστημα κλπ.). Ταυτόχρονα με την καινοτόμα τεχνολογία που θα χρησιμοποιηθεί για αυξημένη ακρίβεια και ταχύτητα, στόχος είναι και η ελαχιστοποίηση της κατανάλωσης ενέργειας ώστε να ενισχυθούν οι προϋποθέσεις για ανάπτυξη πραγματικά φορητών οργάνων, λειτουργικά ακόμα και με μπαταρίες.

Η τεχνογνωσία για την ανάπτυξη των

παραπάνω υποσυστημάτων, αν και σε μία περιοχή με ιδιαίτερα ευσίωνες προοπτικές, δεν έχει γνωρίσει μέχρι στιγμής ιδιαίτερη διάδοση στον ελληνικό χώρο. Το συνεργατικό σχήμα του έργου θα εκμεταλλευτεί την τεχνογνωσία που έχει αποκομίσει στο πλαίσιο διεθνών συνεργασιών με ερευνητικά κέντρα του εξωτερικού για να καλύψει το κενό αυτό.

Καινοτομίες του Έργου

Το συνεργατικό έργο Lab-On-Chip έχει να επιδείξει μια σειρά από καινοτομίες, οι οποίες θα αποτελέσουν και τη βάση για μια επιτυχημένη πορεία μετά την προϊοντοποίηση των αποτελεσμάτων του έργου. Οι τέσσερις βασικοί τομείς στους οποίους το έργο αναμένεται να παρουσιάσει ιδιαίτερα καινοτόμα αποτελέσματα είναι οι παρακάτω:

- 1) Καινοτόμο σύστημα μη σημασμένων βιοαισθητήρων τύπου χωρητικότητας οι οποίοι επιτρέπουν την ηλεκτρονική ανάγνωση τους και είναι συνεπώς κατάλληλοι για φορητά συστήματα PoC, όπου υπάρχουν σημαντικότεροι περιορισμοί σε ότι αφορά τον όγκο, το βάρος αλλά και την ισχύ που είναι διαθέσιμη
- 2) Καινοτόμα προσέγγιση στον έλεγχο μικρο-ροϊκών τσιπ, με τη βοήθεια ολοκληρωμένων κυκλωμάτων, αντικαθιστώντας με αυτόν τον τρόπο τις ιδιαίτερα πολύπλοκες, ογκώδεις και συχνά όχι ιδιαίτερα ακριβείς διατάξεις ελέγχου
- 3) Καινοτομία όχι μόνο στο λειτουργικό, αλλά και στον ποιοτικό έλεγχο μικρο-ροϊκών τσιπ με τη βοήθεια ολοκληρωμένου κυκλώματος μηχανικής όρασης, το οποίο επιτρέπει και τον οπτικό έλεγχο για κατασκευαστές διαγνωστικών μηχανημάτων σε πραγματικές συνθήκες λειτουργίας

Οι παραπάνω καινοτομίες θα οδηγήσουν στην ανάπτυξη συστήματος με εμφανή πλεονεκτήματα σε σχέση με τις

τρέχουσες λύσεις όσον αφορά την ευαισθησία, την ακρίβεια των αποτελεσμάτων, την ταχύτητα ολοκλήρωσης μετρήσεων και παραγωγής αποτελεσμάτων, την αξιοπιστία, το μειωμένο κόστος και την ευκολία χρήσης.

Παρακάτω αναλύεται, για κάθε έναν από τους τομείς αυτούς, η τωρινή κατάσταση στο διεθνή ερευνητικό χώρο, όπως και η αναμενόμενη επιστημονική και τεχνολογική αριστεία του συνεργατικού έργου.

1) Καινοτομίες σε Βιοαισθητήρες:

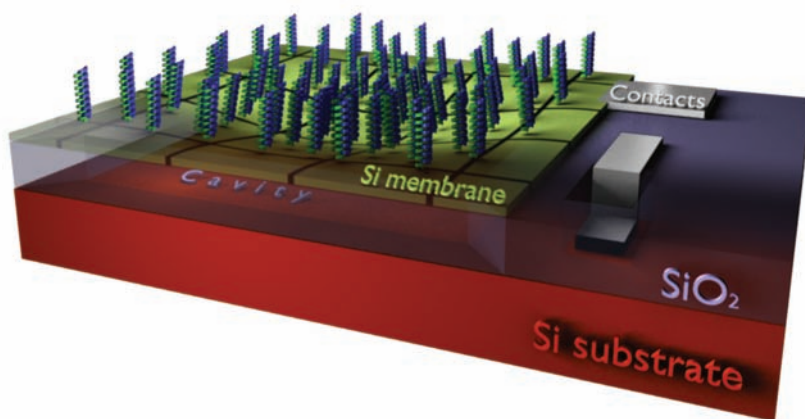
Το αντικείμενο των βιοαισθητήρων έχει εξελιχθεί σε έναν εξαιρετικά δραστήριο τομέα τα τελευταία 20 χρόνια. Οι αισθητήρες που ανιχνεύουν βιολογικά μόρια μπορούν να αξιοποιηθούν από καινοτόμες διατάξεις ειδικά σχεδιασμένες για κλινικές, φαρμακευτικές και βιομηχανικές εφαρμογές που απαιτούν τεστ DNA τα οποία να είναι αξιόπιστα αλλά και απλά με ευκολία στη χρήση. Το αντικείμενο αυτό αποτελεί σημαντικό πεδίο έρευνας σε τομείς όπως περιβαλλοντική προστασία, τεχνολογία τροφίμων, βιοϊατρική τεχνολογία και κλινικές αναλύσεις.

Οι βιοαισθητήρες χωρίς επισήμανση με βάση την αλληλαγγή της επιφανειακής μηχανικής τάσης ενεργοποιημένων μικροπροβόλων (cantilevers) παρουσιάστηκαν για πρώτη φορά από τους Fritz et al. οι οποίοι μελέτησαν τον DNA υβριδισμό 12-μερών ολιγονουκλεοτιδίων και μπόρεσαν να ανιχνεύσουν αναντιστοιχίες σε επίπεδο ενός νουκλεοτιδίου. Ένα από τα κύρια μειονεκτήματα της τεχνικής των μικροπροβόλων για τη δημιουργία βιοαισθητήρων είναι οι περιορισμοί που υπάρχουν κατά τη χρήση τους σε πρακτικά συστήματα, κυρίως λόγω των οπτικών συστημάτων που χρησιμοποιούνται για τη μέτρηση της εκτροπής των μικροπροβόλων. Επιπλέον, είναι πολύ ευαίσθητα σε αλλαγές της οπτικής πυκνότητας του δείγματος και δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε μη διαφανή διαλύματα όπως το αίμα. Τυπικές τιμές που έχουν με-

τηρείται για την ευαισθησία της μεθόδου του οπτικού μικροπροβόλου στην αλληλεπίδραση βιοτίνης – στρεπταβιδίνης είναι της τάξης μερικών nM στρεπταβιδίνης.

Το Ινστιτούτο Μικροηλεκτρονικής του ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος» έχει αναπτύξει πρόσφατα συστοιχία βιοαισθητήρων τύπου χωρητικότητας οι οποίοι βασίζονται στην αλληλεπίδραση της επιφανειακής τάσης μίας υπέρλεπτης μεμβράνης πυριτίου η οποία προκαλείται από την αντίδραση ακινητοποιημένων πάνω στην μεμβράνη βιομορίων με άλλα αντίστοιχα βιομόρια στόχους στο υπο ανίχνευση διάλυμα. Η αλληλεπίδραση της επιφανειακής μηχανικής τάσης τότε προκαλεί κάμψη της μεμβράνης η

αφορά την ευαισθησία του ενώ ταυτόχρονα θα προσαρμοστεί στις απαιτήσεις των διαφορετικών εφαρμογών που προβλέπονται στο ΠΕ5. Θα απαιτηθεί έτσι να μελετηθεί η βελτιστοποίηση της γεωμετρίας του αισθητήρα (πάχος μεμβράνης, βάθος κοιλότητας κλπ) καθώς και των υλικών που τον απαρτίζουν προκειμένου να μειωθούν οι ενδογενείς μηχανικές τάσεις πάνω στην μικρομηχανική μεμβράνη βελτιστοποιώντας έτσι τόσο τις επιδόσεις όσο και την αξιοπιστία της διάταξης. Προς τον σκοπό αυτόν θα χρειαστεί να μελετηθεί η χρήση πολυστρωματικών υμενίων (π.χ LTO/Si₃Ni₄) τόσο στην κατασκευή των μεμβρανών προκειμένου να εξισορροπηθούν οι ενδογενείς μηχανικές



Χωρητικός αισθητήρας με ακινητοποιημένα μόρια και μόρια του δείγματος μετά τη βιολογική αντίδραση.

οποία μεταφράζεται σε αντίστοιχη αλληλεπίδραση της χωρητικότητας μεταξύ της μεμβράνης και του υποκείμενου υποστρώματος. Μέλη της ομάδας εργασίας έχουν πρόσφατα δημοσιεύσει τα κύρια προτερήματα της τεχνολογίας και τα πρώτα ενθαρρυντικά αποτελέσματα ανίχνευσης βιοαντιδράσεων χωρίς επισήμανση.

Τα κύρια προτερήματα της τεχνολογίας αυτής είναι η δυνατότητα ανίχνευσης βιοαντιδράσεων χωρίς επισήμανση, με ευαισθησία και δυνατότητα ηλεκτρονικής πολλαπλής ανίχνευσης σε συστοιχία μικροστοιχείων.

Στο παρόν έργο ο μικρομηχανικός βιοαισθητήρας θα βελτιστοποιηθεί σε ό,τι

τάσεις όσο και στην αύξηση της ικανότητας ακινητοποίησης βιομορίων με χρήση χρυσού (π.χ. LTO/Si₃Ni₄/Au). Τέλος η απόδοση της διάταξης θα αξιολογηθεί κατά την ανίχνευση επιλεγμένων βιολογικών αντιδράσεων.

Στην περίπτωση της περιβαλλοντικής εφαρμογής η συστοιχία των αισθητήρων θα στοχεύσει στην ανίχνευση οργανικών πτητικών ουσιών σε κλειστός χώρος. Για την ανίχνευση τους θα πρέπει να βρεθούν τα πολυμερικά εκείνα υλικά τα οποία θα έχουν την μέγιστη προσρόφηση ουσιών που θα κριθούν ότι πρέπει να ανιχνευθούν κατά την διάρκεια των προδιαγραφών. Επειδή καθένα από αυτά διακρίνεται από διαφορετι-

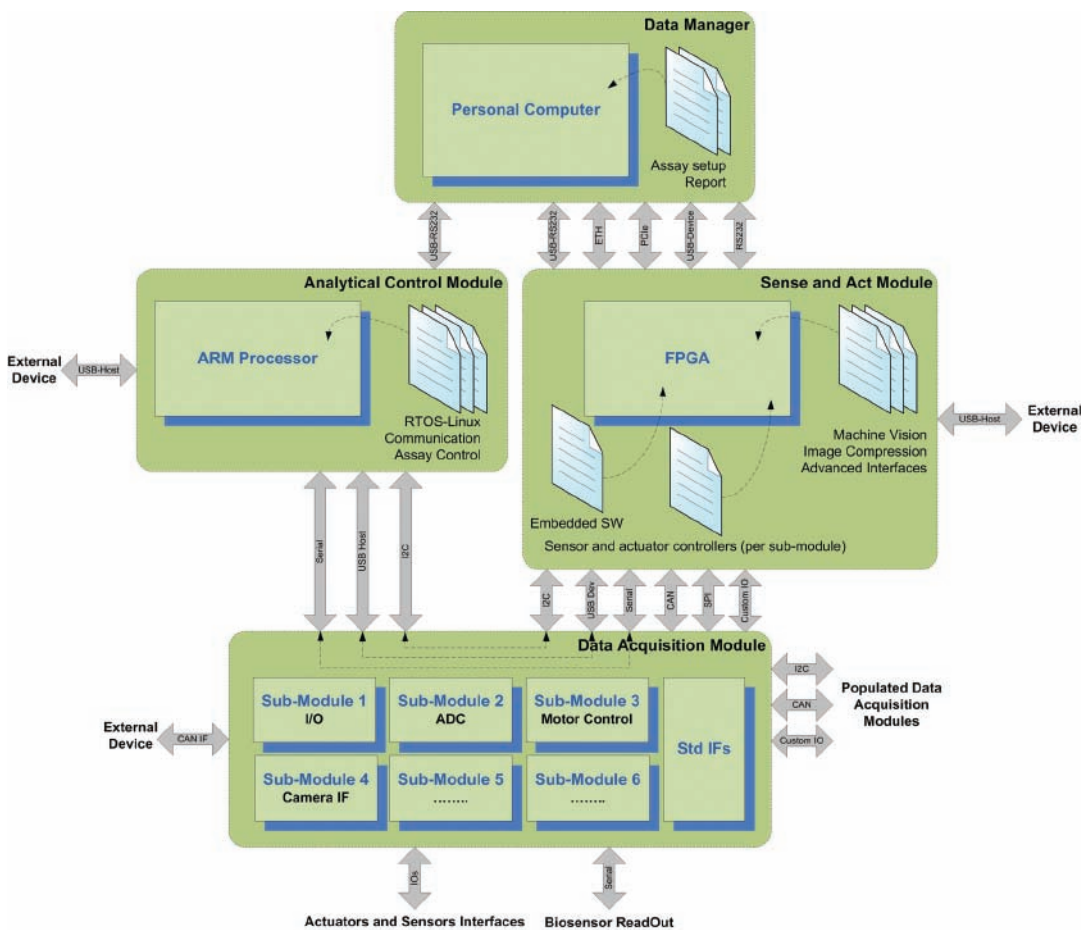
κές ιδιότητες θα χρειαστεί να προσδιοριστούν και οι καταλληλότερες συνθήκες εναπόθεσης τους επάνω στην ευαίσθητη μηχανική μεμβράνη πυριτίου.

Στην διάρκεια του έργου θα αναπτυχθεί IP το οποίο θα υλοποιηθεί σε ολοκληρωμένο κύκλωμα το οποίο θα μπορεί να διαβάξει ένα μεγάλο πλήθος από αισθητήρες χωρητικότητας έτσι ώστε να μπορεί να παρακολουθεί τις αλλαγές της χωρητικότητας στο σύνολο της συστοιχίας που πρόκειται να αναπτυχθεί. Ειδική πρόνοια θα ληφθεί στην εξάλειψη των παρασιτικών χωρητικότητων και στην ψηφιακή προσαρμογή του κυκλώματος σε ότι αφορά την ευαισθησία και βαθμονόμηση του έτσι ώστε να μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε πολλαπλές εφαρ-

μογές πέραν των συγκεκριμένων του έργου. Επιπλέον βάρος θα δοθεί στην ανάπτυξη πρότυπων θυρών επικοινωνίας με σκοπό την εύκολη σύνδεση με μικροεπεξεργαστές και μικροελεγκτές και να διευκολύνεται έτσι η χρήση του σε μεγαλύτερα ενσωματωμένα συστήματα με αυξημένες δυνατότητες επεξεργασίας.

2) Καινοτομία στον έλεγχο μικρο-ροϊκών τσιπ με μηχανική όραση:

Στο παρόν έργο σχεδιάζονται IP blocks ολοκληρωμένων κυκλωμάτων που θα είναι σε θέση να ελέγχουν μια σειρά στοιχείων, όπως μικρο-βαλβίδες, μικρο-αντλίες, μικρο-αισθητήρες στάθμης, ροής, ιξώδους κ.ο.κ. με γενικευμένο τρόπο, χρησιμοποιώντας



Μπλοκ-διάγραμμα της γενικής οργάνωσης του συστήματος ελέγχου μικροροϊκών πειραμάτων

παραμέτρους από αρχεία (που θα φορτώνονται σε ειδική μνήμη από το υλικολογισμικό ενσωματωμένου επεξεργαστή. Η προσέγγιση αυτή δεν υπάρχει σήμερα στο χώρο και θα αποτελέσει μια ιδιαίτερα σημαντική καινοτομία. Πέρα από τις «συμβατικές» μεθόδους ελέγχου ροής και λειτουργίας γενικότερα των μικρο-ροϊκών τσιπ, το έργο θα εισάγει την εφαρμογή μηχανικής όρασης στον τομέα αυτό.

Συγκεκριμένα θα χρησιμοποιηθούν ειδικοί οπτικοί αισθητήρες σε ειδική διάταξη με πηγές φωτισμού στο εσωτερικό διαγνωστικού οργάνου, οι οποίοι θα διαβά-

Τέλος, στο πλαίσιο του έργου θα υλοποιηθούν και ειδικοί αλγόριθμοι συμπίεσης χωρίς απώλειες της αλληλουχίας των εικόνων με σκοπό την προβολή τους (αλλά πιθανά και αποθήκευσή τους) σε σταθμό εργασίας (ακόμη και απομακρυσμένο), πράγμα ιδιαίτερα χρήσιμο για τους κατασκευαστές διαγνωστικών οργάνων, που με τον τρόπο αυτό θα μπορούν να ελέγχουν και οπτικά τη λειτουργία νέων διαγνωστικών οργάνων σε πραγματικές συνθήκες λειτουργίας και να πραγματοποιούν απομακρυσμένους ελέγχους για τη συντήρηση ή διόρθωση λαθών ουσιαστικά «κοιτάζοντας»



Φωτογραφία της συνολικής διάταξης

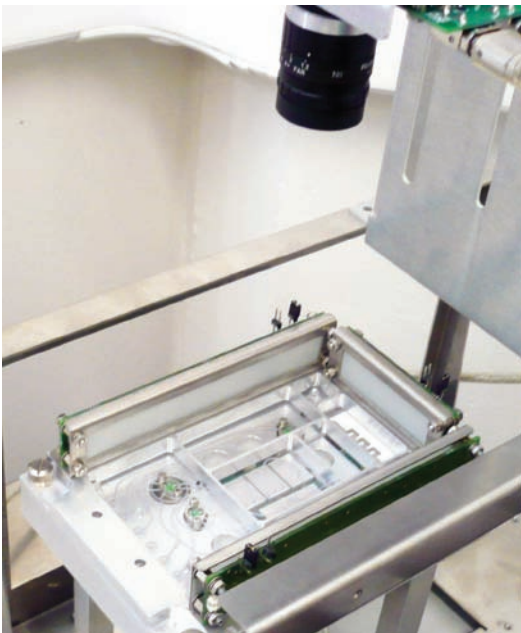
ζονται από ολοκληρωμένο σύστημα, το οποίο θα επεξεργάζεται την αλληλουχία των εικόνων εξάγοντας σημαντικά συμπεράσματα για τη θέση του υγρού. Χρησιμοποιώντας τα σχηματικά του τσιπ που ελέγχεται καθώς και βαθμονομημένους οπτικούς αισθητήρες (με γνωστά τα ενδογενή και εξωγενή χαρακτηριστικά τους) θα είναι σε θέση να υπολογίζει με μεγάλη ακρίβεια, με βάση τη θέση των υγρών μέσα στα κανάλια, τον όγκο υγρών που έχουν μετακινηθεί και να χρησιμοποιεί το κύκλωμα ελέγχου ροής για να σταματάει ή επιταχύνει την κίνηση των υγρών κ.ο.κ.

μέσα στα όργανα μακρόθεν.

Για την υλοποίηση των παραπάνω αλγορίθμων θα μελετηθούν εναλλακτικές αρχιτεκτονικές που θα συνδυάζουν σε βέλτιστο βαθμό επιμέρους υλοποιήσεις σε λογισμικό και υλικό ώστε να επιτυγχάνουν τις επιδιωκόμενες επιδόσεις που επιβάλλει η απαίτηση για λειτουργία σε πραγματικό χρόνο με την απαραίτητη ευελιξία. Όλα τα παραπάνω είναι βέβαιο ότι θα προσελκύσουν το ενδιαφέρον των δυνητικών πελατών, μια και παρόμοιες λύσεις δεν υπάρχουν αυτή τη στιγμή στο χώρο των στοιχείων ελέγχου για διαγνωστικά όργανα.

3) Καινοτομία στον ποιοτικό έλεγχο μικρο-ροϊκών τσιπ:

Πέρα από τις «συμβατικές» μεθόδους ελέγχου ροής και λειτουργίας γενικότερα των μικρο-ροϊκών τσιπ, το έργο θα εισάγει την εφαρμογή μηχανικής όρασης στον τομέα αυτό. Το σύστημα θα είναι σε θέση να υπολογίζει με μεγάλη ακρίβεια, με βάση τη θέση των υγρών μέσα στα κανάλια, τον όγκο υγρών που έχουν μετακινηθεί και να χρησιμοποιεί το κύκλωμα ελέγχου ροής για να σταματάει ή επιταχύνει



Φωτογραφία της διάταξης τοποθέτησης του μικροροϊκού κυκλώματος

νει την κίνηση των υγρών κ.ο.κ. Παράλληλα με οπτικό έλεγχο θα είναι δυνατή για πρώτη φορά και η ανίχνευση φυσαλίδων, οι οποίες αποτελούν ένα από τα μεγαλύτερα προβλήματα στα μικρο-ροϊκά τσιπ, μια και είναι σε θέση να αλληλιώσουν τις μετρήσεις σε βαθμό που να αχρηστεύεται μια ολόκληρη μέτρηση. Επίσης, στο πλαίσιο του έργου θα υλοποιηθούν και ειδικόι αλγόριθμοι συμπίεσης χωρίς απώλειες της αληθινοσύνης των εικόνων με σκοπό την προβολή τους (αλλά πιθανά και αποθή-

κευσή τους) σε σταθμό εργασίας (ακόμη και απομακρυσμένο).

Συμμετοχή του Ε.Π.Π.

Το τμήμα Εφαρμοσμένης Πληροφορικής και Πολυμέσων του ΤΕΙ Κρήτης συμμετέχει στα εξής πακέτα εργασίας (ΠΕ) και δράσεις (Δ):

ΠΕ2 ΑΝΑΛΟΓΙΚΟΨΗΦΙΑΚΟ ΥΠΟΣΥΣΤΗΜΑ ΕΛΕΓΧΟΥ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΟΡΑΣΗΣ

- Δ2.1 Προδιαγραφές Υποσυστημάτων.**
 Το ΑΤΕΙ-CRETE θα καθορίσει με τους υπόλοιπους φορείς που συμμετέχουν στην δράση αυτή τις προδιαγραφές που πρέπει να έχει το υποσύστημα ελέγχου ώστε το Lab-on-Chip να ελέγχεται κατάλληλα και σε πραγματικό χρόνο από το συνολικό σύστημα.
- Δ2.4 Έλεγχος λειτουργίας, τελικός σχεδιασμός.**
 Το ΑΤΕΙ-CRETE θα ελέγξει σε συνεργασία με τους υπόλοιπους φορείς που συμμετέχουν στην δράση αυτή το ολοκληρωμένο κύκλωμα μηχανικής όρασης ώστε να εντοπιστούν τυχόν παρεκκλίσεις από τις προδιαγραφές για να επανασχεδιαστεί κατάλληλα και να προκύψει η τελική του έκδοση που θα ανταποκρίνεται ακριβώς στις ζητούμενες προδιαγραφές.
- Δ2.5 Σχεδιασμός και ανάπτυξη υλικολογισμικού για τον ενσωματωμένο επεξεργαστή ελέγχου.**
 Το ΑΤΕΙ-CRETE θα αναπτύξει σε συνεργασία με τους υπόλοιπους φορείς που συμμετέχουν στην δράση αυτή το firmware με το οποίο θα υλοποιηθεί ο έλεγχος των υποσυστημάτων, και η επικοινωνία με τα υπολογιστικά συστήματα όρασης.
- Δ2.6 Σχεδιασμός και ανάπτυξη λογισμικού για τον έλεγχο του ενσωματωμένου συστήματος.**
 Το ΑΤΕΙ-CRETE θα αναπτύξει σε συνεργασία με τους υπόλοιπους φορείς που συμμετέχουν στην δράση αυτή το λογισμικό των προγραμμάτων οδήγησης όσο και του λογισμικό παρα-

μετροποίησης και ελέγχου.

ΠΕ4 ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΠΡΩΤΟΤΥΠΟΥ

Το ΑΤΕΙ-CRETE θα είναι ο βασικός συντελεστής στην κατασκευή του πρωτοτύπου ως φορέας εφαρμοσμένης έρευνας. Στο πλαίσιο των διαφόρων δράσεων του πακέτου εργασίας (ΠΕ) κατασκευής πρωτοτύπου η συμμετοχή του ΑΤΕΙ-CRETE έχει ως εξής:

- **Δ4.1 Ενσωμάτωση υποσυστήματος βιοαισθητήρων στο πρωτότυπο σύστημα.** Το ΑΤΕΙ-CRETE θα συνεισφέρει με τους υπόλοιπους φορείς που συμμετέχουν στην δράση αυτή στην ενσωμάτωση του υποσυστήματος των βιοαισθητήρων στο συνολικό πρωτότυπο σύστημα επίδειξης του έργου.
- **Δ4.2 Ολοκλήρωση Αναλογικο-ψηφιακού Υποσυστήματος Ελέγχου και Μηχανικής Όρασης.** Το ΑΤΕΙ-CRETE θα συνεισφέρει με τους υπόλοιπους φορείς που συμμετέχουν στην δράση αυτή στην ενσωμάτωση του αναλογικοψηφιακού ολοκληρωμένου κύκλωματος ελέγχου και μηχανικής όρασης που θα σχεδιαστεί στο ΠΕ2, και θα σχεδιαστεί και κατασκευαστεί η αντίστοιχη πλακέτα όπου θα ενσωματωθεί το συγκεκριμένο κύκλωμα. Τέλος θα γίνει ο καταρχήν ηλεκτρικός έλεγχος του πρωτοτύπου για να διαπιστωθεί ότι το κύκλωμα λειτουργεί σύμφωνα με τις προδιαγραφές.
- **Δ4.3 Ενσωμάτωση αναλογικο-ψηφιακού ελέγχου της συστοιχίας των βιοαισθητήρων.** Το ΑΤΕΙ-CRETE θα συνεισφέρει με τους υπόλοιπους φορείς που συμμετέχουν στην δράση αυτή στην ενσωμάτωση του υποσυστήματος του αναλογικοψηφιακού ελέγχου των βιοαισθητήρων στο συνολικό πρωτότυπο σύστημα επίδειξης του έργου.
- **Δ4.4 Έλεγχος λειτουργίας του πρωτοτύπου Point of Care συστήματος.** Το ΑΤΕΙ-CRETE θα συνεισφέρει με τους υπόλοιπους φορείς που συμμετέχουν

στην δράση αυτή στον έλεγχο του συνολικού πρωτοτύπου συστήματος επίδειξης του έργου του Point of Care.

Συνοπτικά το έργο Lab-on-Chip αναμένεται να παρουσιάσει ιδιαίτερα καινοτόμα και ανταγωνιστικά αποτελέσματα αναπτύσσοντας τεχνολογία για LoC που θα υλοποιεί σε ένα τσιπ όλες τις βασικές λειτουργίες που απαιτούνται για την αύξηση, μίξη και γενικότερο χειρισμό δειγμάτων DNA. Σημειώνεται ότι στην διεθνή αγορά είναι ελάχιστα τα συστήματα που μπορούν να παράσχουν μία τέτοια ενιαία λύση με τα συνεπαγόμενα οικονομικά οφέλη.

Τα στοιχεία που θα αναπτυχθούν στο έργο και αναφέρθηκαν σαν καινοτομίες προηγουμένως, θα έχουν σημαντικό ανταγωνιστικό πλεονέκτημα τόσο το καθένα ξεχωριστά όσο και σαν σύνολο. Το καθένα θα διαθέτει την δική του αγορά στην οποία θα μπορεί να κινηθεί ανεξάρτητα αλληλά και συνολικά με βάση την όλη τεχνολογική πλατφόρμα που θα αναπτυχθεί.