



Тема 8. Нанодиагностика

Содержание темы: Лаборатория на чипе. Электронный нос. Микро- и нано- зонды

Наносенсоры (датчики крови).

Наностелька

Уже вовсю разрабатывается умная медицинская обувь, способная всё время следить за состоянием пациента, пока он расхаживает по больнице.



Лаборатория на чипе

Лаборатория на чипе это миниатюрный прибор, позволяющий осуществлять один или несколько многостадийных биохимических процессов на одном чипе площадью от нескольких мм² до нескольких см² и использующий микро- или наноскопические количества образцов для пробоподготовки и проведения реакций.

Описание

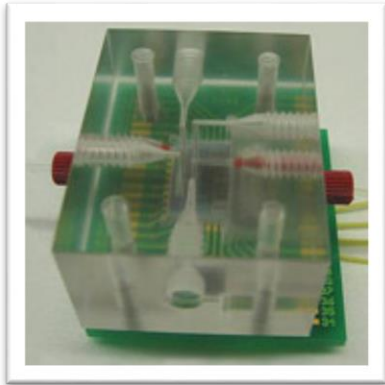
Для создания «лабораторий на чипе» (lab-on-a-chip, LOC) используются технологии фотолитографии, микро- и нанофлюидики, прецизионного конструирования, наносенсорики и др., применяемые в микроэлектромеханических системах (МЭМС). LOC отличаются от обычных биомикрочипов, выполняющих, как правило, одну реакцию (например, гибридизацию нуклеиновых кислот), возможностью осуществлять последовательные химические превращения исходных образцов, включая стадии разделения, концентрирования, смешивания промежуточных продуктов, перемещения их в различные реакционные микрокамеры и считывания конечных результатов. Основные преимущества LOC заключаются в простоте их использования, высокой скорости проведения анализа, малом необходимом количестве образцов и реагентов, необходимых для получения результата, а также хорошей воспроизводимости результатов благодаря использованию стандартных технологий и автоматизированного оборудования в ходе изготовления и применения. В перспективе LOC смогут выполнять исследования, проводимые в настоящее время в специализированных лабораториях на дорогостоящем оборудовании, например, диагностику онкологических и инфекционных заболеваний непосредственно у постели больного или экспресс-анализ загрязнения окружающей среды в полевых условиях. Также существует перспектива будущего применения лабораторий на чипе в качестве микрореакторов в синтетической химии.

Энциклопедический словарь нанотехнологий

Лаборатория на чипе позволяют:

1. анализировать состав крови на нуклеотидном уровне,
2. проводить распознавание ядовитых веществ,
3. устанавливать по ДНК родство человека,
4. вырезать поврежденные участки ДНК и заменять их на работоспособные нуклеотиды,
5. ликвидировать генетические болезни,
6. изменять конфигурацию ДНК по желанию пациента.

Первый прототип анализатора крови на одном чипе:



По прогнозам журнала Scientific American, уже в ближайшем будущем появятся медицинские устройства размером с почтовую марку, которые при наложении на рану будут самостоятельно проводить анализ крови, определять, какие медикаменты необходимо использовать, и тут же впрыскивать их в кровь.

Реальным примером технологии LOC могут служить продукты ведущих в этой области компаний Affymetrix (“GeneChip”) или Agilent (“LabChip”), производящих лаборатории на чипе для генетических анализов.

В таких чипах ДНК анализируется **методом полимеразной цепной реакции (ПЦР)**.

Его суть заключается в последовательном нагревании и охлаждении раствора, содержащего:

- образец анализируемой ДНК,
- два праймера,
- смесь четырех нуклеотидов
- фермент ДНК-полимераза.

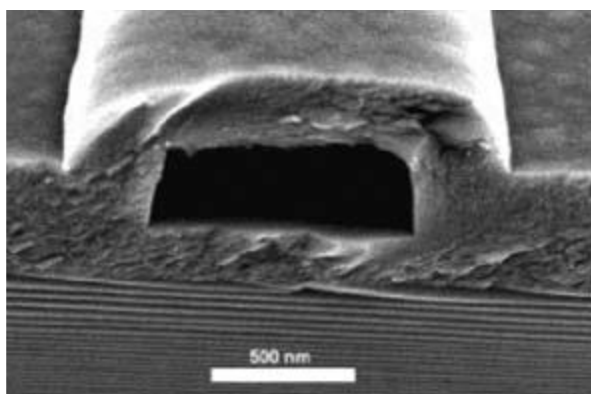
Праймер - участок ДНК в 20 нуклеотидов, **комплементарный** участку анализируемого ДНК.

При нагревании двунитевые отрезки ДНК расщепляются; при охлаждении под действием фермента каждая из одонитевых цепочек достраивается до двунитевой копии исходного отрезка. Число отрезков молекулы ДНК удваивается при каждом цикле, и из каждой молекулы в исходной пробе через 30 циклов образуется 2^{30} – более миллиарда копий. Метод был изобретен в 1987 г, и в то время ученым приходилось каждые несколько минут вручную переставлять пробирки из одной водяной бани в другую и после каждого цикла добавлять в них новую порцию фермента. Сегодня ту же работу выполняют миниатюрные автоматизированные лаборатории.

Компания CombiMatrix предложила чип размерами с почтовую марку для определения биологической опасности. Детектор HANAA, содержащий такой чип, может определить присутствие нескольких видов микроорганизмов, применяющихся в составе бактериологического оружия. Прибор помещается в ладони, питается от батареек и весит около одного килограмма. Прибор анализирует ДНК и соотносит с одним из запрограммированных типов патогенной ДНК. Ячейки, в которых присутствует ДНК одного из определяемых чипом патогенных микроорганизмов, флюоресцируют, а их свечение улавливается датчиком. Процесс обработки четырех различных образцов занимает 30 минут.

CombiMatrix также выпустила устройство на основе чипа, в котором проводится **иммуноферментный анализ**. В его ячейках светятся **антитела к ядам**, не содержащим ДНК. Такое устройство может опознавать 5 токсинов типа рицина.

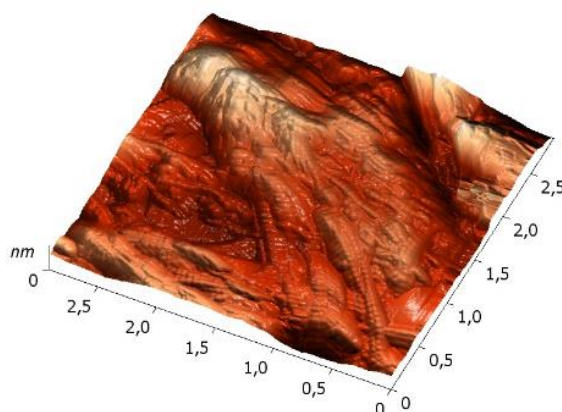
Для производства лабораторий на чипе используются почти те же технологии, что и для производства микросхем, включая литографию и травление. Однако лаборатория на чипе, в отличие от планарной микросхемы, должна быть трехмерной. Причина заключается в том, что если электричество может протекать по плоскому проводу, то жидкость не течет по сплюснутому шлангу. Таким образом, при производстве лабораторий на чипе используются совмещенные методы планарной и MEMS/NEMS технологий.



Участок лаборатории на чипе в разрезе.

Предродовая диагностика

Российские исследователи предложили новый способ диагностики патологических изменений соединительной ткани с использованием атомно-силовой микроскопии. Прибор сканирует рельеф образца с точностью буквально до атомов и помогает предсказать развитие ряда болезней, а также осложнений при родах.



На рисунке справа коллагеновый матрикс (основа соединительной ткани), просканированный атомно-силовым микроскопом.

Для анализа достаточно небольшого кусочка любой соединительной ткани. В качестве образца может использоваться даже фрагмент кожи с пальца, который можно получить с минимальными рисками для пациента.

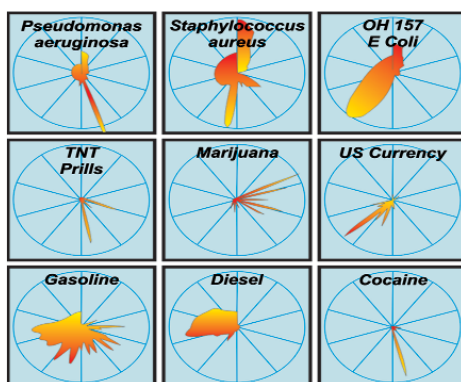
Исследуя образец при помощи атомно-силового микроскопа (АСМ), медики могут выявить те изменения, которые характерны для ряда заболеваний. К их числу относится, например, поражение соединительной ткани, которое практически исключает самостоятельные роды и которое может привести к выпадению матки. Своевременная диагностика поможет предотвратить осложнения, вовремя задействовав консервативные методы лечения, например, поддерживающие повязки.

Электронный нос

Электронный нос – это мультисенсорная система для скоростного анализа состояния воздуха, имитирующая работу человеческого органа обоняния. Представляет собой программируемый набор датчиков, каждый из которых “нюхает” отдельный компонент запаха вещества или продукта. Чем больше датчиков установлено, тем точнее результат. Наносенсоры для электронного носа подбираются по их химическому средству, и обычно для этой цели используются полимерные проводящие плёнки.

В другом варианте электронного носа используются нановесы: сенсор представляет собой тончайшую иглу-кантилевер толщиной в 100 нм и длиной 50 микрон, а присоединение специфической молекулы к его поверхности вызывает изменение резонансной частоты за счет изменения его массы. Измеряя новую частоту колебаний кантилевера, можно определить присутствие специфических групп молекул.

Величины показаний каждого детектора передаются на процессорный модуль. Специальная программа анализирует полученные данные и выдает результаты в виде своеобразных “клякс” хроматограмм (на самом деле это графики интенсивностей запахов в центральных координатах).



После дегустации в систему подаются пары промывочного газа (например, спирта), чтобы удалить пахучее вещество с поверхности датчиков и подготовить прибор к проведению нового измерительного цикла.

Следует отметить, что проблема идентификации запахов с алгоритмической точки зрения достаточно сложна (каждый запах представляет собой сложный комплекс химических соединений), поэтому для распознавания образов запаха система “электронный нос” использует элементы искусственного интеллекта. Наиболее перспективными в этом плане считаются искусственные нейронные сети (ИНС). Главным их плюсом является обучаемость, то есть возможность целенаправленной минимизации ошибок выходных сигналов.

Индивидуальный запах выделений человека уже давно используется в классической медицине как важный диагностический признак.

Ученые Пенсильванского университета создали “электронный нос”, который выявляет инфекционные болезни по дыханию обследуемого человека. Дело в том, что все бактерии, независимо от своей природы, в процессе жизнедеятельности выделяют различные газы. В случае поражения инфекцией дыхательных путей эти газы обязательно присутствуют в выдохе. “Электронный нос” подносится ко рту больного, получает его выдох и сравнивает химический состав с базой данных типичных примеров химического состава выдоха заведомо больных людей, на основании чего ставится соответствующий диагноз.

Образец прибора, разработанный в Иллинойском институте технологий способен обнаружить в воздухе возбудителей туберкулеза и других инфекционных заболеваний. По запаху станет возможным диагностировать пневмонии, онкологические заболевания и даже атипичную пневмонию (SARS). При черепно-мозговых травмах на самых ранних этапах можно будет распознать запах вытекающей спинномозговой жидкости, что позволит предотвратить многие смертельные исходы травматических поражений центральной нервной системы.

Следует отметить, что диагностика заболеваний дыхательных путей является в медицинской практике очень сложным процессом. Отличить, скажем, пневмонию от обычной респираторной инфекции типа ОРЗ удастся далеко не сразу. Применение “электронного носа” позволяет ускорить проведение анализа, снизить стоимость и повысить точность результатов.

Микро- и нано- зонды

«Микросубмарина» германской фирмы microTEC в просвете аорты

длиной 4 мм и 0,65 мм в диаметре. Хирурги способны направить микросубмарину через артерии к целевым злокачественным клеткам, наблюдая её передвижения на мониторах компьютеров.



Басня про Людей:

Профессор философии, стоя перед своей аудиторией, взял пятилитровую стеклянную банку и наполнил её камнями, каждый не менее трёх сантиметров в диаметре.

В конце спросил студентов, полна ли банка?

Ответили: да, полна.

Тогда он открыл банку горошка и высыпал её содержимое в большую банку, немного потряс её. Горошек занял свободное место между камнями. Ещё раз профессор спросил студентов, полна ли банка?

Ответили: да, полна.

Тогда он взял коробку, наполненную песком, и насыпал его в банку. Естественно, песок занял полностью существующее свободное место и всё закрыл.

Ещё раз профессор спросил студентов, полна ли банка? Ответили: да, и на этот раз однозначно, она полна.

Тогда из-под стола он достал кружку с водой и вылил её в банку до последней капли, размачивая песок.

Студенты смеялись.

— А сейчас я хочу, чтобы вы поняли, что банка — это ваша жизнь.

Камни — это важнейшие вещи вашей жизни: семья, здоровье, друзья, свои дети — всё то, что необходимо, чтобы ваша жизнь всё-таки оставалась полной даже в случае, если всё остальное потеряется. Горошек — это вещи, которые лично для вас стали важными: работа, дом, автомобиль. Песок — это всё остальное, мелочи.

Если сначала наполнить банку песком, не останется места, где могли бы разместиться горошек и камни.

И также в вашей жизни, если тратить всё время и всю энергию на мелочи, не остаётся места для важнейших вещей. Занимайтесь тем, что вам приносит счастье: играйте с вашими детьми, уделяйте время супругам, встречайтесь с друзьями. Всегда будет ещё время, чтобы поработать, заняться уборкой дома, починить и помыть автомобиль. Занимайтесь, прежде всего, камнями, то есть самыми важными вещами в жизни; определите ваши приоритеты: остальное — это только песок.

Тогда студентка подняла руку и спросила профессора, какое значение имеет вода?

Профессор улыбнулся.

— Я рад, что вы спросили меня об этом. Я это сделал просто, чтобы доказать вам, что, как бы ни была ваша жизнь занята, всегда есть немного места для праздного безделья.