

RAPORT STIINTIFIC SI TEHNIC

Aplicarea de tehnici laser pentru fabricarea de biosenzori pe baza de sisteme microfluidice de detecție in timp real (SOLE)

Etapa III: Realizarea prototipului laboratorului pe un cip bazat pe un sistem PCR de detecție in timp real.

Denumire etapa: Etapa III/2016 intermediara cu activitățile:

1. *Fabricarea si caracterizarea elementelor de încălzire integrate: Depunere prin PLD si RF-PLD de filme subțiri de nichel si carbura de siliciu.*
2. *Caracterizarea morfologica (Microscopie de Forța Atomica AFM si Microscopie Electronica cu Baleiaj SEM) si structurala (Difracție de raze X XRD, Spectrometrie de Masa a Ionilor Secundari SIMS) a filmelor subțiri de nichel si carbura de siliciu depuse prin PLD.*
3. *Integrarea tuturor elementelor pe aceeași platforma (elementele de încălzire, micro-canalele, etc.).*
4. *Implementarea sistemului electro-optic in platforma microfluidica.*
5. *Caracterizarea performantelor sistemului electro-optic.*
6. *Testarea sistemului PCR microfluidic prin realizarea de experimente de amplificare a ADN-ului din probele de interes.*
7. *Măsurarea semnalului de fluorescența cu senzorul electro-optic fabricat.*
8. *Evaluarea sensibilitatii metodei de amplificare cu dispozitivul microfluidic prin folosirea de probe biologice cu diferite concentrații de bacterii.*
9. *Evaluarea specificității metodei prin folosirea ADN-ului de la un grup taxonomic cu indice scăzut de similaritate precum si bacterii asemănătoare.*
10. *Evaluarea reproductibilității reacției.*
11. *Diseminarea rezultatelor in reviste internaționale/naționale de specialitate si participarea la conferințe naționale si internaționale; respectarea dreptului de proprietate intelectuala.*
12. *Menținerea si actualizarea secțiunii din pagina web a grupului PPAM: ppam/inflpr.ro dedicata proiectului SOLE.*

Valoarea alocata proiectului de la bugetul de stat pentru 2016: 453.991 lei. Contribuție proprie: 74.818 lei.

Rezumat

Domeniul de cercetare al dispozitivelor microfluidice este intr-o continua dezvoltare si se bazează pe procese de fabricație alternative, inovative si cu costuri mici de producție, precum si pe dezvoltarea unor aplicații noi in domeniul biotehnologiei.

In cadrul acestei etape de execuție a proiectului „Aplicarea de tehnici laser pentru fabricarea de biosenzori pe baza de sisteme microfluidice de detecție in timp real”, am realizat prototipul laboratorului pe un cip bazat pe un sistem PCR de detecție in timp real. La elaborarea acestui proiect au participat toți partenerii implicați in proiect.

Astfel, in cadrul acestei etape am obținut următoarele rezultate:

In cadrul acestei etape am obținut următoarele rezultate:

- Filme subțiri de nichel au fost depuse prin PLD.

- Filmele subțiri de Ni au fost caracterizate din punct de vedere morfologic (Microscopie de Forță Atomică AFM și Microscopie Electronică cu Balaj SEM), structural și compozițional (Difracție de raze X XRD, Spectrometrie de Masă a Ionilor Secundari SIMS).
- Filmele subțiri de Ni au o aderență excelentă la substraturile de PDMS. În această fază de execuție a proiectului, am arătat că variind parametrii experimentali este posibil să obținem filme subțiri de Ni de înaltă calitate. Măsurătorile de raze X demonstrează obținerea de filme subțiri de Ni metalice, fără prezența NiO. În plus, filmele obținute la fluența laser de $4,8 \text{ J/cm}^2$ sunt superioare din punct de vedere optic celor depuse la $2,4 \text{ J/cm}^2$. Fluența de $4,8 \text{ J/cm}^2$ a fost, de asemenea, utilizată pentru a depune straturi subțiri de Ni cu model, benzile astfel obținute având valori ale rezistenței de aproximativ 100 de ohmi, ceea ce le face potrivite pentru utilizarea în dispozitive microfluidice.
- Datorită robusteții lor excelente, proprietățile electrice ale filmelor subțiri de Ni pe substraturi de PDMS nu se modifică ca urmare a zecilor de cicluri de îndoire la care sunt supuse, și, prin urmare, în studiile noastre ulterioare, acestea au fost utilizate în realizarea dispozitivelor microfluidice.
- Cu ajutorul unei surse de iluminat cu laser, dioda, sau lampa de pompaj se poate obține fluorescența. Am arătat că o iluminare cu lampa flash este posibilă și poate fi adaptată cu sistem electronic de comandă control. Sistemul este simplu, format din sursa de iluminare, sistem optic, și sistem electronic de comandă control.
- Rezultatele obținute (în urma evaluării metodei de amplificare), confirmă că protocoalele de amplificare utilizate, concepute pentru o chimie cu sonde fluorescente tip FRET (Fluorescence resonance energy transfer) și un termobloc cu 96 godeuri, funcționând pe baza efectului Peltier, pot fi utilizate pentru identificarea speciilor *E. coli* și *S. aureus*.
- Diseminarea rezultatelor s-a realizat prin *participarea la cinci conferințe internaționale, publicarea unui articol în revista Applied Surface Science (IF 3.15) și publicarea unui capitol de carte*. De asemenea, un articol a fost trimis spre publicare.
- Secțiunea din website-ul grupului PPAM dedicată proiectului a fost actualizată.
- De asemenea, s-au planificat activități aferente etapei a patra din anul 2017, respectiv:
 - Testarea sistemului PCR microfluidic prin realizarea de experimente de amplificare a ADN-ului din probele de interes.
 - Măsurarea semnalului de fluorescență cu senzorul electro-optic fabricat.
 - Evaluarea sensibilității metodei de amplificare cu dispozitivul microfluidic prin folosirea de probe biologice cu diferite concentrații de bacterii.
 - Evaluarea specificității metodei prin folosirea ADN-ului de la un grup taxonomic cu indice scăzut de similaritate precum și bacterii asemănătoare.
 - Evaluarea reproductibilității reacției.
 - Depunerea unei cereri de brevet precum și diseminarea rezultatelor prin participarea la conferințe și publicarea rezultatelor în reviste ISI.
- În concluzie, se poate afirma că obiectivele celei de-a treia etape au fost atinse.