

Wetenschappelijke doorbraken

Om een idee te krijgen wat op wetenschappelijke vlak de afgelopen 15 jaar de belangrijkste doorbraken waren volgt de volgende tekst.

Het prille begin

In 1990 werd door Andreas Manz (toen Ciba Geigy Central Research Lab., Basel, Zwitserland) het Micro Total Analysis Systems concept, kortweg μ TAS, gelanceerd. Het basisidee is dat chip technologie als invoer een ruw monster zou moeten hebben

en als opbrengst de gegevens over datgene wat men wil meten. Dit vereist miniaturisatie en integratie van verschillende chemische stappen op één chip en zette hierdoor het integratiedenken op de wetenschapsagenda.

Electrophorese

Electrophorese was één van de eerste analyse technieken die geminiaturiseerd werd. In het kort werkt deze techniek als volgt. Eerst wordt een spanning aangelegd over een vloeistofkanaal wat ervoor zorgt dat het mengsel door het vloeistofkanaal wordt getrokken. Dan geldt dat; hoe lichter de stof, hoe makkelijker het door het kanaal beweegt. Hierdoor zal er een scheiding ontstaan van het mengsel en kunnen de stoffen

onafhankelijk van elkaar bepaald worden. Dit proces verloopt op kleine schaal veel sneller en is dan tevens gevoeliger. In 1992 werd deze techniek voor het eerst gerapporteerd door Andreas Manz. Het Amerikaanse bedrijf Caliper LifeSciences bracht in 1999 het eerste commerciële product op de markt dat gebruik maakt van deze techniek onder de naam LabChip®.



Figuur 1 - de LabChip® van Agilent.
Bron: Agilent Technologies

Vloeistofstromen

Hoewel het misschien simpel klinkt, is het sturen van vloeistoffen in minuscule kanaaltjes niet eenvoudig. Door de jaren heen is de kennis om de vloeistoffen in goede banen te leiden echter sterk verbeterd. Je zou kunnen zeggen dat er inmiddels een gereedschapskist van technieken aanwezig is om de gewenste ontwerpen te realiseren. Denk hierbij aan geminiaturiseerde pompen, kleppen, maar ook methodes om vloeistoffen aan te sturen, te mengen of te filteren en het intro-

duceren van het mengsel in de chip. Recent zijn er zelfs software pakketten op de markt gekomen om vloeistofchips te ontwerpen en te simuleren. Een toonaangevende publicatie uit 2002 van Stephen Quake (California Institute of Technology) toont aan dat, in analogie met computerchips, ook complexe vloeistofchips met duizenden reactiekamers te realiseren zijn. Het Amerikaanse bedrijf Fluidigm® begon in 1998 met het vermarkten van dit concept.

Kader 1 — DNA chips

Een geheel andere techniek komt uit de DNA technologie. Deze zogenaamde DNA chips¹ bestaan uit glasplaatjes met een grote hoeveelheid specifieke eilandjes om te meten of bepaalde genen aanwezig zijn in een mengsel van DNA fragmenten. Als deze eilandjes oplichten geven ze de bekende karakteristieke plaatjes van DNA analyses. Deze eilandjes kunnen tegenwoordig zo klein gemaakt worden dat ze geïntegreerd kunnen worden op Labs on a chip. Hierdoor vindt er een versmelting van technologieën plaats en wordt deze techniek, naast andere, een mogelijke detectiemethoden in plaats van een aparte methode.

Kader 2 — PCR

Als er weinig DNA voorhanden is, bijvoorbeeld van maar enkele cellen, wordt detectie moeilijk of zelfs onmogelijk. Het is dan noodzakelijk om het beschikbare DNA materiaal te vermenigvuldigen. Een techniek die dit mogelijk maakt en waar Kary Mullis in 1993 de Nobelprijs voor kreeg, heet de polymerase-kettingreactie (PCR, Polymerase Chain Reaction). Met deze techniek is een miljoen maal vermenigvuldigen geen probleem. In 1993 demonstreerde Northrup (en anderen) dat deze techniek ook op chipformaat is uit te voeren.

Plastic

Rond 1997 werd het gebruik van plastic als alternatief voor het maken van vloeistofchips geïntroduceerd. De gebruikelijke materialen tot dan toe waren met name kwarts en silicium. Het gebruik van plastic heeft een aantal voordelen, zo zijn er geen dure stofvrije ruimtes nodig, is het goedkoop en

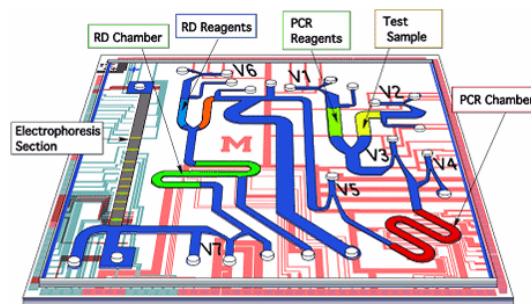
gaat het maken van een prototype veel sneller. Dit zorgde ervoor dat meer onderzoeksgroepen zich met het ontwerpen en testen van principes op chips bezig konden en gingen houden. De productiemethodes voor plastic chips zijn op te schalen voor massaproductie.

Detectie

Eén van de stappen die op chips uitgevoerd dient te worden is de detectie van stoffen. Hier zijn verschillende detectiemethoden voor ontwikkeld. Een relatief oude methode is het toevoegen van fluorescerende stoffen aan een mengsel. De stoffen in het mengsel krijgen een lichtgevend aanhangsel (labels genaamd) die het mogelijk maakt de stoffen te detecteren. Ook kunnen stoffen door een laser beschreven worden waardoor ze een korte tijd fluorescerend worden. Er kan ook gebruik gemaakt worden van elektrodes om stoffen te meten. Een geavanceerde methode is het meten van de massa's van de stoffen die in het mengsel zitten. Het gewicht zegt dan iets over welke stof het is. Deze zogenaamde massaspectrometrie apparaten zijn

relatief groot, echter, eind jaren '90 zijn er vloeistofchips ontwikkeld die een koppeling mogelijk maken. Een detectiemethode die nog zeer in de kinderschoenen staat is het gebruik van magnetische, in plaats van fluorescerende, labels. Deze techniek belooft veel gevoeliger te zijn dan de fluorescerende variant en wordt onder andere ontwikkeld door Philips.

DNA analyse krijgt veel aandacht. Het is een proces dat vaak veel stappen vereist. Figuur 2 geeft een voorbeeld van hoe integratie van de benodigde stappen eruit zou kunnen zien. In dit voorbeeld wordt electrophorese gebruikt als detectiemethode. Zie ook Kader 1 en 2.

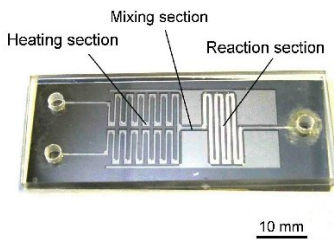


Figuur 2 - een voorbeeld van een sterk geïntegreerde chip voor DNA analyse.

Bron: Ronald. G. Larson, University of Michigan

¹ Niet te verwarren met Lab-on-a-chip technologie. De basisprincipes zijn geheel anders en worden in dit onderzoek dan ook niet meegenomen.

Synthese op chips



Figuur 3 - een voorbeeld
een microreactor.
Bron: Europractise

Halverwege de jaren '90 werd langzaam de mogelijkheid onderkend om chemische reacties uit te voeren op chips. In 1999 was het Stephen Haswell (Universiteit van Hull, Engeland) die als eerste rapporteerde over het succesvol uitvoeren van reacties op chips. Sindsdien groeit de aandacht voor deze tak van wetenschap, die meestal wordt aangegeven door de term microreactoren (figuur 3), sterk. In 2004 is er in Nederland bijvoorbeeld het Process-on-a-chip initiatief gelanceerd dat in de komende 6 jaar een belangrijke impuls geeft aan het gebied van microreactoren. Het produceren van stoffen met behulp van chip technologie is op de korte termijn met name interessant voor

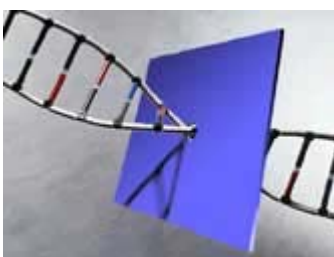
toxische stoffen. Ook is de verwachting dat er reacties mogelijk zullen zijn die met conventionele technieken niet mogelijk zijn. Ondanks de kleine hoeveelheden die op één chip geproduceerd kunnen worden, is de verwachting dat door het parallel schakelen van de chips toch het gewenste productie volume bereikt kan worden. Dit principe wordt vaak aangeduid door scale out in plaats van scale up (opschalen). Voor het doen van analyses zijn microreactoren ook van belang. Voor veel analyses zijn namelijk ook reactiestappen vereist. Door deze techniek kunnen ook deze stappen geïntegreerd worden op chips.

Cellomics

Structuren van vloeistofkanalen op chips kunnen ontworpen worden zodat dierlijke cellen individueel gevangen en in leven gehouden kunnen worden. Vervolgens is het mogelijk om met deze cellen experimenten uit te voeren. De reactie van een cel op allerlei experimenten wordt ook direct geanaly-

seerd. Het doen van dergelijke experimenten op enkele cellen wordt ook wel cellomics (naar analogie van genomics², genoom gerelateerd onderzoek) genoemd. Deze techniek belooft meer inzicht in de complexe werking van cellen.

Nanotechnologie



Figuur 4 - DNA wordt als spaghetti door een gaatje van enkele nanometers getrokken.
Bron: Agilent Technologies

De opkomst van nanotechnologie, als parapluterm voor technieken die slechts bepaald zijn door het werken op de schaal van nanometers, brengt een belangrijke belofte voor toepassingen van Lab on a chip technologie. De schaal waarop structuren van vloeistofkanalen gemaakt kunnen worden komt overeen met de stoffen die men wenst te analyseren. Dit zorgt ervoor dat de structuur direct invloed heeft op deze stoffen en kan bijvoorbeeld de lengte van DNA gebruikt worden voor detectie wat voorheen onmogelijk was. Dit schept een variëteit aan extra mogelijkheden voor het doen van analyses. Een toonaangevend voorbeeld van de

laatste jaren is bijvoorbeeld het plaatsen van een patroon van pilaren in een vloeistofkanaal. Hierdoor worden, de normaliter opgerolde, DNA moleculen uitgerekt en kunnen hierdoor beter gedetecteerd worden. Het zuigen van DNA moleculen door een gaatje van enkele nanometers zorgt er ook voor dat DNA uitgerekt wordt (zie figuur 4). Voor onderzoek aan cellen kunnen nu naaldjes gemaakt worden die enkele moleculen kunnen inbrengen of onttrekken aan individuele cellen. Dit zijn enkele voorbeelden van technieken die een scala aan nieuwe mogelijkheden opleveren.

² Genomics is de nieuwe term voor grootschalig onderzoek naar erfelijkheid en de genen. Het woord genomics is afgeleid van genoom (het totaal van genen in een organisme). (Definitie naar www.watisgenomics.nl).