

ISSN 2782-3806
ISSN 2782-3814 (Online)
УДК 620.3:61

СИНТЕЗ МИКРО- И НАНОЧАСТИЦ В МИКРОФЛЮИДНЫХ РЕАКТОРАХ ДЛЯ БИМЕДИЦИСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Лазарева Е. О.^{1,2}, Евстрапов А. А.³, Гареев К. Г.², Чебуркин Ю. В.¹,
Крижанович А.², Королев Д. В.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет «ЛЭТИ» им. В. И. Ульянова (Ленина)», Санкт-Петербург, Россия

³Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт аналитического приборостроения Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Лазарева Елизавета Олеговна,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail: lizzifox@yandex.ru

Статья поступила в редакцию
11.10.2021 и принята к печати
09.11.2021.

РЕЗЮМЕ

В настоящее время наблюдается тенденция к внедрению микрофлюидных устройств во многих областях биомедицины: синтез лекарств, тераностика, биосенсоры. Такие устройства обеспечивают быстрое и достаточное перемешивание в микрофлюидных каналах, позволяют получать монодисперсные частицы, в том числе наноразмерные, проводить контроль за условиями синтеза и точно регулировать физико-химические свойства получаемых субстанций. Сенсоры на основе микрофлюидики позволяют детектировать различные патологические процессы. Настоящий обзор литературы дает представление о принципах построения микрофлюидных устройств и систем дозирования реактивов, а также о материалах для микрофлюидных чипов. Приведены примеры использования микрофлюидики в различных областях биомедицины.

Ключевые слова: биосенсоры, микрофлюидика, тераностика.

Для цитирования: Лазарева Е.О., Евстрапов А.А., Гареев К.Г. и др. Синтез микро- и наночастиц в микрофлюидных реакторах для биомедицинского применения. Российский журнал персонализированной медицины. 2021;1(1):207-236.

Список сокращений: КТ — квантовая точка, ЛНЧ — «лаборатория-на-чипе», МНЧ — магнитные наночастицы, МФЧ — материал микрофлюидного чипа, ОНЧ — «орган-на-чипе», ПДМС — полидиметилсилоксан, ФА — флуоресцентный агент, ЯМР — ядерный магнитный резонанс.

ВВЕДЕНИЕ

Микрофлюидные реакторы — устройства, созданные для синтеза веществ и частиц с использованием малых потоков жидкости в каналах микро- и нанометрового размера. Хотя микрофлюидные реакторы были впервые разработаны в начале 90-х годов прошлого века, новые конструкторские решения в топологиях реакторов нашли применения в медицине, фармацевтике и химической промышленности для диагностики, кристаллизации, химического и комбинаторного синтеза, а также быстрых методов анализов.

Разработка миниатюрных реакторов обладает множеством потенциальных достоинств по сравнению с более традиционными способами синтеза химикатов и твердых частиц. Благодаря хорошему контролю реакции, малому расходу реагентов, высокой чувствительности и более безопасной рабочей среде, микрофлюидные устройства хорошо показали себя для более масштабного производства химических соединений с четко определенными и заранее определенными свойствами. Это повышает качество химических субстанций и для фармацевтических производств.

ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МИКРОФЛЮИДНОГО СИНТЕЗА

Микрофлюидные технологии играют чрезвычайно важную роль не только в химическом синтезе, но и в синтезе наночастиц. Наночастицы, полученные с применением микрофлюидного синтеза, нашли применение в таких областях, как медицина [1], электроника [2], косметология [3], солнечная энергетика [4] и другие. В общем виде области применения микрофлюидного синтеза можно проиллюстрировать рисунком 1.

По причине того, что физические и химические свойства нанообъектов зависят от размера, формы и кристаллической структуры, для получения материалов с необходимыми характеристиками и свойствами их синтез требует прецизионного контроля кинетических и термодинамических параметров. Таким образом, роль микрореакторов в синтезе наноматериалов сводится к двум основным задачам — это синтез с контролируемым раз-

мером, формой и структурой и регулирование за счет непрерывных потоковых процессов.

МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ МИКРОФЛЮИДНЫХ ЧИПОВ

Выбор материала микрофлюидного чипа (МФЧ) зависит от целей его использования и реагентов, используемых в ходе исследований.

Традиционными материалами для масштабного производства микрофлюидных устройств являются кремний, кварц, стекло. МФЧ из данных материалов изготавливаются методом фотолитографии [5]. Стекло и кремний используются из-за их термостабильности и совместимости с химическими растворителями в реакциях на кристалле [6], образовании капель [7] и экстракции [8].

Для быстрого прототипирования и исследований в лаборатории обычно используются полимерные материалы, которые были выбраны из-за более низкой цены и более простой технологии изготовления МФЧ. Одним из наиболее часто используемых материалов является полидиметилсилоксан (ПДМС) марки Sylgard 184. Это связано с рядом причин. Жидкий форполимер ПДМС термически отверждается при умеренных температурах (40–70 °С), его можно отливать с нанометровым разрешением с помощью метода мягкой литографии из мастер-форм, изготовленных из кремния, стекла или фоторезиста SU-8 [9], его низкое поверхностное натяжение значительно облегчает отслаивание от шаблонов после отверждения. Чип ПДМС может быть обратимо и конформно загерметизирован с другой частью, сделанной из ПДМС, стекла или другого материала, подложки простым соединением. Однако в случае применения ПДМС требует больше внимания химическая совместимость полимеров с используемыми реагентами. Кроме того, многие полимеры не рассчитаны на использование при высоких температурах.

ИЗГОТОВЛЕНИЕ МИКРОФЛЮИДНЫХ ЧИПОВ НА ОСНОВЕ ПДМС

МФЧ на основе ПДМС изготавливаются при помощи методов мягкой литографии. Последовательность действий при изготовлении таких чипов показана на рисунке 2. Для этого сначала смешивается база ПДМС с отвердителем в массовом соотношении 10:1 и заливается в мастер-форму, обычно изготовленную из кремния методом фотолитографии, с макромасштабным рисунком. Для удаления пузырьков воздуха используется вакуумный эксикатор с насосом. Дегазированный ПДМС помеща-



И так далее

Рис. 1. Общая схема применения микрофлюидного синтеза

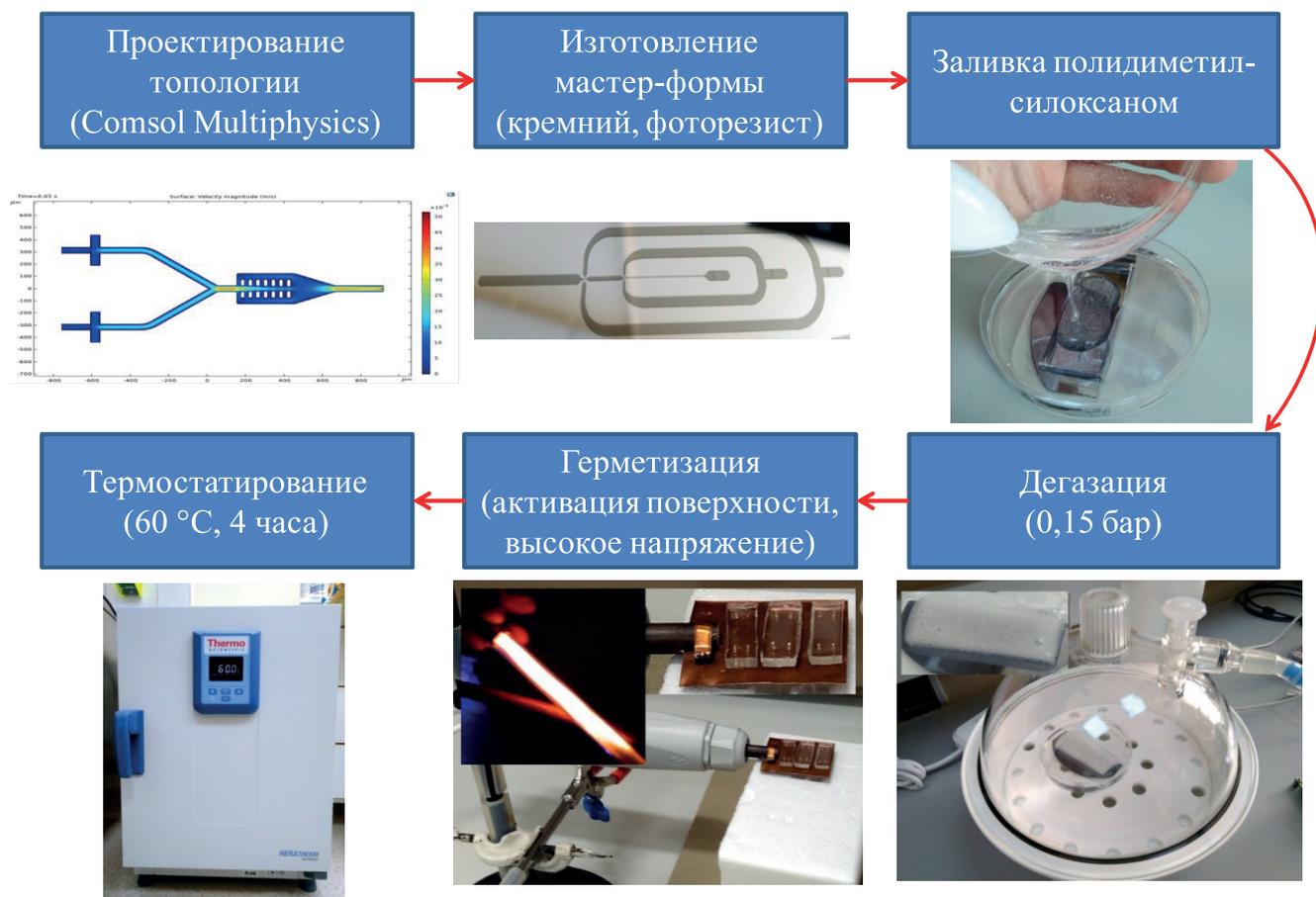


Рис. 2. Схема изготовления МФЧ на основе ПДМС

ют в печь для затвердевания на 4 часа при 60 °С. Отвержденная реплика из ПДМС удаляется с подложки при помощи острого лезвия. Герметизация реплики из ПДМС со стеклянной пластиной может происходить разными способами, например, обработкой в плазме и воздействием токами высокой частоты [10]. После этого готовый МФЧ готов к работе. Приведенный протокол изготовления постоянно пересматривается и улучшается [11]. В данном виде он используется в микрофлюидных исследованиях последних десятилетий [12–14].

КОНСТРУКЦИЯ И ТОПОЛОГИЯ МИКРОФЛЮИДНОГО УСТРОЙСТВА

К выбору типа микрофлюидного устройства, используемого для синтеза наноматериалов, нужно подходить, учитывая все возможные факторы. Простота конструкции приводит к легкой масштабируемости процесса, но снижает качество производимых наноматериалов.

Микрореакторы с более сложной конструкцией позволяют лучше контролировать свойства наночастиц, однако масштабирование процесса может стать проблемой. В этом случае предпочтительнее использовать МФЧ с топологиями, предполагающими работу в непрерывном режиме, особенно для наноматериалов, которые менее чувствительны к изменениям условий реакции.

Микрофлюидные реакторы для химического синтеза можно разделить на три основные категории: реакторы с ламинарным потоком непрерывного действия, реакторы с сегментированным потоком и реакторы на основе капель [15].

Микрореакторы с непрерывным ламинарным потоком включают только однофазные потоки жидкости. Несколько жидких реагентов различного состава и концентрации подаются в МФЧ через входные отверстия. В этих микрореакторах с преобладанием ламинарного потока смешение является ключевым процессом для оптимизации производства.

Методы смешения можно разделить на две большие группы. К первой группе можно отнести МФЧ с топологиями с фокусировкой потоков. Гидродинамическая фокусировка — один из самых важных методов в микрофлюидном синтезе материалов [16, 17]. Гидродинамическая фокусировка всегда происходит в МФЧ с топологиями, предусматривающими трехвходный канал, в котором есть средний и два боковых впускных канала вертикально или под углом (менее 90°) к среднему. Кроме того, расход центрального канала меньше боковых, так что средний поток может быть сфокусированным и смешиваться с боковыми потоками быстро и в достаточной степени. Время перемешивания в основном зависит от соотношения расхода боковых и среднего впускных каналов.

Вторая группа методов смешения касается МФЧ с топологиями для условно более эффективного смешивания. Самые простые топологии чаще всего представляют собой два впускных канала Y-образного микрофлюидного реактора, создавая пересыщенную область на границе диффузионного смешения между двумя взаимно диффундирующими потоками реагентов.

Использование микроструктур, таких как прямые микроканалы [18], изогнутые микроканалы [19], микроканалы со спиралью [20] и хребтовид-

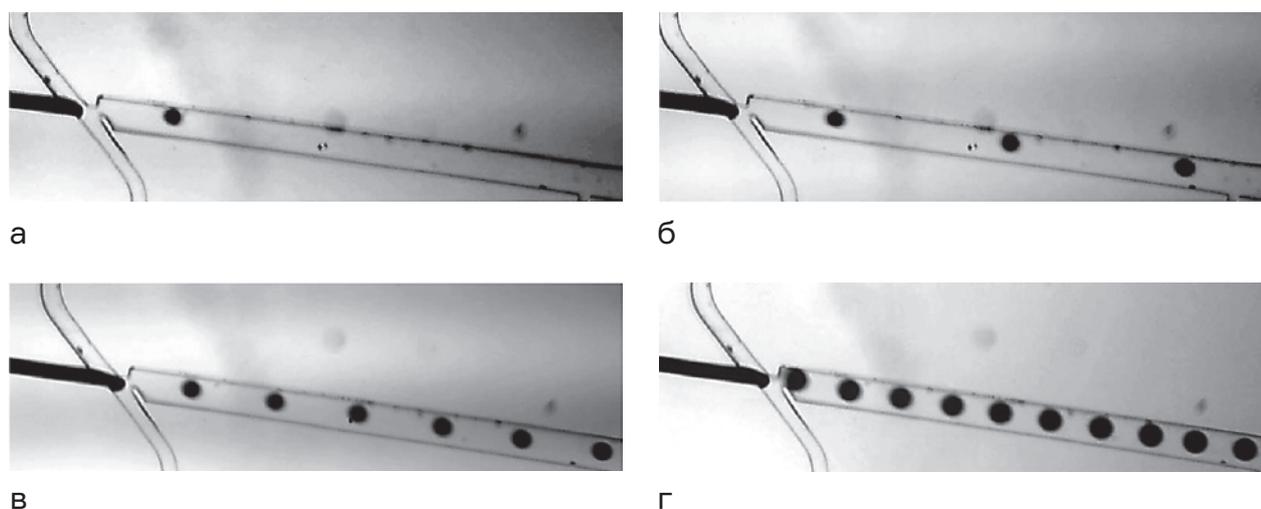


Рис. 3. Примеры получения суспензии магнитной жидкости при различном давлении подачи минерального масла (P1 = 6,0 кПа) и магнитной жидкости (P2): а — P2 = 6,2 кПа; б — P2 = 6,8 кПа; в — P2 = 7,5 кПа; г — P2 = 8,5 кПа

ные смесители [21], может еще больше повысить эффективность смешения за счет внесения возмущений и продления времени смешения потоков в процессе синтеза наночастиц.

Микрореакторы с сегментированным потоком обычно включают несколько потоков жидкой фазы для реагентов и один поток газовой фазы для создания газовых пузырьков с целью изоляции различных сегментов реагентов. Газовые пузырьки образуются из-за различий в поверхностном натяжении между газовой и жидкой фазами. В типовой конструкции два или более реагента в жидких фазах вводятся в микрореактор через входные отверстия. В конструкцию могут быть добавлены дополнительные входы и секции в зависимости от требований для проведения реакции. Микрофлюидные реакторы с сегментированным потоком могут загрязняться из-за физического контакта реагентов и стенок канала. Иногда эту проблему можно решить, проведя анализ гидрофобности стенок канала.

Одним из самых больших преимуществ капельных микрореакторов является разделение на части, с помощью которого могут быть достигнуты быстрое перемешивание, хороший контроль времени и реагентов, а также микросреда, свободная от загрязнений. Такие микрореакторы обычно включают несколько потоков дисперсионной жидкой фазы реагентов и поток несмешивающейся дисперсионной среды для образования капель. Самыми простыми геометрическими конструкциями для образования капель являются Т-образный и Y-образный инжекторы [22]. В них размер капель зависит от ширины канала и скорости потока.

Одной из разновидностей капельных реакторов является МФЧ с топологией с фокусировкой потока, предназначенная для изготовления суспензий. Принцип действия таких реакторов основан

на «сдувании» капель в непрерывном потоке. Применение данной топологии показано на рисунке 3. При различной скорости потока получаются разные размеры капель от 30 мкм (рис. 3, а) до 60 мкм (рис. 3, г), что позволяет регулировать не только скорость образования суспензии, но и дисперсность.

СИСТЕМЫ ПОДАЧИ РЕАГЕНТОВ

В микрофлюидное устройство жидкости могут подаваться шприцевым насосом (рис. 4, а) или под действием приложенного давления (рис. 4, б) [23]. Преимуществом шприцевых насосов является фиксированная объемная скорость потока, однако они также имеют большое время отклика и периодические пульсации. Низкое время отклика делает шприцевые насосы непригодными для усовершенствованного формирования рисунка капель, поскольку скорость потока и результирующую скорость образования капель нельзя быстро изменить.

Системы контроля давления способны индивидуально управлять потоком множества жидкостей одновременно. Они имеют время отклика до 40 мс. Поток в таких системах безимпульсный, однако есть вероятность обратного движения жидкости.

Кроме указанных традиционных систем подачи жидкостей иногда также используются ручные шприцы [24] и лабораторные аналоги [25].

Для проведения синтеза в лабораторных условиях может быть использована небольшая установка (рис. 5), состоящая из светового микроскопа, микрофлюидного контроллера давления с компрессором, капилляров и персонального компьютера с программой для управления системой подачи реагентов. Такая установка была разработана в НМИЦ им. В. А. Алмазова совместно с Институтом аналитического приборостроения.



а

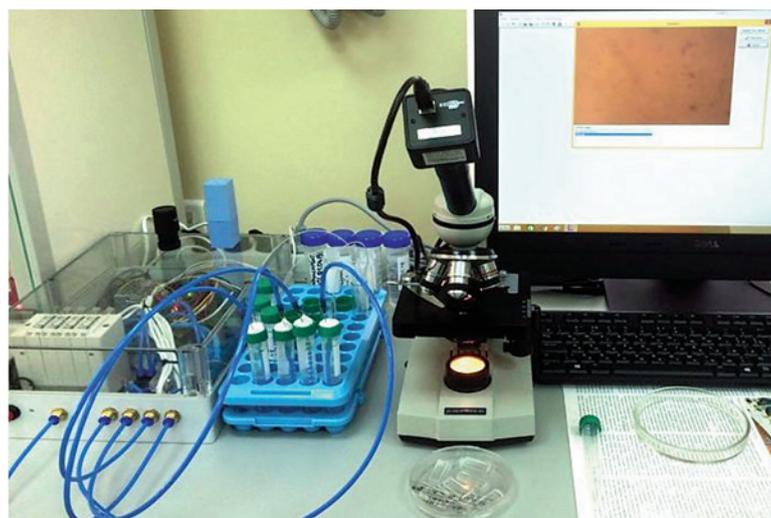


б

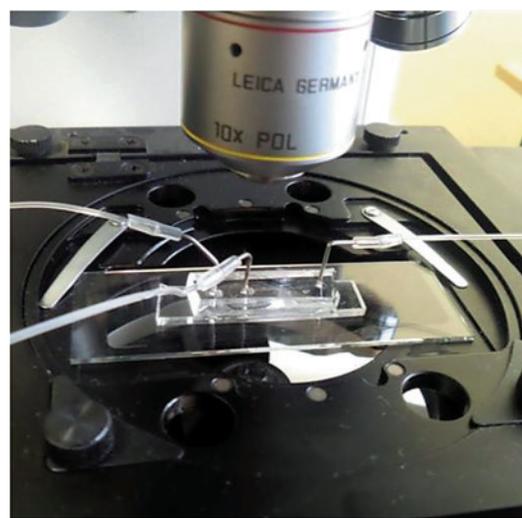
Рис. 4. Примеры систем подачи реагентов:

а — шприцевой насос Harvard Apparatus Pump 11 Elite;

б — контроллер микрожидкостного потока Elveflow OB1 MK3 +



а



б

Рис. 5. Пример установки микрофлюидного синтеза: а — общий вид; б — микроскопирование чипа

МИКРОФЛЮИДНЫЙ СИНТЕЗ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ

За последнее десятилетие эксперименты с использованием микрофлюидных реакторов продемонстрировали, что можно с высокой точностью управлять физическими свойствами различных наноматериалов, таких как квантовые точки, наночастицы, нанотрубки, нанопроволоки и нанокompозиты, путем управления параметрами роста нанокристаллов и кинетикой процессов. Помимо микрофлюидных подходов, основанных на ламинарном потоке, эксперименты, использующие методы микрофлюидных капель для синтеза наночастиц, также оказались успешными. При этом разработка микрофлюидных устройств для синтеза магнитных наноматериалов все еще находится на начальном этапе развития. Тем не менее доступная информация из литературы указывает на то, что существует потенциал для получения лучшего контроля над размером, распределением по размерам, кристаллической структурой и формой магнитных наночастиц (МНЧ) как в мелкомасштабных, так и в крупномасштабных процессах [26, 27].

Компактная система управления технологическим процессом — это эффективный инструмент, который ускоряет оптимизацию параметров синтеза и определение характеристик МНЧ для наномедицинских, тераностических и биосенсорных приложений на основе ядерного магнитного резонанса (ЯМР). Создана и испытана [28] такая автоматизированная система, которая объединяет миниатюр-

ный ЯМР-релаксометр и проточный микрореактор для синтеза и определения характеристик МНЧ на основе оксида железа. Свойства ЯМР-релаксации количественно оценивались в поле постоянного магнита индукцией 0,5 Тл для измерения времени поперечной (T2) и продольной (T1) релаксации. Наночастицы с размером кристаллитов около 25 нм получали соосаждением в микрофлюидном реакторе с трехмерной гидродинамической фокусировкой потока, чтобы избежать засорения каналов.

Предложен микрофлюидный метод синтеза магнитных флуоресцентных липосом [29]. МНЧ были функционализированы аминogруппой в микрофлюидном реакторе и затем ковалентно связаны с карбоксильными группами, иммобилизованными внутри липосом. Такие липосомы обладали хорошей биологической связываемостью и накоплением под действием магнитного поля.

В работе [30] продемонстрировано, что микрофлюидная электропорация может эффективно способствовать синтезу МНЧ, покрытых биомиметической клеточной мембраной. Магнитные наночастицы Fe_3O_4 и везикулы, полученные из мембран эритроцитов (RBC-везикулы), вводились в микрофлюидное устройство. Когда смесь магнитных наночастиц и RBC-везикул протекала через зону электропорации, электрические импульсы способствовали проникновению МНЧ в RBC-везикулы. После этого полученные RBC-покрытые мембраной МНЧ собирались с чипа и вводились экспериментальным животным для тестирования *in vivo*. Благодаря хорошим магнитным и фото-

термическим свойствам ядер МНЧ и длительной циркуляции в крови, характерной для мембранных оболочек эритроцитов, полученные нанообъекты использовались для контрастно-усиленной магнитно-резонансной томографии опухолей и фототермической терапии.

Функционализированные гиалуроновой кислотой наночастицы KGdF_4 , легированные лантаноидами, были синтезированы в два этапа на микрофлюидной платформе [31]. Микрофлюидный синтез наночастиц KGdF_4 , легированных Ln^{3+} , был осуществлен при комнатной температуре в непрерывном режиме с использованием чипа с четырьмя входами. На втором этапе в отдельном МФЧ с Т-топологией на поверхности наночастиц KGdF_4 , легированных Ln^{3+} , при помощи электростатической адсорбции непрерывно иммобилизовалась гиалуроновая кислота. Дисперсный состав полученных нанообъектов был однородным, они показали высокую биосовместимость, целенаправленное клеточное поглощение, фотолуминесцентные и магнитно-резонансные свойства.

В НИИЦ им. В. А. Алмазова совместно с Институтом аналитического приборостроения была разработана топология МФЧ для синтеза МНЧ. Изначально было выявлено, что о частицы магнетита в ходе проведения химической реакции оседают на стенках канала, создавая агрегаты, что в узком проходе апертуры приводит к образованию закупорки канала и сильно затрудняет протекание потоков (рис. 6, а). Увеличивая давление, пробить закупорку еще представляется возможным, но в конечном итоге вся поверхность канала загрязняется, и проведение синтеза невозможно (рис. 6, б). Не решает проблему и добавление различных поверхностно-активных веществ.

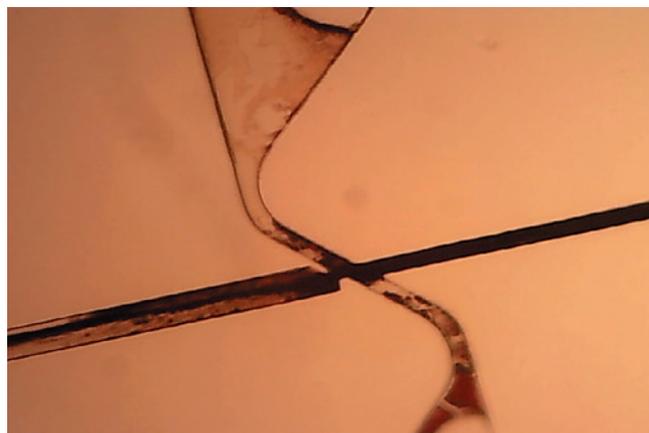
По указанным причинам было принято решение отказаться от синтеза МНЧ в МФЧ с Т-образной топологией и разработать более сложную схему синтеза. Она представляет собой систему из 4 входных интерфейсов и 1 выходного, соединенного системой каналов (рис. 7). Интерфейсы 1 и 2 предназначены для подачи непрерывной среды из минерального масла. Два различных входа для одной среды необходимы для подачи масла с различной скоростью, что реализует подачу микроэмульсий водных растворов с различной скоростью и тем самым позволяет проводить эффективное смешивание с помощью внутренней рециркуляции внутри капли. Интерфейсы 3 и 4 предназначены для поступления в каналы водных растворов сульфата железа и гидрата аммиака, которые являются дисперсными фазами. В перекрестиях 5 реализуется каплеобразование водных растворов методом фокусировки потока. Далее капли поступают в реакционную камеру 6 с массивом стенок для торможения капель. Здесь происходит их слияние и продвижения далее по каналам. Змеевидный участок каналов 7 необходим для лучшего перемешивания объема капель посредством реакции дисперсной фазы на стенках канала. Интерфейс 8 служит для вывода продуктов реакции из МФЧ.

Микрофлюидный синтез и системы тераностики

Тераностика определяется в том числе как подход к разработке фармацевтических композиций, заключающийся в комплексном решении терапевтических и диагностических проблем путем создания препаратов, которые являются одновременно и средством ранней диагностики, и тера-



а



б

Рис. 6. Загрязнение МФЧ с Т-образной топологией при синтезе МНЧ: а — первоначальное загрязнение; б — полное заполнение

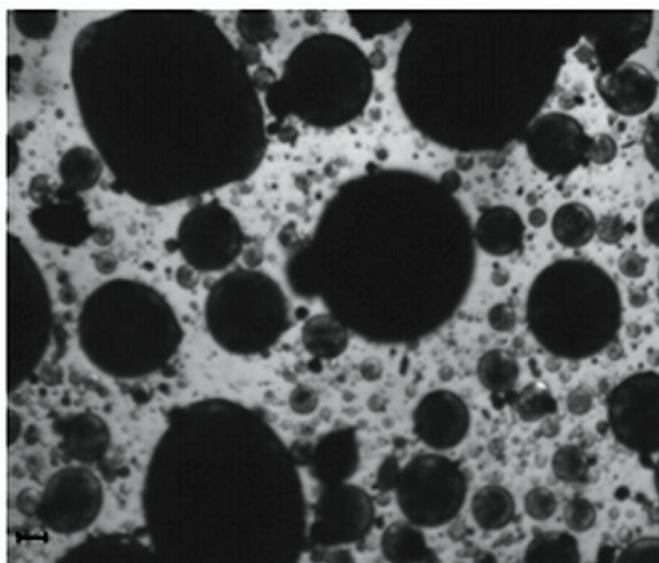
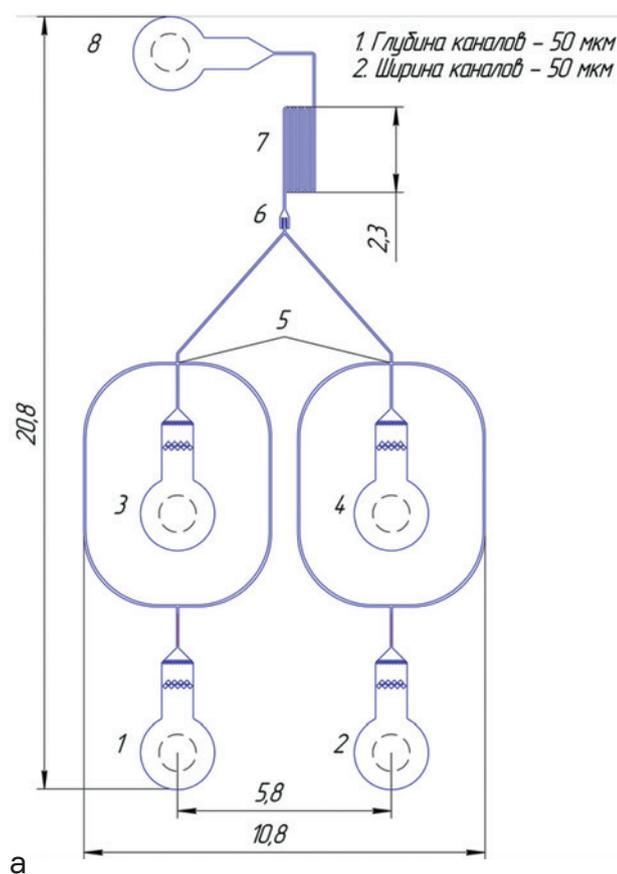


Рис. 7. Топология МФЧ для синтеза магнитных наночастиц (а) и суспензия капель, содержащих наночастицы (б)

певтическим агентом [32]. Американское научное сообщество выделяет тераностику как часть персонализированной, прецизионной медицины, в которой лекарства подбираются индивидуально для каждого пациента на основе его прогнозируемого ответа или индивидуального риска заболевания [33]. И в том и в другом случае для синтеза подобных объектов довольно интересным является применение микрофлюидных систем с несколькими каскадами. Публикации по тераностике согласно базе данных PubMed исходят из 90-х годов, где для разработки лекарств стал применяться системный подход, основанный на точности и селективности [34]. При этом сам термин был введен Функхаузером в 2002 году и определен как интеграция двух модальностей, то есть терапии и медицинской визуализации в единый «пакет» материала для преодоления нежелательных вариаций в биораспределении и терапевтической эффективности [35]. При этом количество публикаций по этой тематике неизменно растет (рис. 8. а). Микрофлюидика стала активно развиваться в начале нулевых годов (рис. 8. б), и количество статей также неуклонно возрастает. Однако существует лишь ограниченное

количество публикаций по тематике применения микрофлюидики в тераностике, не превышающее на сегодняшний день ста публикаций в год (рис. 8. в). По-видимому, это связано со сложностями синтеза и модификации нанообъектов в узких каналах.

В настоящее время задача синтеза объектов тераностики на основе микрофлюидных технологий сводится к двум аспектам: синтез самих наночастиц и их модификация. Для этого применяются МФЧ различных топологий [36]. Общая схема такого синтеза может быть проиллюстрирована рисунком 9. Она включает синтез наночастиц, спейсера, иммобилизацию действующего вещества, нанесение оболочки, иммобилизацию контраста, а также очистку от промежуточных продуктов реакции [37]. На каждой стадии возможен контроль операции. При синтезе наночастиц это контроль распределения по размерам методом динамического светорассеяния (DLS) [38], на стадиях иммобилизации действующих веществ — ИК-Фурье анализ [39], при иммобилизации флуорофоров — это флуоресцентный анализ [40, 41]. Все эти виды анализа, а также ПЦР и другие можно реализовать в отдельных микрочипах [42–46].

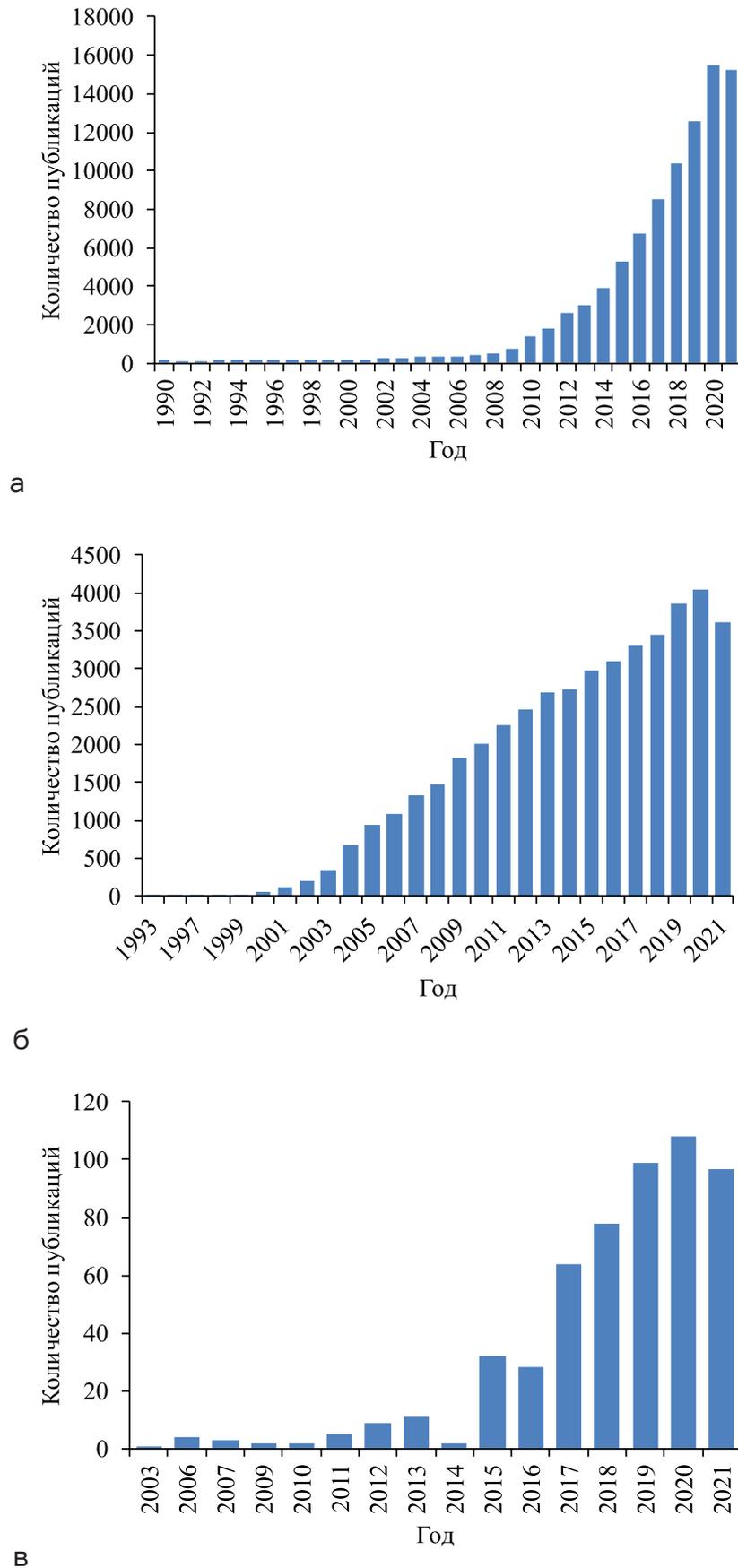


Рис. 8. Количество публикаций:
а – theranostics; б – microfluidic; в – microfluidic & theranostics

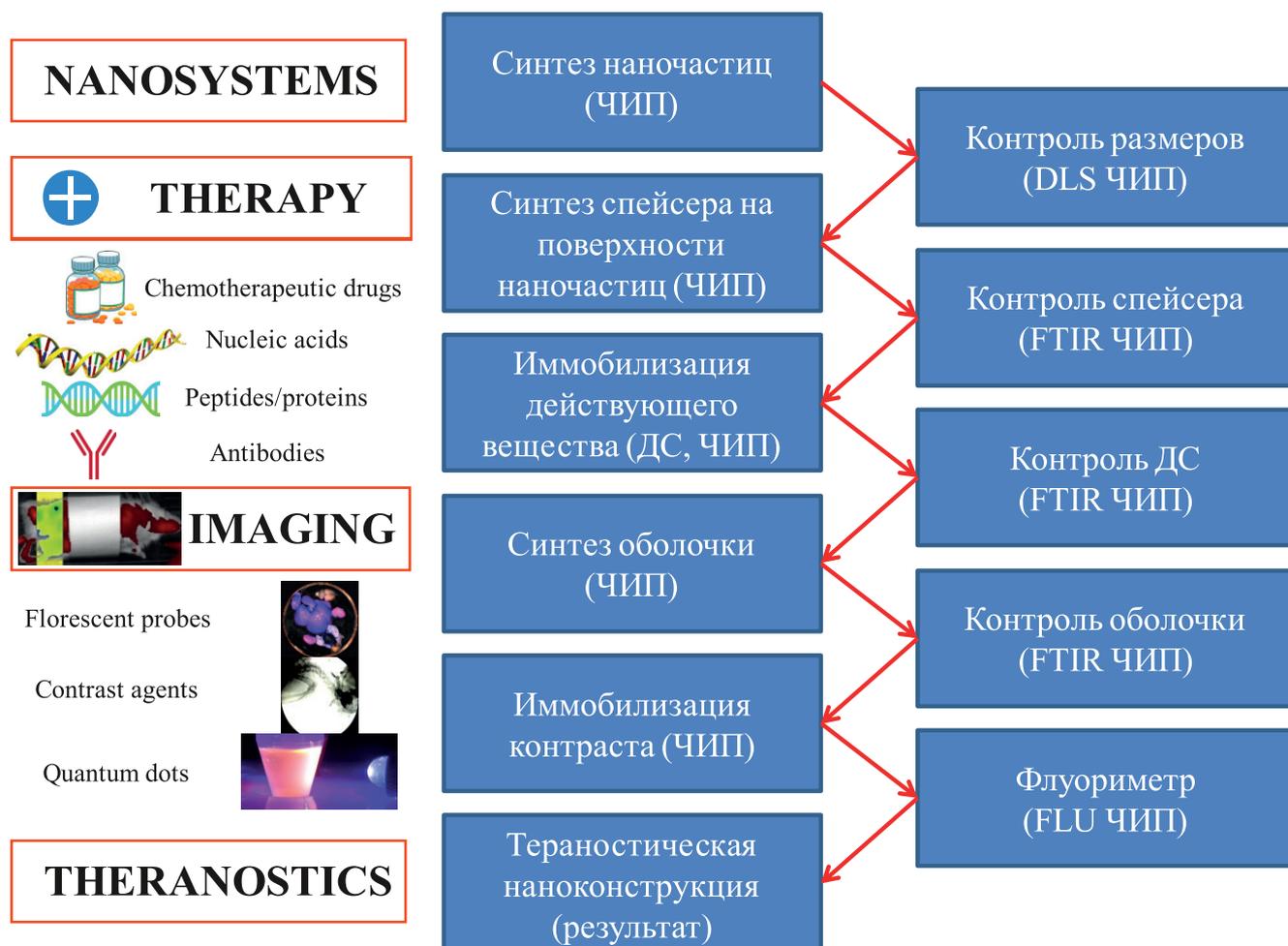


Рис. 9. Общая схема синтеза объектов для тераностики

СЕНСОРЫ НА ОСНОВЕ МИКРОФЛЮИДНЫХ СИСТЕМ

Интеграция микроустройств с различными конструкциями микросхем привела к увеличению функциональности анализа с использованием таких систем. Так, с помощью быстрых и чувствительных микрофлюидных систем можно обнаруживать различные биологические объекты, такие как белки, нуклеиновые кислоты, клетки, патогены и т. д. [47–49]. Однако интересующие исследователей объекты могут иметь не только биологическую природу, но также содержать специфические ионы, растворенные газы, лекарства и токсины [50]. Поэтому микрофлюидные биосенсоры находят применение в различных областях, например, для диагностики заболеваний [51], контроля безопасности пищевых продуктов [52] и мониторинга окружающей среды [53].

В настоящее время наиболее часто используется микрофлюидная платформа, известная как «лабо-

ратория-на-чипе» (ЛНЧ) или система полного микроанализа (micro-TAS) [54, 55].

Устройства на основе технологии ЛНЧ объединяют несколько лабораторных функций на одном кристалле размером от нескольких квадратных миллиметров до нескольких квадратных сантиметров. По сравнению с обычными системами эти платформы обладают множеством преимуществ, например высоким отношением поверхности к объему, точным контролем жидкости, низким расходом образцов и высокой степенью интеграции с функциональными компонентами [56]. Существуют микрофлюидные биосенсоры на кристалле, предназначенные для так называемой диагностики по месту лечения — «point-of-care» (POC) [57]. Микрофлюидика обеспечивает простое и быстрое проведение анализа небольших образцов. Более того, в микрофлюидные микросхемы могут быть встроены несколько датчиков и зон восприятия для повышения их полезности. Предполагается, что идеальный биосенсор

на кристалле будет недорогим, компактным, быстрым и чувствительным.

Недавно был изготовлен гибкий и легко тянущийся электрохимический датчик [58], интегрированный в МФЧ. Это позволяет моделировать физиологические и биомеханические параметры кровеносных сосудов *in vivo* и одновременно отслеживать механически индуцированные биохимические сигналы в режиме реального времени. Разработан микрофлюидный биосенсор для онлайн-чувствительного обнаружения сальмонелл на основе иммуно-магнитного разделения, флуоресцентной маркировки и обработки видео на смартфоне [59]. Магнитные наночастицы использовались для разделения и эффективного концентрирования целевых бактерий, в результате чего были сформированы магнитные бактерии, которые затем были помечены флуоресцентными микросферами. После этого флуоресцентные бактерии непрерывно вводились в МФЧ и подсвечивались флуоресцентной микроскопической системой, а флуоресцентные пятна подсчитывались в режиме онлайн с помощью приложения для смартфона на основе алгоритма межкадрового различия для определения количества бактерий.

Одной из разновидностей ЛНЧ является технология «орган-на-чипе» (ОНЧ), которая возникла из-за стремления заменить экспериментальные модели на животных [60].

Платформы ОНЧ — это новое поколение трехмерных моделей культур клеток, которые лучше имитируют динамические, физико-химические, биохимические и микроархитектурные свойства микросреды живых органов. Микрофизиологические системы на основе «орган-на-чипе» являются гибкими и могут быть сконструированы таким образом, чтобы имитировать требуемые типы органов и тканей для процесса открытия и разработки лекарств [61, 62]. Например, для исследований физических и физиологических аспектов альвеолярной ткани используется модель «легкое-на-чипе» [63].

Важным направлением в развитии тестовых микрофлюидных систем является диагностика вирусных заболеваний. Такие системы могут быть основаны как на технологии ОНЧ, так и на биосенсорах для РОС. Одним из таких сенсоров является платформа на базе смартфона для высокочувствительного и селективного обнаружения вируса птичьего гриппа на основе колориметрической детекции с использованием наноматериалов [64]. Трехмерные наноструктуры, которые служат каркасом для конъюгации антител для захвата вируса птичьего гриппа, изготовлены на структурах их ПДМС в форме елочки с использованием ша-

блона наностержней ZnO. После захвата вируса колориметрическая реакция на основе наночастиц золота на кристалле позволяет обнаруживать вирус невооруженным глазом. В качестве примера тестовой системы на основе ОНЧ может служить работа по изучению взаимодействий вирус-хозяин и реакций человека на моделях «легкие-на-чипе» и «кишечник-на-чипе» [65].

На сегодняшний день остро стоит проблема детектирования вируса SARS-CoV-2. Основными методами диагностики сейчас являются геномные (включающие в себя методы ПЦР, ОТ-ПЦР в реальном времени, секвенирование) и серологические/иммунологические тесты (сфокусированные на обнаружении антител или антигенов в биологических образцах, взятых у пациентов). При высокой степени достоверности данных методов у них есть ряд значительных недостатков, выражающихся в высокой себестоимости, продолжительности анализа и зависимости точности результатов от способов забора материала, соблюдения условий хранения, транспортировки и подготовки образцов. Все это осложняет проведение массового скрининга, особенно в отдаленных регионах с недостаточно развитой инфраструктурой [66–69]. Часть этих проблем можно решить с помощью технологии иммобилизации вирусных антигенов или белков его мишеней на поверхности наночастиц с последующим их использованием для определения маркеров вирусной инфекции (как нуклеиновых кислот и вирусных белков, так и антител против них). В последние годы новые методы нанодиагностики для раннего чувствительного обнаружения вирусных инфекций рассматриваются в качестве наиболее доступных и эффективных в условиях эпидемии. Они не требуют большого объема исследуемого образца, специальной пробоподготовки и могут использоваться даже в домашних условиях, что снижает риск перекрестного инфицирования окружающих [70]. С целью усиления сигнала при детекции патогенов поверхности наночастиц легко модифицируются поливалентными лигандами или другими биомолекулами [71]. Функционализация поверхности придает наночастицам способность взаимодействовать со специфическими биомаркерами инфекции, такими как вирусная РНК, вирусные белки и вирусспецифические антитела [72, 73]. Уникальные физико-химические характеристики наночастиц (оптические, реакционные и/или флуоресцентные свойства) позволяют им преобразовывать факт взаимодействия с биомаркерами в измеряемые сигналы детекции [74, 75]. Все это позволяет сформулировать новую схему детектирования вирусов и, в частности, COVID-19 (рис. 10).

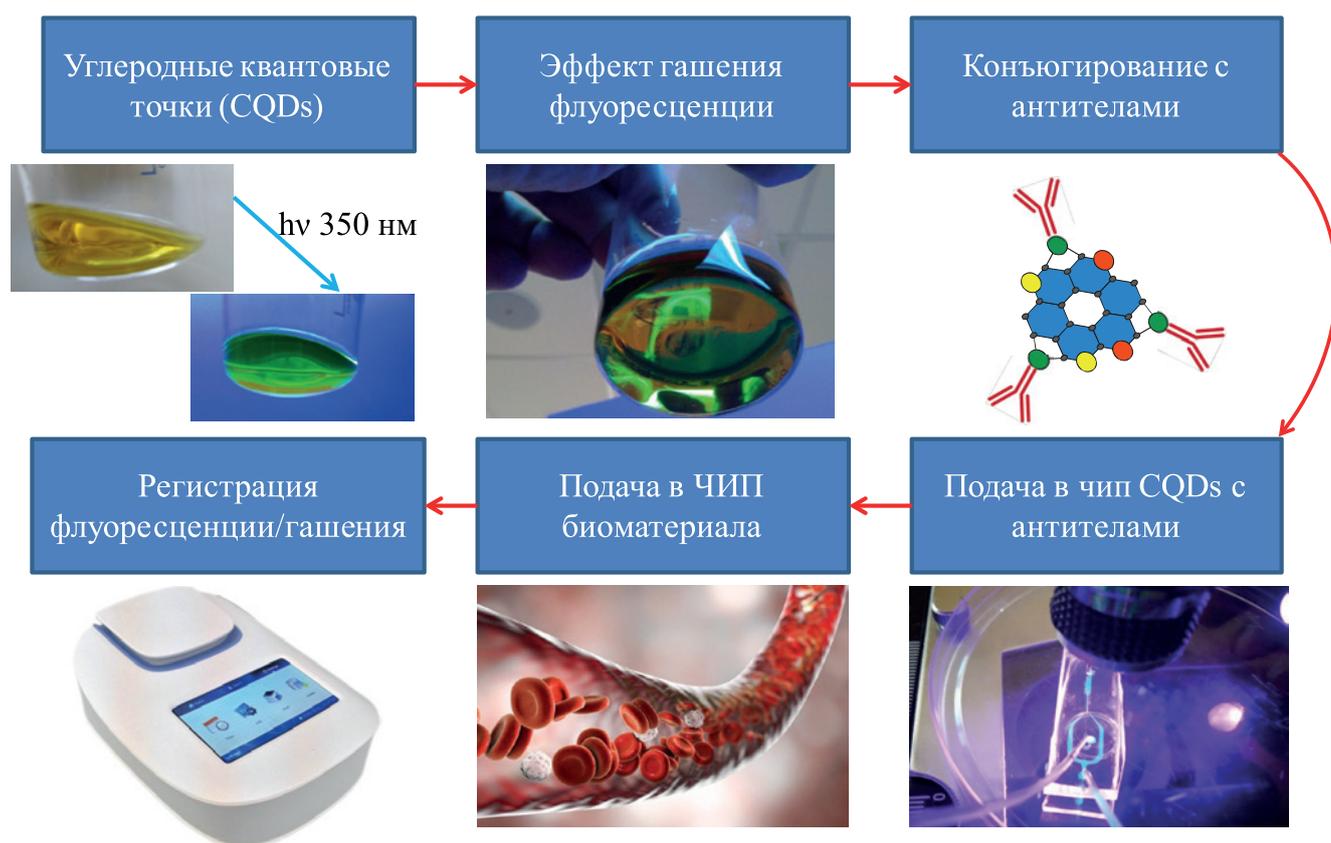


Рис. 10. Общая схема сенсора на основе гашения флуоресценции углеродных квантовых точек

Основным компонентом системы является флуоресцентный агент (ФА), которому свойственно гашение флуоресценции при снижении интенсивности индуцирующего излучения либо смещении его длины волны. В качестве ФА могут выступать коллоидные квантовые точки (КТ), которые по своей физической природе являются наночастицами. КТ конъюгируются с антителами к вирусу либо с белком, который является тропным к какой-либо части вируса. Такой конъюгат может быть запущен в канал микрофлюидного чипа, где смешивается с кровью и поступает на детектирование в другой чип. Схема может быть портативной и адаптированной для различных вирусов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на относительно недавнее начало применения микрофлюидного синтеза, он показал хорошую способность к воспроизведению микро- и наночастиц в контролируемой среде.

Успешный синтез и применение микро- и наночастиц на основе микрофлюидики обладают следующими особенностями:

1. Быстрое и достаточное перемешивание в микрофлюидных каналах приводит к монодисперсным частицам с относительно высоким выходом.
2. Контроль за условиями синтеза позволяет точно регулировать физико-химические свойства и минимизировать их отклонение от партии к партии.
3. Систематическая интеграция нескольких процедур в единое микрофлюидное устройство позволяет производить микро- и наночастицы с желаемой сложной структурой за один этап.
4. Технология микрореакторов обеспечивает улучшенное управление процессом на основе четко определенных микроструктур активной элементарной ячейки, которые могут быть воспроизведены для получения более высоких объемов химического производства.

Все эти преимущества позволяют сделать вывод о перспективе масштабного использования микрофлюидики для биомедицинских целей. В настоящее время уже близко к практической реализации применение микрофлюидных устройств в таких областях, как синтез лекарств [76], проведение ПЦР-анализа [77], для исследования клеток [78], синтеза радиофармацевтических препаратов [79] и многих других.

Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. El-Housiny S, Eldeen M A S, El-Attar YA, et al. Fluconazole-loaded solid lipid nanoparticles topical gel for treatment of pityriasis versicolor: formulation and clinical study. *Drug Deliv.* 2018;25(1):78-90.
2. Millstone JE, Kavulak DFJ, Woo CH, et al. Synthesis, properties, and electronic applications of size-controlled poly(3-hexylthiophene) nanoparticles. *Langmuir.* 2010;26:13056–13061.
3. Arroyo GV, Madrid AT, Gavilanes AF, et al. Green synthesis of silver nanoparticles for application in cosmetics. *Journal of environmental science and health, part A.* 2020;55(11):1304-1320.
4. Gao Y, Wu Y, Lu H, et al. CsPbBr₃ perovskite nanoparticles as additive for environmentally stable perovskite solar cells with 20.46% efficiency. *Nano Energy.* 2019;63:103838.
5. Lin CH, Lee GB, Lin YH, et al. A Fast Prototyping Process for Fabrication of Microfluidic Systems on Soda-Lime Glass. *J. Micromech. Microeng.* 2001;11:726–732.
6. Torabinia M, Asgari P, Dakarapu U, et al. On-chip organic synthesis enabled by engine-and-cargo in an electrowetting-on-dielectric digital microfluidic device. *Lab Chip.* 2019;19:3054-3064.
7. Herranz-Blanco B, Ginestar E, Zhang H, et al. Microfluidics platform for glass capillaries and its application in droplet and nanoparticle fabrication. *Int J Pharm.* 2017;516(1–2):100-105.
8. Talebi S, Abedini A, Lele P, et al. Microfluidics-based measurement of solubility and diffusion coefficient of propane in bitumen. *Fuel.* 2017;210:23–31.
9. Mukherjee P, Nebuloni F, Gao H, et al. Rapid prototyping of soft lithography masters for microfluidic devices using dry film photoresist in a non-cleanroom setting. *Micromachines.* 2019;10(3):192.
10. Ivanov SV, Trachevskii VV, Stolyarova NV, et al. Plasmochemical modification of polymer surfaces. *Rus J Appl Chem.* 2006;79:445–447.
11. Kim DNH, Kim KT, Kim C, et al. Soft lithography fabrication of index-matched microfluidic devices for reducing artifacts in fluorescence and quantitative phase imaging. *Microfluid Nanofluid.* 2018;22:2.
12. Costa PF, Albers HJ, Linssen JEA, et al. Mimicking arterial thrombosis in a 3D-printed microfluidic in vitro vascular model based on computed tomography angiography data. *Lab on a Chip.* 2017;17(16):2785–2792.
13. Prabhakar A, Agrawal M, Mishra N, et al. Cost-effective smart microfluidic device with immobilized silver nanoparticles and embedded UV-light sources for synergistic water disinfection effects. *RSC Advances.* 2020;10(30):17479–17485.
14. Lopez C, Oza G, Casanova JR, et al. Proposal to Develop a Microfluidic Platform with GMR Sensors and the Use of Magnetic Nanoparticles in Order to Detect Cancerous Cells: Preliminary experimentation. *Global Medical Engineering Physics Exchanges/ Pan American Health Care Exchanges (GMEPE/PAHCE).* 26-31 March 2019: 18691807.
15. Hao N, Nie Y, Zhang JXJ. Microfluidic synthesis of functional inorganic micro-/nanoparticles and applications in biomedical engineering. *International Materials Reviews.* 2018;63(8):461-487.
16. Lin WZS, Malmstadt N. Liposome production and concurrent loading of drug simulants by microfluidic hydrodynamic focusing. *Eur Biophys J.* 2019;48(6):549-558.
17. Wang Y, Seidel M. Strategy for fast manufacturing of 3D hydrodynamic focusing multilayer microfluidic chips and its application for flow-based synthesis of gold nanoparticles. *Microfluid Nanofluid.* 2021;25:64.
18. Sounart TL, Safier PA, Voigt JA, et al. Spatially-resolved analysis of nanoparticle nucleation and growth in a microfluidic reactor. *Lab Chip.* 2007;7:908–915.
19. Tofighi G, Lichtenberg H, Pesek J, et al. Continuous microfluidic synthesis of colloidal ultrasmall gold nanoparticles: in situ study of the early reaction stages and application for catalysis. *React. Chem. Eng.* 2017;2:876–884.
20. Hao N, Xua Z, Nie Y, et al. Microfluidics-enabled rational design of ZnO micro-/nanoparticles with enhanced photocatalysis, cytotoxicity, and piezoelectric properties. *Chem Eng J.* 2019;378:122222.
21. Zhang Y, Tong X, Yang L, et al. A herringbone mixer based microfluidic device HBEXO-chip for purifying tumor-derived exosomes and establishing miRNA signature in pancreatic cancer. *Sensors and Actuators B: Chemical.* 2021;332:129511.
22. Christopher GF, Anna SL. Microfluidic methods for generating continuous droplet streams. *J Phys D: Appl Phys.* 2007;40:R319.
23. Schimel TM, Nguyen MA, Sarles SA, et al. Pressure-driven generation of complex microfluidic droplet networks. *Microfluidics and Nanofluidics.* 2021;25:78.
24. Xie T, Wang P, Wu L, et al. A hand-powered microfluidic system for portable and low-waste sample discretization. *Lab on a Chip.* 2021;21:3429-3437.
25. Davis JJ, Padalino M, Kaplitz AS, et al. Utility of low-cost, miniaturized peristaltic and Venturi pumps in droplet microfluidics. *Analytica Chimica Acta.* 2021;1151:338230.

26. Khizar S, Halima HB, Ahmad NM, et al. Magnetic nanoparticles in microfluidic and sensing: From transport to detection. *Electrophoresis*. 2020;41(13-14):1206-1224.
27. Abedini-Nassab R, Miandoab MP, Şaşmaz M. Microfluidic Synthesis, Control, and Sensing of Magnetic Nanoparticles: A Review. *Micromachines (Basel)*. 2021;12(7):768.
28. Bemetz J, Wegemann A, Saatchi K, et al. Microfluidic-Based Synthesis of Magnetic Nanoparticles Coupled with Miniaturized NMR for Online Relaxation Studies. *Anal Chem*. 2018;90(16):9975-9982.
29. Hermann CA, Mayer M, Griesche C, et al. Microfluidic-enabled magnetic labelling of nanovesicles for bioanalytical applications. *Analyst*. 2021;146(3):997-1003.
30. Rao L, Cai B, Bu LL, et al. Microfluidic Electroporation-Facilitated Synthesis of Erythrocyte Membrane-Coated Magnetic Nanoparticles for Enhanced Imaging-Guided Cancer Therapy. *ACS Nano*. 2017;11(4): 3496-3505.
31. Ma J, Yi C, Li CW. Facile synthesis and functionalization of color-tunable Ln^{3+} -doped KGdF_4 nanoparticles on a microfluidic platform. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2020;108:110381.
32. Melerzanov A, Moskalev A, Zharov V. Precision medicine and molecular theranostics. *Doctor*. 2016;2:11-14. In Russian [Мелерзанов А, Москалев А, Жаров В. Прецизионная медицина и молекулярная тераностика. *Врач*. 2016;2:11-14].
33. Stratified, personalised or P4 medicine: a new direction for placing the patient at the centre of healthcare and health education (Technical report). Academy of Medical Sciences, 2015. p. 37.
34. Papavassiliou AG. Transcription-factor-modulating agents: precision and selectivity in drug design. *Mol Med Today*. 1998;4(8):358-66.
35. Kalash RS, Lakshmanan VK, Cho CS, et al. Theranostics. In: Mitsuhiro Ebara. *Biomaterials Nanoarchitectonics*. Elsevier Inc., 2016:197-215.
36. Mosayebi J, Kiyasatfar M, Laurent S. Synthesis, Functionalization, and Design of Magnetic Nanoparticles for Theranostic Applications. *Adv. Healthcare Mater*. 2017;6:1700306.
37. Khositanon C, Adpakpang K, Bureekaew S, et al. Continuous-flow purification of silver nanoparticles and its integration with flow synthesis. *J Flow Chem*. 2020;10:353-362.
38. Chastek TQ, Iida K, Amis EJ, et al. A microfluidic platform for integrated synthesis and dynamic light scattering measurement of block copolymer micelles. *Lab on a Chip*. 2008;8(6):950-957.
39. Perro A, Lebourdon G, Henry S, et al. Combining microfluidics and FT-IR spectroscopy: towards spatially resolved information on chemical processes. *React. Chem. Eng*. 2016;1:577-594.
40. Măriuța D, Colin S, Barrot-Lattes C, et al. Miniaturization of fluorescence sensing in optofluidic devices. *Microfluid Nanofluid*. 2020;24:65.
41. Ryu G, Huang J, Hofmann O, et al. Highly sensitive fluorescence detection system for microfluidic lab-on-a-chip. *Lab on a Chip*. 2011;11(9):1664.
42. Bates KE, Lu H. Optics-Integrated Microfluidic Platforms for Biomolecular Analyses. *Biophysical Journal*. 2016;110(8):1684-1697.
43. Li Z, Ju R, Sekine S, et al. All-in-one microfluidic device for on-site diagnosis of pathogens based on integrated continuous flow PCR and electrophoresis biochip. *Lab Chip*. 2019;19:2663-2668.
44. Bomers M, Charlot B, Barho F, et al. Microfluidic surface-enhanced infrared spectroscopy with semiconductor plasmonics for the fingerprint region. *React Chem Eng*. 2020;5:124.
45. Vaccari L, Birarda G, Businaro L, et al. Infrared Microspectroscopy of Live Cells in Microfluidic Devices (MD-IRMS): Toward a Powerful Label-Free Cell-Based Assay. *Analytical Chemistry*. 2012;84(11):4768-4775.
46. Xiao L, Zhang P, Li W, et al. Multi-angle Fiber DLS system Based on Microfluidics Technology. *International Applied Computational Electromagnetics Society Symposium. China (ACES)*. 2019:19565492.
47. McArdle H, Jimenez-Mateos EM, Raouf R, et al. "TORNADO" – Theranostic One-Step RNA Detector; microfluidic disc for the direct detection of microRNA-134 in plasma and cerebrospinal fluid. *Sci Rep*. 2017;7:1750.
48. Kaur G, Tomar M, Gupta V. Development of a microfluidic electrochemical biosensor: Prospect for point-of-care cholesterol monitoring. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2018;261:460-466.
49. Shin SR, Kilic T, Zhang YS, et al. Label-Free and Regenerative Electrochemical Microfluidic Biosensors for Continual Monitoring of Cell Secretomes. *Advanced Science*. 2017;4(5):1600522.
50. Kirsch J, Siltanen C, Zhou Q, et al. Biosensor technology: recent advances in threat agent detection and medicine *Chem Soc Rev*. 2013;42:8733-8768.
51. Ghrera AS, Pandey CM, Malhotra BD. Multiwalled carbon nanotube modified microfluidic-based biosensor chip for nucleic acid detection. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2018;266:329-336.
52. Jiang H, Jiang D, Zhu P, et al. A novel mast cell co-culture microfluidic chip for the electrochemical evaluation of food allergen. *Biosensors and Bioelectronics*. 2016; 83: 126-133.
53. Campaña A, Florez S, Noguera M, et al. Enzyme-Based Electrochemical Biosensors for Microfluidic Platforms to Detect Pharmaceutical Residues in Wastewater. *Biosensors*. 2019;9(1):41.

54. Arora A, Simone G, Salieb-Beugelaar GB, et al. Latest Developments in Micro Total Analysis Systems. *Analytical Chemistry*. 2010;82(12):4830–4847.
55. Fernández-la-Villa A, Pozo-Ayuso DF, Castaño-Álvarez M. Microfluidics and electrochemistry: An emerging tandem for next-generation analytical microsystems. *Current Opinion in Electrochemistry*. 2019;15:175-185.
56. Haeberle S, Zengerle R. Microfluidic platforms for lab-on-a-chip applications. *Lab Chip*. 2007;7:1094–1110.
57. Rackus DG, Shamsi MH, Wheeler AR. Electrochemistry, biosensors and microfluidics: a convergence of fields. *Chemical Society Reviews*. 2015;44(15):5320–5340.
58. Jin Z, Liu Y, Fan W, et al. Integrating Flexible Electrochemical Sensor into Microfluidic Chip for Simulating and Monitoring Vascular Mechanotransduction. *Small*. 2019:1903204.
59. Wang S, Zheng L, Cai G, et al. A microfluidic biosensor for online and sensitive detection of *Salmonella typhimurium* using fluorescence labeling and smartphone video processing. *Biosensors and Bioelectronics*. 2019:111333.
60. Ahadian S, Civitarese R, Bannerman D, et al. Organ-On-A-Chip Platforms: A Convergence of Advanced Materials, Cells, and Microscale Technologies. *Adv Healthc Mater*. 2018;7:1700506.
61. Asif A, Kim KH, Jabbar F, et al. Real-time sensors for live monitoring of disease and drug analysis in microfluidic model of proximal tubule. *Microfluid Nanofluid*. 2020;24:43.
62. Khetani S, Yong KW, Kollath, VO, et al. Engineering Shelf-Stable Coating for Microfluidic Organ-on-a-Chip using Bioinspired Catecholamine Polymers. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2020;12(6):6910-6923.
63. Arefi SMA, Tony Yang CWT, Sin DD, et al. Simulation of nanoparticle transport and adsorption in a microfluidic lung-on-a-chip device. *Biomicrofluidics*. 2020;14(4):044117.
64. Xia Y, Chen Y, Tang Y et al. A Smartphone-based Point-of-care Microfluidic Platform Fabricated with ZnO Nanorod Template for Colorimetric Virus Detection. *ACS Sensors*. 2019 ;4(12):3298-3307.
65. Wang Y, Wang P, Qin J. Microfluidic Organs-on-a-Chip for Modeling Human Infectious Diseases. *Acc. Chem. Res*. 2021;54(18):3550–3562.
66. Olofsson S, Brittain-Long R, Andersson LM, et al. PCR for detection of respiratory viruses: seasonal variations of virus infections. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2011;9(8):615–626.
67. Saijo M, Morikawa S, Kurane I. Real-time quantitative polymerase chain reaction for virus infection diagnostics. *Expert Opin Med Diagn*. 2008;2(10):1155–1171.
68. Whitman JD, Hiatt J, Mowery CT, et al. Evaluation of SARS-CoV-2 serology assays reveals a range of test performance. *Nat Biotechnol*. 2020;38(10):1174–1183.
69. Peeling RW, Wedderburn CJ, Garcia PJ, et al. Serology testing in the COVID-19 pandemic response. *Lancet*. 2020;20(9):E245–E249.
70. Derakhshan MA, Amani A, Faridi-Majidi R. State-of-the-Art of Nanodiagnosics and Nanotherapeutics against SARS-CoV-2. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2021;13(13):14816–14843.
71. Bellan LM, Wu D, Langer RS. Current trends in nanobiosensor technology. *Wiley Interdiscip. Rev Nanomed Nanobiotechnol*. 2011;3(3):229–246.
72. Talebian S, Wallace GG, Schroeder A, et al. Nanotechnology-based disinfectants and sensors for SARS-CoV-2. *Nat Nanotechnol*. 2020;15(8):618–621.
73. Saxena A, Khare D, Agrawal S et al. Recent advances in materials science: a reinforced approach toward challenges against COVID-19. *Emergent Mater*. 2021;4(1):57–73.
74. Chintagunta AD, M SK, Nalluru S, et al. Nanotechnology: An emerging approach to combat COVID-19. *Emergent Mater*. 2021;4:119–130.
75. Hassanzadeh P. Nanotheranostics against COVID-19: From multivalent to immune-targeted materials. *J Control Release*. 2020;328:112–126.
76. Akhmedova DA, Shatalov DO, Ivanov IS, et al. The use of microfluidic hardware in the synthesis of oligohexamethylene guanidine derivatives. *Fine Chemical Technologies*. 2021;16(4):307-317.
77. Woolley AT, Hadley B, Landre P, et al. Functional integration of PCR amplification and capillary electrophoresis in a microfabricated DNA analysis device. *Anal. Chem*. 1996;68(23):4081–4086.
78. Kukhtevich IV, Evstrapov AA, Bukatin AS. Microfluidic devices for cell research (review). *Scientific instrumentation*. 2013;4:66-75. In Russian [Кухтевич И.В., Евстратов А.А., Букатин А.С. Микрофлюидные устройства для исследований клеток (обзор). *Научное приборостроение*. 2013;4:66–75].
79. Zhanaveskin ML, Mironova AA, Popov AM, et al. Application of microfluidic technology for the synthesis of ¹⁸F-labeled radiopharmaceuticals. *Medical physics*. 2013;4:44-51. In Russian [Занавескин М.Л., Миронова А.А., Попов А.М. и др. Применение микрофлюидной технологии для синтеза радиофармпрепаратов, меченных ¹⁸F. *Медицинская физика*. 2013;4:44-51].

Информация об авторах:

Лазарева Елизавета Олеговна, младший научный сотрудник НИЛ нанотехнологий Центра экспериментального биомоделирования Института экспериментальной медицины ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Евстрапов Анатолий Александрович, д.т.н., исполняющий обязанности директора ИАП РАН;

Гареев Камиль Газинурович, к.т.н., доцент кафедры микро- и наноэлектроники СПбГЭТУ «ЛЭТИ»;

Чебуркин Юрий Владимирович, к.м.н., заведующий НИЛ инфекционных патогенов и биомолекулярных наноструктур Центра доклинических и трансляционных исследований ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Крижанович Александр, магистрант СПбГЭТУ «ЛЭТИ»;

Королев Дмитрий Владимирович, д.х.н., доцент, заведующий НИЛ нанотехнологий Центра экспериментального биомоделирования Института экспериментальной медицины ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.