

A méret igenis lényeg: mikrofluidika a biológiában

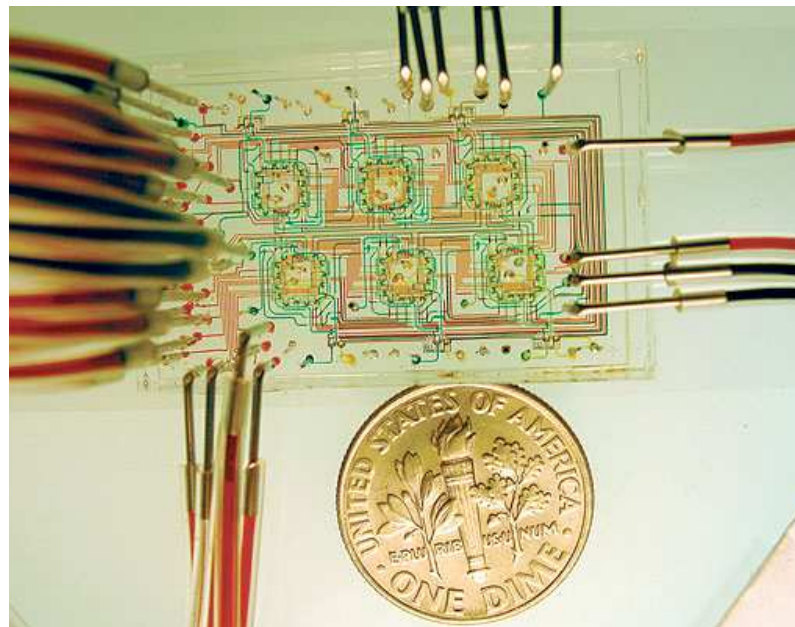
Galajda Péter 2011.02.23-i előadása alapján

Mikrofluidika – idegenül csengő kifejezés, ami talán némi magyarázatra szorul. A mikro szót még értjük is és jogosan gondolunk valami „kicsire”. A fluidika pedig a folyadékok, folyadékkezelő rendszerek tudományát jelenti. Írásomban tehát egy olyan, még viszonylag új, de gyorsan fejlődő technológiáról, illetve tudományterületről lesz szó, amely sok tekintetben forradalmasíthatja a biológiai kutatásokat. Előadónk, Galajda Péter az MTA SZBK Biofizikai Intézetének közelmúltban hazatért munkatársa, aki a 2010-es Lendület Program nyerteseként mikrofluidikai kutatócsoportot alapított anyaintézményében.

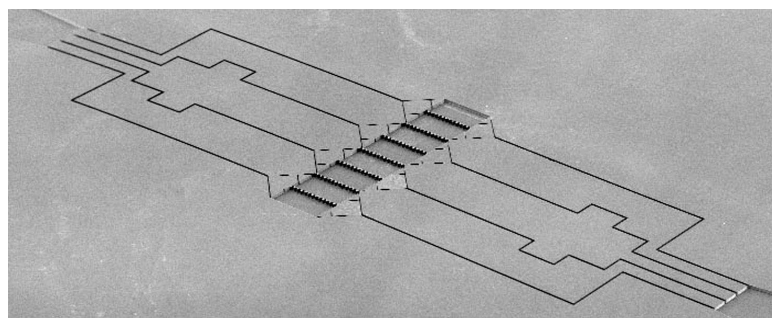
Bevezetésként fontos tisztázni azt az érdekes jelenséget, hogy a méretek egy bizonyos határon túli csökkentésével a hétköznapi, „makroszkopikus” világban megszokott fizikai törvények megváltoznak. Ezzel kapcsolatban csak a (csőben) áramló folyadékok példájára szeretnék kitérni. Az áramlástan egyik fontos mérőszáma az ún. Reynolds-féle szám: $Re = v * d * \rho / \nu$; ahol v = áramlási sebesség, d = csőkeresztmetszet, ρ = sűrűség és ν = viszkozitás (a folyadék belső súrlódása). A „makroszkopikus világot” a nagy Reynolds-számok jellemzik: ha Re egy kritikus érték fölé emelkedik (pl. megnő a sebesség), akkor turbulenssé válik az áramlás, örvények keletkeznek, megnő a súrlódási ellenállás. (Pl. ha egy szűk keresztmetszetű öntözőcsőben túl gyorsan áramlik a víz, a turbulencia miatt megnőtt nyomás elrepsztheti a csövet vagy szétfeszítheti a tömítéseket.) A turbulencia gyakorlati megnyilvánulása viszont az, hogy a folyadék összekeveredik. Ha fordítva gondolkozunk és lecsökkentjük a keresztmetszetet (a fent egyenletben d), akkor kis Reynolds-számot kapunk. Ilyenkor az (egymás mellett) áramló folyadékok nem képesek összekeveredni. Erről érdekes videó látható az alábbi linken: <http://www.youtube.com/watch?v=5QVwljd04Kw&feature=related>. Alaposabban szemügyre véve a fenti egyenletet, úgy is kis Re értékhez juthatunk, ha megnöveljük a folyadék viszkozitását. Viszkózus folyadék pl. a méz, a glicerin vagy egy nagyon tömény keményítőoldat, mint ami az alábbi linken elérhető videón is szerepel: http://www.youtube.com/watch?v=p08_KITKP50&feature=related.

Itt makroszkopikus méretek között sikerült kis Reynolds-számot teremteni. A fentiek már előrevetítik, hogy egy miniatürizált rendszer nem csak azért jó, mert nem anyagigényes (kis helyen elfér, olcsón fenntartható stb.), hanem mert olyan jelenségeket is vizsgálhatunk vele, amit egy nagy műszerrel lehetetlen. Másrészt a baktériumok mérettartománya (néhány μm) már erősen a „kis Reynolds-számok világába” esik.

Az elméleti háttér áttekintése után következzen egy gyakorlati bevezető. Egy mikrofluidikai rendszer technikai felépítése alapján véve megegyezik egy nagyméretű folyadékkezelő eszközével: csatornákból, csövekből, kamrákból, szelepekből, pumpákból stb. áll – csupán mindezt mikro- vagy nanométeres méretben (1. ábra).



1. ábra. Mikrofluidikai eszköz (a láthatóság miatt festékkel feltöltve)



2. ábra. Szilíciumlapkára maratott mikrocsatornák és -kamrák.

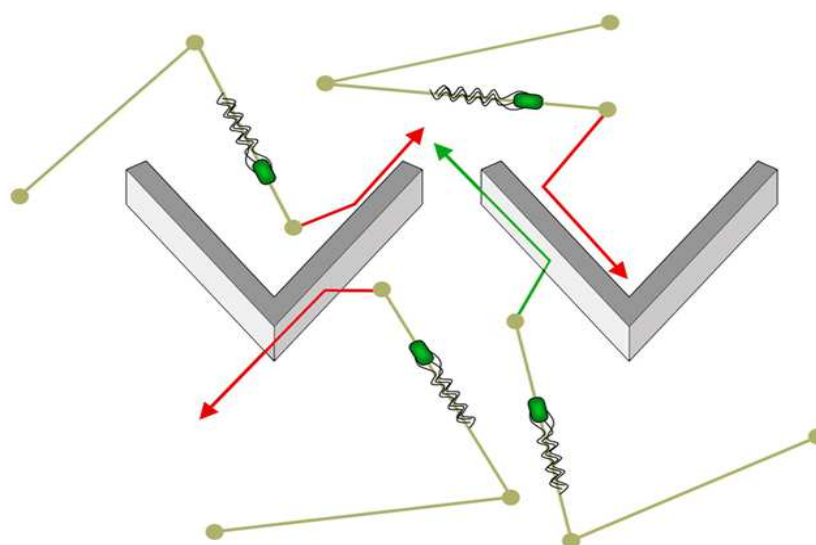
Az ilyen kisméretű eszközök kialakítására már kiforrott technológia áll rendelkezésre, köszönhetően a mikroelektronikai iparágaknak, elsősorban a mikrochipgyártásnak. Nem meglepő, hogy a mikrofluidikai eszközök jelentős része is szilíciumból készül, bár használnak kvarcot és speciális üveget is (2. ábra). A jövő viszont polimereké! Ezek olcsók, könnyen megmunkálhatóak, rugalmasak és a baktériumsejtek is jobban „kedvelik”, pl. hajlamosak kitapadni az ilyen felületekre. Bár már léteznek olcsó és könnyen hozzáférhető technológiák, az ilyen eszközök gyártása még mindig nagy szakértelmet és precizitást igényel, ezért általában költséges is.. Az egyik legfontosabb kritérium a pormentesség! A számunkra észrevehetően apró porszemcsék eltömhetik a mikroszatornákat, használhatatlanná téve az egész eszközt. Értelemszerűen minél kisebbek a csatornák, annál apróbb szemcsék is problémát okoznak, ezért fokozottan ügyelni kell a tisztaságra. Galajda Péter szegedi laboratóriumában csak a μm -es mérettartományig miniaturizálnak, így elegendők a kereskedelmi forgalomban beszerezhető, ipari szűrőberendezések is (pl. amilyenekkel a műtők légterét csírátlanítják).

Mire is lehet használni egy ilyen mikrofluidikai rendszert? Alapvetően két csoportba sorolhatók az alkalmazások. Egyrészt a kis méret miatt bármely, nagyban már létező eszköz sokkal gazdaságosabban, gyorsabban és párhuzamosan működtethető ilyen módon. Így a kísérletek „high throughput” módon végezhető, ami manapság lényegében megkerülhetetlen az élvonalbeli kutatásoknál. Folyhat PCR-reakció a szilikonlapkákön, használhatjuk áramlási citométerként a mikrofluidikai chipet, vagy folyamatosan növeszthetünk benne baktériumokat, akár egy kemosztát funkciójú fermentorban. És mindez elfér az asztal sarkán, emellett fogyaszt energiát és nyersanyagot. A legkomplexebb alkalmazás az ún. „lab-on-a-chip”, ahol teljes kémiai reakciósorozatot lehet vizsgálni gyorsan, minimális költségek mellett. Főleg a gyógyszermolekulák tesztelésénél terjed ez a fajta nagyon is költséghatékony megoldás.

Egy kutató számára azonban sokkal érdekesebb az a fentebb már említett tény, hogy nagyon kicsi rendszerekben mások a fizikai paraméterek, így élőlények (elsősorban baktériumok) olyan tulajdonságait is lehet vizsgálni, amit hétköznapi méretekben („lombikban”) soha sem. Az egyik ilyen, a műhelyfoglalkozáson megvitatott téma a baktériumok (összehangolt) mozgásának tanulmányozása volt.

Az önálló mozgásra képes baktériumok, mint amilyen az egyik legáltalánosabb labororganizmus, az *Escherichia coli* baktérium is, falgellumaik

segítségével képesek úszni. Az *E. coli* a teljes sejtfelszínt beborító, ún. peritrich ostorzattal rendelkezik. Az előrehaladáshoz a baktérium elkezd forgatni az ostorokat, amelyek így összezsavarodnak egyetlen köteggé és előrehajtják a baktériumot. Ha a baktérium egy vagy néhány flagellumát az ellenkező irányba kezdi forgatni, az ostor kiválik a kötegtől, a sejt pedig úszásirányt vált. Így jön létre a jellegzetesen szakaszos, tört vonalú ún. bolyongó mozgás. Ha a sejt akadálynak, pl. egy falnak ütközik, „szeret” a fal mentén úszni. Ezt kihasználva szerkeszthető egy olyan eszköz, melynek két kamráját szorosan álló, V-alakú akadályok választják el (3. ábra).

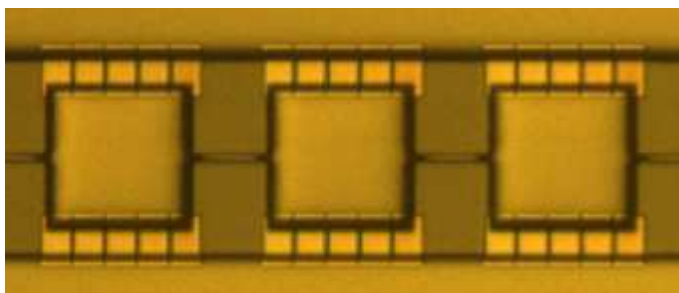


3.ábra. Baktériumok bolyongó mozgása akadály jelenlétében.

Ha a kamrákba úszni képes baktériumokat teszünk azonos mennyiségben, előbb-utóbb a sejtek kb. három negyede átkerül az egyik oldalra, mivel az akadályok egyik irányból mintegy csapdaként megakadályozzák az átjutást, míg a másik oldalról szinte terelik az úszó sejteket. Több ilyen akadálysor egymás után rendezésével több tízszeresére bekoncentrálható egy baktériumkultúra töménysége. Úszó kórokozók esetén ennek a megoldásnak gyakorlati haszna is lehet, pl. folyadékok csírátlanításában.

Ám a baktériumok nem csak valamilyen akadály mentén hajlamosak úszni, hanem ha két sejt véletlenül egymásnak ütközik, akkor onnantól nagy eséllyel együtt, egy irányba fognak úszni. Ezért ha mikroszkóp alatt szemlélünk egy tömény baktériumkultúrát, abban csomósodások, áramlások, örvények figyelhetők meg. Ezt a

jelenséget nevezük korrelált úszómozgásnak. Egy mikroszkopikus méretű, tipikus mikrofluidikai kamrában ez rendszerint körbe áramló mozgást jelent. Itt érdemes megjegyezni, hogy az állatvilágban ez a fajta összehangolt körmozgás nagyon elterjedt! Pl. ha vándorló sáskákat egy edénybe zárunk, azok nem össze-vissza fognak ugrálni, hanem nagyon gyorsan kialakul köztük egy összerendezett, ütemes, körbe haladó mozgás. A csapatokba verődő pörölycápák szintén lassan körözve, egy hatalmas örvényt alkotva pihennek. Tél végén, a tavasz közeledtével pedig mindenki látta már a varjakat hatalmas örvényekben kavarni az égen.

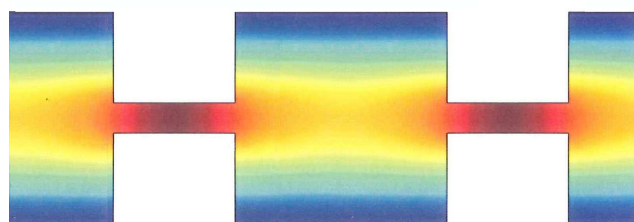


4. ábra. Egy mikrokemosztát felépítése

A baktériumok örvénylő mozgásának logikus magyarázata lehet, hogy egy mikrokemosztátban így jutnak a legtöbb tápanyaghoz. A 4. ábrán látható eszközön kivehetők a kamrák és az őket összekötő csatornák. Utóbbiakon a baktériumok átférnek ugyan, de csak lassan, egyszerre csak néhány sejt. A kamrák alsó és felső szélén látható keskeny csatornákon viszont nem fér át egy sejt, de ezeken át jut friss tápanyag a kamrákba. Így a falak mentén körbeáramló baktériumok mindig friss tápoldathoz juthatnak. Ez egyfajta altruista viselkedésként (önzetlenség) is felfogható, hiszen ha egyes sejtek inkább szorosan a falhoz tapadnának, ők bőségesen hozzájutnának a tápanyagokhoz, míg a kamra belső részében rekedt társaik éheznenek. Nyilván nem feltételezhetünk tudatosságot a baktériumok részéről, hanem az összes sejt állandó versengésének egyfajta egyensúlyi megoldása az örvénylő keveredés. Tehát a sejtek egy mikrokemosztátban sokkal inkább rá vannak kényszerítve a kooperációra, mint mondjuk egy lombikban. Mindezt játékelméleti modellekkel is sikerült alátámasztani: egy mikroszkopikus, fragmentált élőhelyen sokkal jellemzőbbek a harmonikusan együttműködő stratégiák, még a nagy, homogén közegekben a csalás dominál. Ennek egyik fő magyarázata lehet, hogy a sejtek itt olyan sűrűségben találhatók, amit átlagos laborméreteknél szinte lehetetlen megoldani. Gondoljunk bele: a fenti mikrokemosztát-kamrában a sejtek folyamatosan osztódnak (hiszen állandó a tápanyagellátás), de kijutni alig tudnak onnan. Így az

osztódásnak végül az szab határt, hogy elfogy a hely, nem pedig hogy elfogy a táplálék!

Egy ilyen „zsúfolt” közegben sokkal inkább szerephez jut a baktériumok közötti kommunikáció, az ún. quorum sensing. A baktériumok kémiai jelekkel kommunikálnak, attraktánsokat, repellenseket bocsátanak ki, mellyel mind más fajba tartozó egyedekre, mind saját fajtársaikra képesek hatni. Megfigyelték, hogy ha egy, a 4. ábrán látható rendszerben kezdik felnevelteni a baktériumkultúrát, a kamrák birtokbavétele során átmenetileg nagyon megnő a sejtkoncentráció az összekötő csatornáknban, míg attól távolodva folyamatosan csökken. Az 5. ábra egy szimuláció eredménye, ahol a mikrokemosztát áramlási tulajdonságai ismeretében igyekeztek megjósolni, hogy egy tetszőleges anyag milyen koncentrációeloszlást mutat a kamrákban.



5. ábra.

Koncentrációeloszlás-szimuláció: kéktől pirosig nő a töménység

Az ábrával szinte megegyező baktériumeloszlást lehet tapasztalni valós kísérleti körülmények között. Így az amúgy nehezen vagy alig tanulmányozható quorum sensing kutatásához új és igen hatékony eszközt szolgáltathat a mikrofluidika.

Műhelyfoglalkozásunkon még számos téma előkerült, melyek kutatására alkalmasak lehetnek a mikrofluidikai chippek, de fenti példák is bőségesen demonstrálják, hogy mekkora jelentőségű tudományterületről van szó. Összefoglalásként a bevezetőben már említett tényt hozhatjuk fel: egy mikrométeres rendszerben annyira mások a paraméterek, hogy számos olyan jelenséget is vizsgálhatunk, melyek egy makroszkopikus rendszerben láthatatlanok. A baktériumok mozgásának, kommunikációjának, populációdinamikájának tanulmányozásban pedig már most új fejezeteket nyitott a mikrofluidika. Galajda Péter frissen alapult laboratóriumának tevékenységére a továbbiakban is nagy figyelemmel tekint műhelyünk.

Draskovits Gábor

II. PhD hallgató