

BIOSENSORI ULTRA-SENSIBILI BASATI SU MICROPARTICELLE MAGNETICHE

Els Parton
Roel Wirix-Speetjens
Gustaaf Borghs
IMEC

I ricercatori dei laboratori IMEC hanno messo a punto un'architettura innovativa di biosensore per la rivelazione di DNA, proteine e cellule basato su un meccanismo che sfrutta la forza magnetica

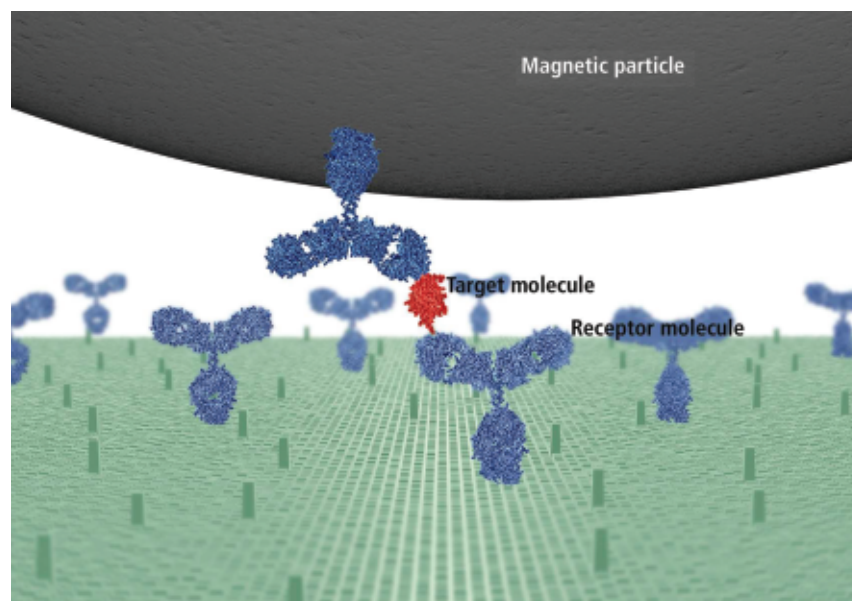


Fig. 1 - Principio di funzionamento di un biosensore a microsfere magnetiche

Il progetto del genoma umano ha aperto nuove prospettive per la medicina, in cui l'individuazione di sequenze specifiche del DNA e di proteine sarà determinante ai fini della diagnosi e della cura delle malattie. Oggigiorno, per rivelare specifiche molecole bersaglio si ricorre spesso a una tecnica basata sul contrassegno con sostanze fluorescenti. Con l'avvento dei biosensori è sorta un'alternativa relativamente economica, poco ingombrante, rapida e semplice all'uso, la quale rende possibile una vasta gamma di nuove applicazioni, come ad esempio la diagnostica point-of-care. I biosensori misurano differenze nella corrente, nella tensione, nella temperatura o nella frequenza per rilevare i legami delle molecole bersaglio con i recettori. Nel 1998 i ricercatori del Naval Research Laboratory degli Stati Uniti lanciarono l'idea di usare sensori magnetoresistivi e dispositivi a microparticelle sferiche magnetiche per applicazioni nella bio-

sensoristica. I biosensori contrassegnano le molecole da rilevare per mezzo di microparticelle sferiche magnetiche; pur richiedendo una fase aggiuntiva nella fabbricazione, questi dispositivi offrono importanti vantaggi rispetto alle soluzioni tradizionali.

I vantaggi dei biosensori magnetici

Come gran parte dei biosensori, i nuovi dispositivi magnetici fanno uso di molecole recettrici immobilizzate sulla superficie del chip per riconoscere e legarsi alla molecola bersaglio. Una volta che le molecole bersaglio nella soluzione di test (ad esempio il sangue) si sono legate ai recettori, vengono aggiunte delle microparticelle magnetiche. Uno speciale rivestimento con una funzione superficiale biochimica con-

sente alle particelle magnetiche di legarsi alla molecola bersaglio immobilizzata. Dopo la rimozione del materiale non ibridizzato, i contrassegni magnetici vengono rivelati per mezzo di sensori a effetto GMR (Giant Magneto-Resistive) integrati sulla superficie del chip. Questo approccio consente di ottenere una sensibilità particolarmente elevata e un limite di rivelazione molto basso.

Il secondo vantaggio dei biosensori magnetici è la possibilità di applicare una forza magnetica alle microparticelle sferiche per guidarle e aumentare in questo modo la sensibilità del biosensore. Un'altra possibilità di impiego del trasporto magnetico on-chip è nelle cosiddette applicazioni lab-on-chip, in cui le microsfele sono usate per il pre-trattamento dei campioni e per il loro trasporto verso le molecole-recettore legate al chip.

Il meccanismo di trasporto può essere sfruttato per potenziare ulteriormente le capacità del biosensore. Per esempio, una forza magnetica applicata perpendicolarmente alla superficie del chip può avvicinare le biomolecole alla superficie e aumentare così la velocità e l'efficienza dell'evento di riconoscimento. Una forza magnetica perpendicolare nella direzione opposta (che punta quindi dalla superficie del chip verso l'esterno), può essere usata per rimuovere biomolecole non specifiche che si sono legate, aumentando in questo modo la selettività del biosensore.

Il principio di funzionamento

Numerosi gruppi di ricerca hanno dato dimostrazione di metodi di trasporto on-chip basati su microparticelle sferiche magnetiche: si tratta più che altro di progetti piuttosto complessi basati su matrici bidimensionali di fili conduttivi disposti su più strati, o su tracce magnetiche che richiedono un campo magnetico esterno. I ricercatori IMEC hanno sviluppato un'architettura innovativa che si distingue da quelle proposte in precedenza per la sua semplicità d'uso e di fabbricazione. L'architettura consiste di due soli conduttori integrati su ele-

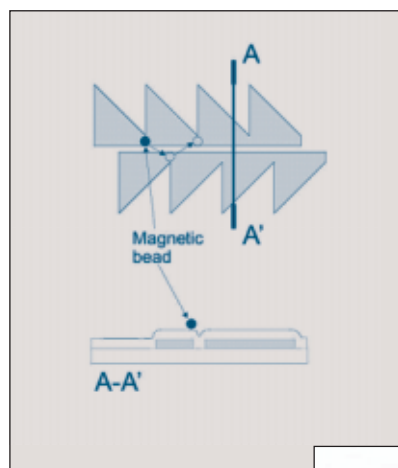
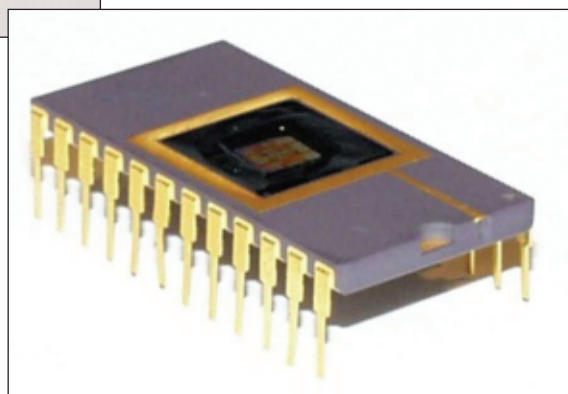


Fig. 2a - Il nuovo dispositivo consiste di due soli conduttori, basati su elementi strutturali con una forma che ricorda la pinna di uno squalo (sezione superiore). Le particelle magnetiche sferiche si muovono lungo una traccia definita dai massimi del campo magnetico. Il dispositivo è stato realizzato con una sola fase aggiuntiva di metallizzazione (sezione trasversale)

menti strutturali dalla forma simile a quella della pinna di uno squalo (Fig. 2). Non occorre un campo magnetico esterno per il funzionamento: le particelle sono guidate lungo un percorso predefinito di massimi locali nel campo magnetico all'interno dei conduttori.

Il dispositivo di trasporto è stato realizzato usando tecniche fotolitografiche su un processo standard di fabbricazione su semiconduttore. È stata necessaria solo una fase di metallizzazione aggiuntiva, costituita dalla sovrapposizione di uno strato di TiW da 10 nm, uno di oro da 150 nm e un ulteriore strato di TiW da 10 nm

Fig. 2b - Il dispositivo racchiuso nel package



deposti su un substrato in silicio con 300 nm di biossido di silicio termico. TiW e oro sono stati evaporati e modellati usando un processo di lift-off (una comune tecnica usata per la deposizione selettiva di metalli nobili). Come strato di passivazione è stato usato del poliim-

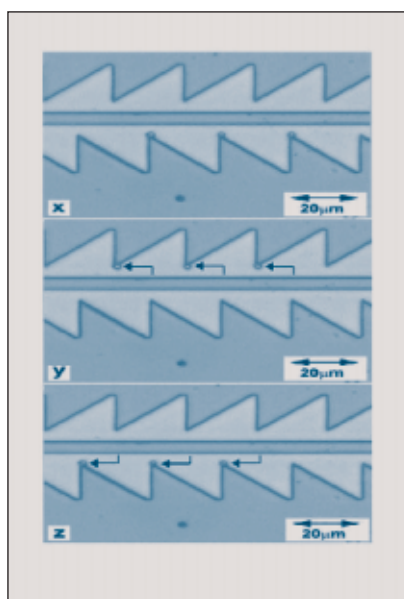
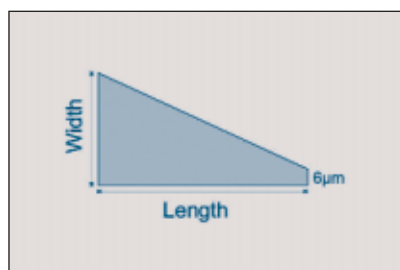


Fig. 3 - Immagini microscopiche del movimento a gradini delle particelle magnetiche lungo il dispositivo

Fig. 4 - Esempio di elemento conduttore su cui sono stati eseguiti i test



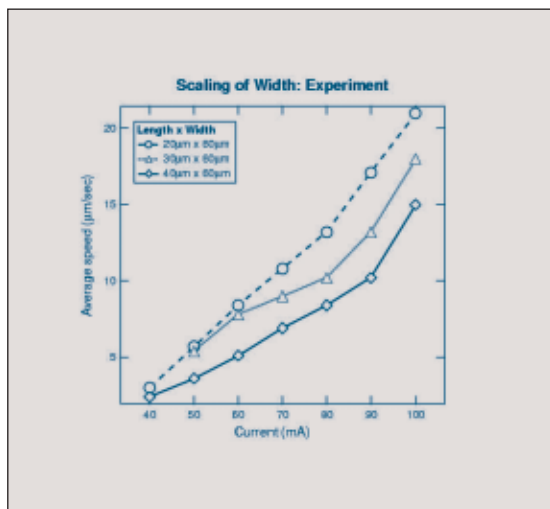


Fig. 5 - Relazione fra la larghezza dell'elemento strutturale di base del conduttore e la velocità media di una singola particella magnetica. Le dimensioni dell'elemento di base sono espresse in μm

mide, con aperture per i percorsi di contatto con i conduttori. Infine, il dispositivo è stato alloggiato in un package in modo da consentire la dispersione del fluido di particelle magnetiche sulla superficie del chip.

Il dispositivo consiste in due conduttori rastremati posizionati l'uno accanto all'altro. Quando si fa passare una corrente in continua attraverso il conduttore superiore, nella sezione trasversale più larga dell'elemento strutturale a pinna di squalo è presente una densità di corrente più bassa, e di conseguenza un campo magnetico più piccolo. Al contrario, nella sezione trasversale più stretta dell'elemento strutturale è presente una densità di corrente più alta e quindi un campo magnetico più grande.

In questo modo si è creato un gradiente del campo magnetico, il quale attrae le microsfere magnetiche verso l'estremità più a destra della struttura. In seguito si trasmette un impulso di corrente al conduttore inferiore, i cui elementi strutturali sono traslati leggermente verso destra rispetto al conduttore superiore. Ora si è formato un massimo di campo magnetico alla sommità più stretta e più a destra dell'elemento strutturale e le microsfere magnetiche passano dal conduttore superiore a quello inferiore. Sollecitando entrambi i conduttori in alternanza con impulsi di clock non sovrapposti a bassa frequenza, è stata ottenuta una sorta di nastro di trasporto monodimensionale a gradini. Gli esperimenti sono stati realizzati

usando particelle magnetiche uniformi con dimensioni pari a $2 \mu\text{m}$. Esse contengono magnetite (Fe_3O_4) per il 15 % immersa in una matrice polimerica, di modo da essere facilmente ricoperta con DNA e proteine legate con un legame covalente. Le particelle magnetiche sono state sospese in acqua ($0,0625 \text{ mg/ml}$), e $3 \mu\text{l}$ della soluzione sono stati applicati alla superficie del chip.

I ricercatori hanno effettuato test su elementi conduttori di diverse dimensioni, con larghezze di 20, 30 e $40 \mu\text{m}$ e lunghezze di 10, 40, 60 e $100 \mu\text{m}$ (la sezione trasversale più piccola era sempre di $6 \mu\text{m}$). Essi hanno applicato una corrente di 50 mA a una frequenza di $0,10 \text{ Hz}$ attraverso i due conduttori in alternanza.

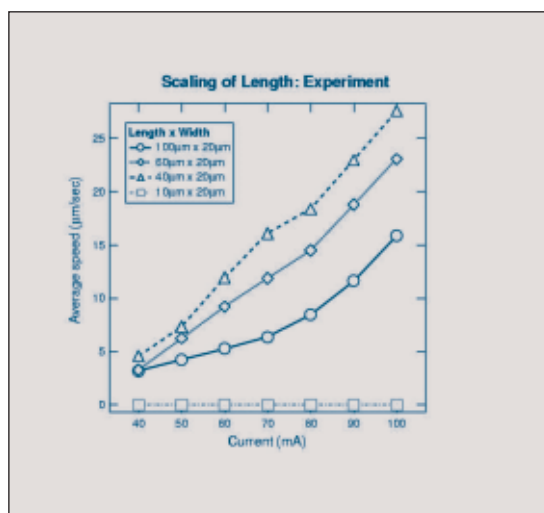
Come variare la velocità di trasporto on-chip

I ricercatori IMEC hanno inoltre trovato il modo per regolare la velocità media delle particelle magnetiche. La velocità media delle particelle può essere dedotta a partire dalla frequenza massima per mezzo della quale le correnti possono essere commutate senza ostacolare il trasporto. Gli studiosi hanno concluso che l'aumento della corrente nei conduttori fa crescere il gradiente del campo magnetico e di conseguenza anche la velocità delle microsfere.

La riduzione della lunghezza delle strutture a forma di pinna di squalo fa crescere il gradiente del campo magnetico, e quindi la velocità di trasporto; esiste tuttavia una lunghezza di soglia al di sotto della quale la velocità media non aumenta più, ma anzi si azzerava.

La riduzione della larghezza degli elementi strutturali a pinna di squalo provoca una diminuzione del gradiente del campo magnetico, ma aumenta la densità media di corrente. L'effetto di quest'ultimo fenomeno è dominante, di conseguenza il restringimento degli elementi strutturali provoca l'aumento della velocità media delle particelle magnetiche.

Fig. 6 - Relazione fra la lunghezza dell'elemento strutturale di base del conduttore e la velocità media di una singola particella magnetica (dimensioni in μm)



IMEC

www.imec.be