ESCLUSIVA

Diagnosi sicure con i lab-on-chip

Els Parton
Liesbeth Lagae
Gustaaf Borghs
IMEC

I lab-on-chip promettono di rilevare le malattie in modo semplice, rapido e sicuro grazie a sensori magnetici sensibili, affidabili e versatili

I sensori alla base dei lab-on-chip (LOC) sfruttano un particolare effetto magnetico che attira selettivamente solo le particelle magnetizzate nel modo opportuno.
I laboratori IMEC hanno sperimentato l'efficacia di questi dispositivi sviluppando una tecnica capace di eseguire diagnosi accurate nel riconoscimento della proteina S100 .
In pratica, i lab-on-chip sono dei chip che riescono a eseguire alcune funzioni tipiche da laboratorio su scala microscopica e per cui integrano sul silicio: micro serbatoi dove poter iniettare dei campioni di sangue o di altre sostanze; opportune etichette che possono associarsi alle molecole bersaglio come cellule cancerogene, proteine malate o virus; micro canali che guidano i fluidi sulla superficie dei chip fino a posizioni ben precise; sensori specifici capaci di misurare le etichette poste sulle molecole bersaglio; dispositivi ottici che visualizzano le misure dei sensori e le inviano a un computer.
Oltre a ciò, un lab-on-chip deve essere compatto, facile da usare e a basso costo, così da poter essere usato nel rilevamento di un'ampia gamma di malattie, agenti patogeni, inquinanti biologici o chimici. Per il mondo medicale, i LOC rappresentano un utile passo avanti non solo per i Paesi con minime risorse sanitarie, ma anche nei Paesi più sviluppati dove la medicina sta sempre più evolvendo verso le terapie basate su diagnosi personalizzate.

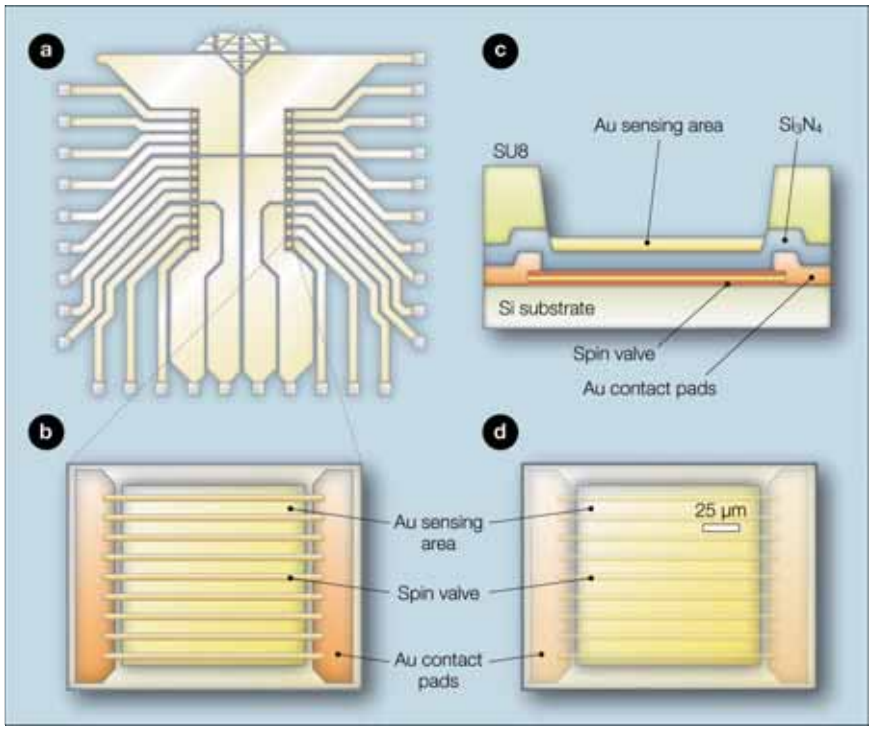


Fig. 1 – Diagramma schematico dell'area di rilevamento in un LOC. (A) l'area d'identificazione consiste in due righe di 12 sensori; (B, D) ciascun sensore è formato da 9 elementi sensibili elettricamente connessi in parallelo; (C) l'area sensibile è coperta dall'oro nel quale viene depositato un sandwich magnetoresistivo

Le difficoltà del tracciamento

Le particelle magnetizzate sono diventate molto utili per i LOC perché riescono a selezionare le molecole bersaglio molto meglio delle convenzionali

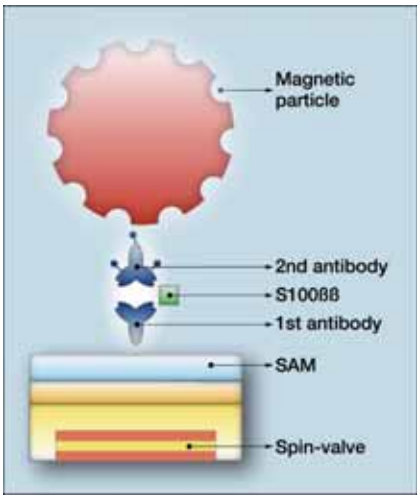


Fig. 2 – Schema del sandwich magnetoresistivo sensibile

etichette fluorescenti. L'uso dei traccianti magnetici, infatti, offre il vantaggio che la molecola bersaglio che vi si attacca può essere agevolmente trasportata sulla superficie del chip (ad esempio dall'unità di depurazione al luogo del riconoscimento) usando le sole forze magnetiche. Un secondo vantaggio è che il riconoscimento del tracciante magnetico può essere eseguito con sensori magnetici notoriamente molto sensibili e capaci di un eccezionale livello di acquisizione. Uno dei migliori sensori magnetici è il sensore di spin magnetoresistivo largamente usato nelle testine di lettura degli hard disk.

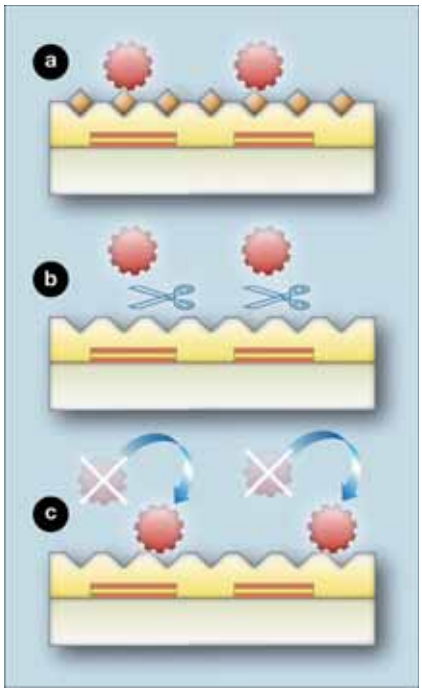
I ricercatori dell'IMEC hanno recentemente dimostrato un nuovo metodo per aumentare ulteriormente la sensibilità dell'effetto magnetoresistivo con un esempio che sfrutta come molecola bersaglio la proteina S100.

Invero, la diagnosi dell'infarto e del colpo apoplettico sta diventando sempre più importante giacché questi rappresentano tutt'oggi la terza causa di morte nel mondo occidentale dopo le malattie cardiovascolari e il cancro. Inoltre, quando si verificano è ancor più importante saper riconoscere fra la causa ischemica e quella emorragica per poter applicare la terapia più corretta. Ciò si può fare misurando la proteina S100 e per di più, è stato recentemente dimostrato che la diagnosi di questa proteina può anche servire per evitare di effettuare la tomografia computerizzata nelle lesioni alla testa di piccole dimensioni.

Un significativo ostacolo nella misura della proteina S100 è la sua bassa concentrazione nel sangue, tipicamente compresa fra 1 e 100 pg/ml. Oggi, le tecniche di analisi ELISA consentono di rilevare la proteina nella concentrazione fra 50 pg/ml e 3,5 ng/ml, ma sono piuttosto complicate e devono essere effettuate in laboratori specializzati. Pertanto, una tecnica LOC affidabile, facile da usare e conveniente sarebbe davvero auspicabile perché consentirebbe diagnosi veloci e al fianco del paziente.

La parte più importante di un LOC è sicuramente l'area dedicata all'identificazione delle sostanze. I ricercatori belgi hanno recentemente lavorato proprio per migliorare l'efficacia del riconoscimento della proteina S100 fino ad arrivare alla sensibilità di 27 pg/ml, un valore che consente di mantenere un intervallo di cattura dinamico ampio circa due decadi. Il modulo di identificazione è stato realizzato con sensori di spin magnetoresistivi.

Ciascun sensore è a sua volta composto da strati alternati di metalli magnetici e non magnetici con spessore fra 1 e 10 nm ciascuno, in modo tale che la sensibilità allo spin del sensore possa



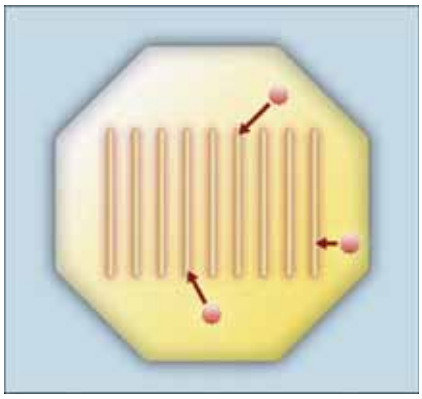


Fig. 3 – Schema della metodologia "link-cut-move": (A) le particelle magnetiche sono selezionate dal sensore (area blu nella figura di destra), (B) le particelle sono rivelate dalla superficie del sensore; (C) le particelle si muovono seguendo il campo magnetico (linee verdi nella figura di destra)

cambiare in presenza di un campo magnetico esterno e si possa osservare di conseguenza una variazione di tensione ai morsetti d'uscita.

Sandwich magnetoresistivo

Per una corretta diagnosi, è essenziale che tutte le molecole bersaglio (in questo caso la proteina S100) che arrivano all'area di rivelazione ne tocchino la superficie. Perciò la superficie d'oro è funzionalizzata in modo tale da riconoscere correttamente questa proteina. A tal scopo, i ricercatori hanno realizzato gli strati del sandwich magnetico in modo tale da offrire alcune caratteristiche funzionali ben precise: (1) sopra alla superficie sensibile dorata c'è un unico spessore di tioli alcani (composti organici simili a paraffine e alcoli) auto-assemblati, i quali (2) catturano gli anticorpi primari stabilendo un legame covalente e poi, (3) all'arrivo di un campione della proteina S100 questo si lega all'anticorpo e così anche alla superficie sensibile del sensore, e quindi, (4) non appena si aggiunge un secondo anticorpo, anch'esso si lega alla proteina S100 e (5) va a formare un tutt'uno che si collega alla sostanza magnetica nello stadio finale.

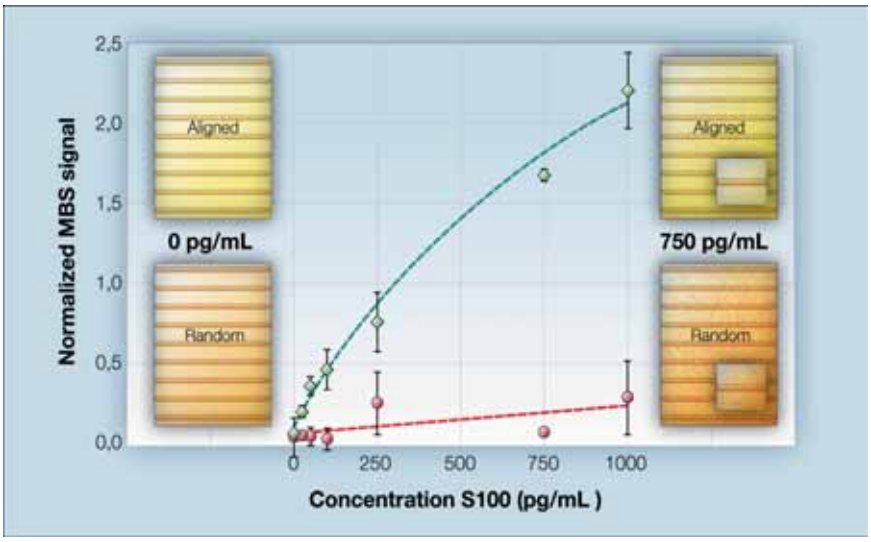


Fig. 4 – Caratteristica di rivelazione della proteina S100 prima (linea grigia) e dopo (linea nera) l'allineamento. A sinistra e a destra ci sono le immagini microscopiche delle particelle magnetiche catturate sulla superficie del sandwich

Tuttavia, la superficie d'oro funzionalizzata per legarsi alle proteine è generalmente più grande della superficie del sensore. Certamente, più grande è la superficie magnetica e più numerose saranno le proteine catturabili e, quindi, migliore sarà la sensibilità del LOC. Comunque, le proteine che escono dall'area sensibile non vengono rivelate e non contribuiscono all'informazione finale.

Per risolvere questo problema e migliorare la sensibilità del sensore è stata sviluppata la metodologia "link-cut-move" che consiste nei seguenti passi: (1) le proteine S100 sono associate univocamente alla superficie del chip, mentre le altre sostanze sono automaticamente respinte; (2) i complessi composti da particelle magnetiche e proteine sono chimicamente scollegati e subito rimossi dalla superficie; (3) il sensore di spin induce un campo magnetico con il suo massimo ai bordi della superficie e ciò consente di concentrare i complessi formati dalle particelle magnetiche e dalle proteine vicino ai bordi della superficie del sensore. Grazie a questa metodologia "link-cut-move" il sensore serve anche ad allineare gli elementi oltre che a rivelarli.

La curva di rivelazione della proteina S100 mostra chiaramente l'efficacia di quest'approccio. Se la distribuzione delle particelle è molto casuale allora il segnale emesso dal sensore approssima lo zero. Nello schema si deduce che la risposta del sensore è stata migliorata fino a permettere la rivelazione della proteina S100 da 1 ng/ml fino a 25 pg/ml.

Questa tecnologia di misura è, quindi, ottimale per il riconoscimento delle sostanze.

L'opportuno equilibrio fra gli elementi nel sandwich e la sensibilità del sensore è il valore aggiunto che consente di eseguire misure accurate della proteina S100. Invero, quest'approccio può essere molto utile nell'identificazione delle biomolecole e può essere considerato un significativo passo avanti nelle tecnologie medicali.

IMEC **www.imec.be**