

Чекман І.С.,
Торчакова Н.О.,
Свінцицький А.С.,
Журавльова Л.В.,
Секрет Г.А.,
Загородний М.І.

ЛАБОРАТОРІЯ-НА-ЧИПІ: СТАН НАУКОВИХ ДОСЛІДЖЕНЬ. ПЕРСПЕКТИВИ ЗАСТОСУВАННЯ У КЛІНІЧНІЙ ПРАКТИЦІ

¹ Національний медичний університет імені О.О. Богомольця (м.Київ)

² Харківський національний медичний університет, м. Харків

Ключові слова: лабораторія-на-чипі, наукові дослідження, клінічна практика, застосування

Лабораторія-на-чипі (ЛНЧ) – пристрій, який об'єднує одну або кілька функцій лабораторії на одному чипі (ядрі) розміром від міліметрів до кількох квадратних сантиметрів. Хімічний мікрочип – мініатюрний пристрій, в якому створена розгалужена мережа мікроканалів, з застосуванням фотолітографії, термопластичного штампування або напилення зі скла / кварцу, пластику, кремнію, з металевими елементами. Площа мікрочипа становить кілька квадратних сантиметрів, а лінійні розміри каналів за двома вимірами зазвичай знаходяться в діапазоні від сотень мікрон до сотень нанометрів. Один із засновників ЛНЧ D. Jed Harrison, професор хімії University of Alberta, Edmonton, вважає, що ЛНЧ – це каналізований мікрофлюїдальний пристрій, на якому чи в якому відбувається значна кількість хімічних процесів на шляху від вихідних речовин до продуктів реакції [1,4].

Синоніми ЛНЧ: мікро-аналітичні системи повного аналізу (micro-Total Analysis System, μ -TAS), мікрофлюїдні аналітичні системи (МФАС) і біочип (геночип). μ -TAS – перетворюють хімічну властивість (сигнал) в оптичний чи електрохімічний сигнал (1-й перехід), який в свою чергу перетворюється в електричний сигнал (2-й перехід) Виконуються подібні реакції в мікрометровій шкалі на чипі сантиметрових розмірів зі скла, кремнію чи пластику [31].

Біочип – мікролінійна ДНК, до складу якої входять сотні (тисячі) окремих сенсорних елементів (олігонуклеотидів), топологія яких відома. Біочип являє собою мультисенсор, який використовує контактне (статичне, за необхідності кінетичне) біовиявлення фрагментів ДНК-мішені на основі гібридизації і по виявленні фрагментів визначає мутаційний портрет носія геному (хімічну структуру ДНК) [34].

МФАС – це чип з властивостями високоефективного капілярного електрофорезу (ВКЕФ), який заснований на переміщенні розчину з пробою рідини в каналах аналізатора і послідовними перетвореннями. Швидкість і форма ділянки, що аналізується визначається взаємодією речовини з аналізатором. МФАС – система каналів і реакторів, яка доповнюється інтегрованими елементами лазерної фотоніки (напівпровідниковими лазерами з випромінюванням в червоній і інфрачервоній ділянках), інтегральною оптикою (фотодіодами), мікропроцесорною технікою. Особливістю цих систем є використання ламінарного потоку рідини у вузьких каналах з перемішуванням лише за допомогою дифузії, що означає: чим менше діаметр каналу, тим більша швидкість потоку рідини, яка лімітує ламінарний потік [12, 22, 33].

Дослідження в галузі МФАС можна згрупувати в п'ять напрямів: 1) системи діагностики захворювань; 2) системи моніторингу оточуючого середовища; 3) аналітичні системи генотипування ДНК; 4) системи скринінгу лікарських препаратів [1]. Учені світу працюють над удосконаленням нових методів отримання лабораторій-на-чипі, з метою підвищення надійності результатів аналізу і для широкого впровадження в медицину. На думку вчених з часом, лабораторії-на-чипі повністю замінять сучасні лабораторії. Потенційні переваги цих систем суттєві: для дослідження необхідні невелика кількість реагенту, використання малих обсягів матеріалу (завдяки надвисокій чутливості детектування), короткі терміни обробки, автоматизований аналіз (комп'ютерне проектування, фотолітографія). Це дозволяє отримати точну відтворюваність і послідовність, допомагає швидкому освоєнню персоналом і має низьку вартість, технології біовиявлення (ДНК-гібридизація,

біосенсори), безнасосна подача реагентів і введення проб шляхом електроосмосу – руху електроліту вздовж зарядженої поверхні в поздовжньому електричному полі, можливості удосконалення імуноаналізу шляхом капілярного імуноелектрофорезу. Перевагою ЛНЧ також є зменшення впливу небезпечних матеріалів або інфекційних агентів на хворих, дослідників з мінімальним ризиком зараження [6, 30].

Найбільш значний внесок у медицину полягає у здатності лабораторій проводити скринінг перебігу захворювань. Ці системи дозволяють лікарям мати доступ до широкого спектру діагностичних тестів, інформації, зазвичай можливої лише у великих онкологічних лікарнях або за допомогою тривалих і дорогих референс-лабораторій, а також забезпечать сільські регіони сучасними методами діагностики [4, 7].

Доступними на ринку сьогодні для медиків є прості мікрофлюїдальні діагностичні пристрої, які дозволяють проводити тести на вагітність, виявлення специфічного антигену раку простати (PSA), зловживання наркотиками, на бактеріальне забруднення їжі і води і тест на ВІЛ [24, 32]. У структурі мікрочипів можна виділити дві функціональні системи 1) постійний час, за який готують проби; 2) процеси електрофоретичного виявлення [2].

Мікрофлюїдні чипи являють собою пластини розміром 2/2 чи 3/3 см² виготовлені з кремнію, скла, кварцу чи пластику, камерами і каналами глибиною до 30 мкм. Матеріали для виготовлення корпусів чипів мають свої особливості. З цією метою рекомендовані наступні матеріали: поліметилметакрилат (PMMA), полікарбонат і різновиди циклічних матеріалів. PMMA має необхідні оптичні властивості флуоресценції і режим ультрафіолетового виявлення і невисоку температуру плавлення. Полікарбонат має високу температуру плавлення, але недостатні оптичні властивості люмінесцентного виявлення. Циклічні структури вважають найкращим матеріалом, тому що вони поєднують оптичні і механічні властивості, але ці сполуки значно дорожчі, ніж інші полімери [5, 28]. На відміну від кремнію і скла полімери – дешеві матеріали, канали можна створювати формуванням чи тисненням, герметизацію – термічно або за допомогою клею. Недоліком використання полімерів є досить значна часта несумісності з органічними розчинниками і низькомолекулярними органічними компонентами розчинів, а низька вартість чипів виготовлених з

дешевих пластмас викликає одноразового використання [5].

Особливості МФАС [1,2]:

1. Введення проби в ЛНЧ є одним з найважливіших факторів, який пов'язаний з мінімізацією об'єму, що досягається шляхом стекінгу (електрокінетичного стиснення зони при введенні), крапкового введення, при якому зразок рухається перпендикулярно розподільчому каналу і в момент введення (коли вмикається висока напруга в сепараційному каналі) туди направляється вузька зона проби.

2. Процес визначення. Серед методів виявлення речовин у зразку використовують електрохімічне зондування, лазеріндуковану флуоресценцію або біоломінесценцію, поверхневий плазменний резонанс, хемолюмінесценцію, хроматографічне і екстракційне розділення потоку речовин, в тому числі за допомогою протон – інжекційного аналізу.

Лазеріндукована флуоресценція є перспективним напрямом і для проведення вимагає наступних умов: освітлення лазером всієї детектуємої проби, використання потужного лазера ≥ 100 мВт, статистичної обробки отриманих сигналів. Цей метод має високу чутливість, що забезпечує сумісність об'єму пристрою з розмірами чипових мікроканалів. Фотометричні методи є менш чутливими, різні модифікації вимагають збільшення оптичного шляху каналу, за рахунок більшого об'єму проби, що призведе до проблем із розділенням. Вирішує цю проблему термооптична спектроскопія, яка аналізує нефлуоресцюючі з'єднання. Є перспективною комбінація чипів з мас-спектрометрією (МС), яка дозволяє виявляти самі різноманітні з'єднання з високою чутливістю [1,26,31].

Слід відмітити переваги електрофоретичного (ЕФ) розділення речовин на чипі. Ефективність ЕФ розділення покращується за рахунок використання більш сильного електричного поля (300-400 Вт / см²). При збільшенні напруги поля температурний режим практично не порушується, тому що підвищена питома площа мікроканала на чипі (співвідношення площі поверхні до об'єму) в порівнянні зі звичайним капіляром, а також відсутність теплоізолюючого поліімідного шару на чипі забезпечують теплообмін. Невеликий лінійний розмір проби дозволяє досягти базового визначення піків на коротких відстанях (~ 5-8 см), що у свою чергу зменшує необхідний рівень напруги каналу (досить досягти 2-3 кВ). Час розділення проби також

значно скорочується: аналіз може бути виконаний за 3-5 хвилин [2,3,29].

Альтернативними є гідродинамічні системи. При застосуванні органічних розчинників і створенні багатофазних потоків у мікроканалах застосовуються мікрошприцеві насоси, що забезпечують витрату реагентів в діапазоні від 0.1 до 10 мкл/хв. Подібні системи універсальні, але вони більше за мікрочипи. Тому ведеться пошук та розробка нових технологій для виготовлення мікронасосів безпосередньо в чипі [19,25].

Вимоги до каналів мікрочипу: зменшення глибини дозволяє збільшити швидкість аналізу при збереженні ефективності, але зменшує чутливість виявлення. При збільшенні напруги електричного поля, покращується розділення суміші і прискорюється аналіз [3].

Особливостями ЛНЧ порівняно зі звичайними системами лінійних розмірів до декількох десятків мм є: скорочення часу дифузії речовини в пробі за рахунок зменшення відстані. Спостерігається значне співвідношення площі поверхні мікроканалу до об'єму рідини, що прискорює поверхневі реакції на твердих носіях, ефективний тепло відвід, поверхневі електрокінетичні ефекти, висока ефективність електрофоретичного поділу за короткий час аналізу. За рахунок створення над коротких (десятки мікрон) ділянок проби, визначаються високі швидкості нагріву/охладження та зменшення теплової маси зразка [8,15].

Досліджуваний зразок поступає через пористу мембрану нітроцелюлози або капіляр, які входять до складу бічного каналу, в якому є зони захоплення антитіл, які специфічно зв'язують молекули. Сироватка, слина, сеча потрапляють через пористу мембрану під дією осмотичних сил. Молекули, що містяться в зразку захоплюються, після чого з'єднуються з антитілами. Антитіла, сполучені з мітками: флуоресцеїну/люмінофору, частинками золота або вуглецю чи ферментів. Досліджувана суміш подається через мембрани з підігрівом, які зберігають фіксовану температуру, що забезпечує сталий температурний режим [23, 31].

Комплексна лабораторія-на-чипі для діагностики раку потребує інтеграції компонентів для сортування клітин (щоб руйнувати зразок неракових клітин та/або збагачувати зразок з раковими клітинами-мішенями), лизису досліджуваних клітин для виділення нуклеїнових кислот, мультіплексного визна-

чення за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). ПЛР – метод лабораторної діагностики направлений на виявлення патогенних антигенів, антитіл, нуклеїнових кислот, токсинів, наркотиків, маркерів раку, моніторингу повітря і води [6]. Розроблений чип розміром 6/8 см, який здатний витягувати і концентрувати нуклеїнові кислоти з кількох мл водних зразків і посилювати хімічні, ферментативні реакції, проводити облік, перемішування і гібридизацію нуклеїнових кислот, при цьому відбувається лізис клітин і виділення ДНК [15,25].

Створено мікрофлюїдальний картридж, необхідний для встановлення діагнозу лейкозу людини [20]. Мікрофлюїдальний пристрій складається з мікрофлюїдальних насосів / змішувачів, каналів, камер з реагентами, а також ДНК-мікрочипів з кремнію [9,21]. Розроблено мікро-ПЛР чип, який призначений для кількісного виявлення вірусів пухлин, скринінгового методу діагностики пухлин голови і шиї [29]. Слина виконує роль свого роду “дзеркала тіла” і містить біомаркери і компоненти сироватки крові, які надають важливу інформацію про системні захворювання і хвороби ротової порожнини. [16,18]. У слині і інших залозах є геномні і протеомні маркери [33]. Для пацієнтів неінвазивні методи з забором проб слини є більш природними, тому зменшують занепокоєння і дискомфорт, а також антипатію до тестування. Незважаючи на певні переваги слини у якості досліджуваного матеріалу, є також окремі проблеми, що пов'язані з її використанням. Матриці проб слини є більш різноманітними і неоднорідними в порівнянні з сироваткою крові, а також містять високі рівні муцину і протеолітичних ферментів. Це утруднює їх дослідження у звичайній лабораторії [6,13]. Крім того, відповідні біомаркери хвороби можуть бути виражені у концентраціях, на кілька порядків нижче, ніж у сироватці крові. Таким чином, через низький рівень слинних біомаркерів, іноді важко їх розрізнити. І лише “нано-біо-чип”, який входить до складу лабораторії на чипі вирішує всі ці проблеми [17,25].

Пристрій на основі недорогих, одноразових мікрофлюїдальних касет можна отримати при використанні попередньо завантажених, ліофілізованих реагентів і використовувати в поєднанні з ручним інструментом, що буде сприяти ранній діагностиці пухлин внутрішніх органів і ротової порожнини при відвідуванні стоматолога або звичайних медичних оглядах. У пацієнта береться 1 мл слини за

допомогою губчатого наконечника одноразового колектора (одноразового капіляра для забору проби). Зразок слини ін'єкційно вводиться в систему ЛНЧ, при цьому нуклеїнові кислоти, виділяються з суміші шляхом екстракції з використанням пористої мембрани, тому процес лізису вважають двофазним. Очищення нуклеїнових кислот при вимиванні з мембрани кремнезему посилюється використанням ПЛР. Амплікони ПЛР помічені часточками люмінофора і зв'язані з антигенами. Антитіла захоплюються і виявляються за допомогою лазерного сканера [16].

Завдяки ідентифікації ракових клітин пухлини діагностують на початковій стадії. При цьому ізольовані ракові клітини будуть руйнувати тепловим або осмотичним шоком з виділенням нуклеїнових кислот, які очищують використанням твердофазної екстракції [8,18]. Магнітне поле буде використовуватися для переміщення магнітних частинок в мікрофлюїдному чипі з метою виділення специфічних мРНК і встановлення процесу транскрипції. Виділення матричної РНК може проводитись ферментативними і не ферментативними методами [26,27].

Клітинну масу інкубують з магнітними частинками та разом з анти-CD45 антитілом, яке специфічно зв'язується лімфоцитами. Зовнішнє магнітне поле ізолює комплекси лімфоцити – магнітні частинки з розчину. Зразок, збіднений лімфоцитами, змішують і інкубують з магнітними частинками, які зв'язані з антитілами до мембранних глюкопротеїдів характерними для ракових клітин і з квантовими мітками, що сполучені з тими ж антитілами що і магнітні частинки, які специфічні до мембранних білків ракових клітин. Комплекси ракових клітин – магнітних частинок – квантових міток ізолюють з розчину за допомогою зовнішнього магнітного поля. Цей комплекс промивають для видалення незв'язаних квантових міток. Визначають число ракових клітин, отриманих за допомогою спеціальної камери. Імобілізовані клітини раку лізують, змішують з магнітними частинками, які специфічно зв'язані олігонуклеотидами. Магнітні частинки з захопленими мРНК ізолюють зовнішнім магнітним полем, промивають і гібридизують з наночастинками олігонуклеотидів, які комплементарні до специфічних ракових клітин мРНК і штрих-коду ДНК. Магнітні частинки іммобілізують, а розчин промивають. Визначають кількість ракових клітин і порівнюють

зі стандартним зразком, щоб визначити тип раку і стадію хвороби [9,11,20,27].

Збільшення продуктів розпаду клітин виявляється флуоресценцією, фосфоресценцією, хемолюмінісценцією, біоломінесценцією або електрохімічними сенсорами. Наприклад, посилення транскрипції гена може бути виявлено і кількісно оптичними біосенсорами [14,21,33]. Ці оптоволоконні сенсори служать в якості недорогої альтернативи чипу. Транскрипційний профіль ізольованого зразка клітин пухлини співставляється з сигнатурою профілів клітин збережених в базі даних, використовуючи створені статистичні правила для визначення типу пухлини і відмінностей між цими клітинами і нормальним зразком. Цей метод забезпечує в реальному часі діагностичні відомості про транскрипцію генів від 10 до 60 хвилин. Важливо також відзначити, що мікрофлюїдальні пристрої, які описані в даній статті можуть бути адаптовані і призначені для діагностики і аналізу інших форм раку і моніторингу лікування [8,10,15].

ЛНЧ є дуже перспективною для дослідження клітин пухлин, тому що вміщує дешеві одноразові касети. Різні типи касет містять різноманітні тести, які будуть визначатися за допомогою штрих-коду на касеті. Штрих-код регулює функцію аналізатора для проведення певної послідовності операцій. До програм для виявлення злоякісних пухлин лабораторія-на-чипі допоможе лікарю визначити чіткі межі пухлини, конкретну зону для видалення та надає допомогу при вирішенні питання про первинну пухлину, поширення на лімфатичні вузли [1,5]. Лабораторія-на-чипі може застосовуватися і для виявлення генних мутацій, гетерозиготності або гомозиготності, хромосомних транслокацій. Відіграє також важливу роль у визначенні розвитку та прогресування розвитку пухлин голови і ший. Дослідження, розробка та оптимізація мікрофлюїдальних діагностичних технологій триває. Мікрофлюїдика значно вплине на технології та практику скринінгу й діагностику раку і здоров'я в цілому. Насправді, кілька простих мікрофлюїдальних діагностичних пристроїв доступні на ринку сьогодення [3,24].

Заключення. Таким чином послідовність підготовки проб, відокремлення складових частин, їх виявлення, обробку інформації, при якій кожен етап реалізується в спеціальному мікро(макро)-модулі чи інтегрується в єдиний каналізований мікрочип – пристрій, в якому проба і реагенти рухаються і змішуються для підготовки до аналізу і проводять-

ся безпосередній аналіз шляхом капілярного електрофорезу називають ЛНЧ. Мінітюаризація і інтеграція з використанням технологій мікроелектроніки, високоефективних полімерів, нових функціональних елементів проб для підготовки матеріалів і детектування є основою для подальшого розвитку ЛНЧ [33]. Розробка практичних лабораторій-на-чипі повинна здійснюватись у тісній співпраці і паралельно з біомедичними і клінічними до-

слідженнями, що забезпечить прогрес у мікрофлюїдальних технологіях та діагностиці і терапії раку та інших захворювань. Поява масового виробництва недорогих, зручних у використанні мікрофлюїдальних діагностичних систем раку прискорить діагностику цієї хвороби і сприятиме масовим клінічним випробуванням з великою кількістю хворих, що в кінцевому результаті приведе до зниження захворюваності і смертності пацієнтів.

ЛАБОРАТОРИЯ-НА-ЧИПЕ: СОСТОЯНИЕ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ, ПЕРСПЕКТИВЕ ПРИМЕНЕНИЕ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Чекман И.С., Горчакова Н.О., Свинцицкий А.С., Журавльова Л.В., Секрет А.А., Загородный М.И.

Резюме. Лаборатория-на-чипе это технология будущего. Ее преимуществами являются простота использования, доступность, низкая стоимость, быстрое получение результатов. Однако до сих пор ученые всего мира работают над улучшением и разработкой новых версий лаборатории на чипе, с целью повышения надежности результатов анализа для широкого распространения. Со временем лаборатории-на-чипе полностью заменят современные лаборатории.

Ключевые слова: лаборатория-на-чипе, научные исследования, клиническая практика, применение

LAB-ON-A-CHIP: STATUS OF RESEARCH, FUTURE USE OF CLINICAL PRACTICAL

Чекман И.С., Горчакова Н.О., Свинцицкий А.С., Журавльова Л.В., Секрет А.А., Загородный М.И.

Abstract. Lab-on-a-chip is the technology of the future. Its advantages are ease of use, accessibility, low cost, fastest results. However, until now scientists around the world are working on improving and developing new versions of the laboratory on a chip, to increase the reliability of the results of its analysis and for wider dissemination. Over time, lab-on-a-chip will be a full replacement of modern laboratories.

Key words: lab-on-a-chip, scientific investigation, clinical practical, application

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Беленький В.Г., Зими́на Т.М. // Научное приборостроение. – 1999. – № 9. – С. 77–92.
2. Беленький В.Г., Комяк Н.И. Микрофлюидные аналитические системы // Научное приборостроение. – 2000. – Т. 10, № 2. – С. 57–64.
3. Беленький В.Г., Комяк Н.И. Микрофлюидные аналитические системы // Научное приборостроение. – 2000. – Т. 10, № 3. – С. 3–16.
4. Ahn C. H., Choi J., Beaucage G., Nevin J., Lee J. -B., Puntambekar A., and Lee J. Y. Disposable Smart Lab on a Chip for Point-of-Care Clinical Diagnostics // Proc IEEE. – 2004. – Vol. 92. – P. 154–173.
5. Becker H., Gartner C. Polymermicrofabrication technologies for microfluidic systems // Anal. Bioanal. Chem. – 2008. – Vol. 1. – P. 89–111.
6. Becker H. Microfluidics: a technology coming of age // Med. Device Technol. – 2008. – Vol. 19. – P. 21–24.
7. Beebe D.J., Mensing G.A., Walker G.M. Physics and applications of microfluidics in biology // Ann. Rev. Biomed. Eng. – 2002. – Vol. 4. – P. 261–286.
8. Blow I.N.. Microfluidics: in search of a killer application // Nat. Methods. – 2007. – Vol. 4. – P. 665–670.
9. Chang Y.H., Lee G.B., Huang F.C., Chen Y.Y., Lin J.L. Integrated polymerase chain reaction chips utilizing digital microfluidics // Biomed. Microdevices. – 2006. – Vol. 8. – P. 215–225.
10. Chen L., Manz A., Day P.J.R. Micro total analysis systems. Latest advancements and trends // Anal. Chem. – 2006. – Vol. 12. – P. 3887–3907.

11. Epstein J.R., Leung A.P., Lee K.H., Walt D.R. High density, microsphere-based fiber optic DNA microarray // *Biosens Bioelectron.* – 2003. – Vol. 18. – P. 541–546.
12. Erickson D., Li D. Integrated microfluidic devices // *Anal. Chim. Acta.* – 2004. – Vol. 507. – P. 11–26.
13. Escarpa A. Microchips for CE: Breakthroughs in real-world food analysis // *Electrophoresis.* – 2008. – Vol. 29. – P. 4852–4861.
14. Gonzalez A., Grimes R. Interaction of quantitative PCR components with polymeric surfaces // *Biomed. Microdevices.* – 2007. – Vol. 9. – P. 261–266.
15. Haeberle S., Zengerle R. Microfluidic platforms for lab-on-a-chip applications // *Lab. Chip.* – 2007. – Vol. 7. – P. 100–110.
16. Jesse V. J. Nano-bio-chips for high performance multiplexed protein detection: Determinations of cancer biomarkers in serum and saliva using quantum dot bioconjugate labels // *Biosensors and Bioelectronics.* – 2009. – Vol. 24. – P. 162–168.
17. Khanafer K., Duprey A. Effects of strain rate, mixing ratio, and stress-strain definition on the mechanical behavior of the polydimethylsiloxane (PDMS) material as related to its biological applications // *Biomed. Microdevices.* – 2009. – Vol. 11. – P. 503–508.
18. Lee C-Y, Lee G-B. Integrated microfluidics systems for cell lysis, mixing/pumping and DNA amplification // *J. Micromech. Microeng.* – 2005. – Vol. 15. – P. 1215–1223.
19. Liu R.H., Yang J. Self-contained, fully integrated, biochip for sample preparation, pCR amplification, and DNA microarray // *Anal. Chem.* – 2004. – Vol. 76. – P. 1824–1831.
20. Marcus J.S., Anderson W.F., Quake S.R. Microfluidic single-cell mRNA isolation and analysis // *Anal. Chem.* – 2006. – Vol. 78. – P. 3084–3089.
21. McDonald G.R., Hudson A.L. Bioactive contaminants leach from disposable laboratory plasticware // *Science.* – 2008. – Vol. 65. – P. 917–935.
22. McGlennen R.C. Miniaturization technologies for molecular diagnostics // *Clin. Chem.* – 2001. – Vol. 47. – P. 393–402.
23. Roper M.G., Easley C.J., Landers J.P. Advances in polymerase chain reaction on microfluidic chips // *Anal. Chem.* – 2005. – Vol. 77. – P. 3887–3893.
24. Sippy N., Luxton R., Lewis R.J., Cowell D.C. Rapid electrochemical detection and identification of catalase positive micro-organisms // *Biosens. Bioelectron.* – 2000. – Vol. 18. – P. 741–749.
25. Srinivasan V., Pamula K. An integrated digital microfluidic lab-on-a-chip for clinical diagnosis on human physiological fluids // *Lab. Chip.* – 2004. – Vol. 4. – P. 310–315.
26. Stoeva S.I., Lee J.S., Smith J.E., Rosen S.T., Mirkin C.A. Multiplexed detection of protein cancer markers with biobarcode nanoparticle probes // *J. Am. Chem. Soc.* – 2006. – Vol. 128. – P. 8378–8379.
27. Stoeva S.I., Lee J.S., Thaxton C.S., Mirkin C.A. Multiplexed DNA detection with biobarcode nanoparticle probes // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* – 2006. – Vol. 45. – P. 3303–3306.
28. Stone H.A., Stroock A.D., Ajdari A. Engineering flows in small devices: microfluidics toward lab-on-a-chip // *Ann. Rev. Fluid. Mech.* – 2004. – Vol. 36. – P. 381–411.
29. Sui G., Wang J. Solution-phase surface modification in intact poly(dimethylsiloxane) microfluidic channels // *Anal. Chem.* – 2006. – Vol. 78. – P. 5543–5551.
30. Tsai N.C., Sue C.Y. SU-8 based continuous-flow RT-PCR bio-chips under high-precision temperature control // *Biosens Bioelectron.* – 2006. – Vol. 22. – P. 313–317.
31. Zhang C.6 Xu Jю, Ma Wю, Zheng W. PCR microfluidic devices for DNA amplification // *Biotechnol Adv.* – 2006ю – Vol. 24. – P. 243–284.
32. Verpoorte E. Microfluidic chips for clinical and forensic analysis // *Electrophoresis.* – 2002. – Vol. 23. – P. 677–712.
33. Verpoorte E., Rooij N.F. Microfluidics meets MEMS // *Proc. IEEE.* – 2003. – Vol. 91. – P. 930–953.
34. Jacobson S. C., Ramsey J. M. Investigation of different PCR amplification // *Electrophoresis.* – 1995. – Vol. 16. – P. 1–66.