

**Çip-Üstü-Laboratuvar Sistemleri İçin Tasarlanan Parylene
Tabanlı Elektrostatik Mikro Kapakların Karakterizasyonu ve
İlaç Araştırma Yongalarında Uygulaması**

Proje No: 111E110

Doç.Dr. Haluk Külâh

MAYIS 2012

ANKARA

ÖNSÖZ

TÜBİTAK EEEAG 111E110 kodlu araştırma projesi kapsamında parylene tabanlı mikro akış sistemlerinde kullanılmak üzere daha önceden tasarlanmış olan elektrostatik tahrikli bir mikro kapağın akış karakterizasyonu yapılmış ve bu mikro kapağın entegre edildiği bir çip-üstü ilaç araştırma sistemi geliştirilmiştir. Prototip çip-üstü ilaç araştırma sistemleri Orta Doğu Teknik Üniversitesi MEMS Araştırma ve Uygulama Merkezi bünyesindeki tesis imkânları kullanılarak üretilmiştir. Sistemde yer alan mikro kapakların karakterizasyonu, proje kapsamında temin edilen akış kontrol cihazı kullanılarak yapılmıştır. Daha sonra, ilaç araştırma yongasının ilk testleri gerçekleştirilmiş ve sistemin uygulanabilirliği kanıtlanmıştır. Proje kapsamında yapılan çalışmalar sonucunda bir uluslararası makale ve bir uluslararası konferans bildirisi başvurusu yapılmıştır. Bu çalışmalar henüz değerlendirme sürecindedir.

Önerilen projenin gerçekleştirilmesindeki katkılarından ötürü Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na teşekkürlerimizi sunarız.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	2
İÇİNDEKİLER.....	3
ŞEKİL LİSTESİ.....	4
ÖZET.....	6
ABSTRACT.....	7
GİRİŞ.....	8
GENEL BİLGİLER.....	11
1. LİTERATÜR ÖZETİ.....	11
2. ÇALIŞMANIN KAPSAMI.....	13
GEREÇ VE YÖNTEM.....	17
1. MİKROKAPAKLARIN AKIŞ KARAKTERİZASYONU.....	17
2. MİKRO KAPAKLAR KULLANILARAK DAMLACIK BOYUTU KONTROLÜ	22
3. MİKRO KAPAKLARIN ANAHTARLAMA AMACIYLA KULLANIMININ GÖSTERİLMESİ.....	25
4. MİKRO KAPAKLARIN İLAÇ ARAŞTIRMA YONGALARINDA KULLANILABİLİRLİĞİNİN GÖSTERİLMESİ.....	27
SONUÇ VE BULGULAR.....	30
REFERANSLAR.....	33
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU.....	37

ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil 1. Pnömatik mikro kapak örneği (Unger 2000). Mavi ile gösterilen kanallara basınçlı hava verildiğinde, mavi kanal ile yeşil kanal arasındaki boşlukta yer alan diyafram şişerek yeşil kanalı tıkamakta, böylelikle akış kontrol edilebilmektedir. 11
- Şekil 2: Nispeten karmaşık yapılarda, pnömatik mikro kapakların çalıştırılabilmesi için gereken manifold kanal bağlantıları (Wang et al. 2009). 12
- Şekil 3: Proje kapsamında ele alınan mikro kapağın tasarım detayları ve çalışma prensibi. 14
- Şekil 4: Proje kapsamında ele alınan ilaç araştırma sisteminin kavramsal yapısı. İlaçlar arasındaki geçiş elektrostatik mikro kapaklar kullanılarak yapılmaktadır. 16
- Şekil 5: Üretimi tamamlanmış, test edilmeye hazır mikro kapak prototipi ve mikro kapağın SEM görüntüsü. Prototip üzerine monte edilmiş port, makro-mikro akış ara yüzünü oluşturmaktadır. 17
- Şekil 6: Pull-in test düzeneği. 18
- Şekil 7: Mikro kapağın kapalı ($V_a = 0$ V) ve açık ($V_a = 47$ V) durumdaki mikroskop görüntüleri. Siyah-beyaz görüntüde diyaframın çalışma boşluğunun tabanına temas ettiği bölge net bir şekilde görülmektedir. 19
- Şekil 8: Akış karakterizasyon testlerinde kullanılan düzeneğin şematik görünümü ve kurulu test düzeneği. 20
- Şekil 9: 20 kPa giriş basıncı için optimize edilmiş mikro kapağın sızdırma oranının giriş basıncında göre değişimi. 20
- Şekil 10: Duvar yarıçapının (R_w) sızdırma miktarı üzerindeki etkisi. 21
- Şekil 11: Çalışma potansiyelinin debi üzerindeki etkisi. 21
- Şekil 12: Damlacık boyu kontrolü testlerinde kullanılan prototip. 23
- Şekil 13: Damlacık boyu kontrolü test düzeneği. 23

Şekil 14: Farklı çalışma potansiyellerinde diyaframın kapanma miktarı ve oluşan damlacık boyu	24
Şekil 15: Damlacık hacminin çalışma potansiyeline bağlı değişimi	24
Şekil 16: Projenin 3. ve 4. aşamalarında test edilen damlacık tabanlı ilaç araştırma sistemi prototipi.....	26
Şekil 17: Mikro kapakların anahtarlama özelliğinin gösterilmesi amacıyla kullanılan test düzeneği	26
Şekil 18: Mikro kapakların açık ve kapalı durumları ve oluşan farklı renkteki damlacıklar. Mikroskop altında elde edilen görüntüler netlik için tekrar renklendirilmiştir.....	27
Şekil 19: Serpantin kanal içindeki damlacıklar ve damlacık içerisine hapsedilmiş mikro tanecik.	29
Şekil 20: Damlacık içine hapsedilmiş maya hücreleri. Hücre agregasyonu nedeniyle, damlacık içine birden fazla maya hücresi girmiştir.	29

ÖZET

Bu çalışmada çip-üstü-laboratuvarlarda mikro akışı kontrol etmek üzere daha önceden tasarlanmış olan normalde kapalı elektrostatik bir mikro kapağın karakterizasyonu gerçekleştirilmiş ve bu mikro kapak teknolojisinin ilaç araştırma sistemlerinde kullanılabilirliği gösterilmiştir. İlk olarak, biyo-uyumlu bir malzeme olan parylene kullanılarak, mikro yüzey işleme yöntemleriyle üretilmiş olan mikro kapaklar test edilmiştir. Testler sonucunda mikro kapakların, çalışma sıvısından bağımsız olarak, 47 V potansiyel uygulanarak çalıştırılabileceği gösterilmiştir. Mikro kapaklar ayrıca basınçlı de-iyonize su akışı altında test edilmiştir. Testler sonucunda 20 kPa giriş basıncına kadar sızdırma oranının sıfır olduğu gözlenmiştir. Akış testlerinde ayrıca mikro kapakların 0.3 saniyeden daha kısa bir sürede potansiyel değişimine tepki verdikleri gözlenmiştir. Daha sonra, elektrostatik mikro kapakların damlacık tabanlı sistemlerde damlacık boyu kontrolü için kullanımı gösterilmiştir. Bu amaçla, daha önceden tasarlanmış ve test edilmiş normalde açık elektrostatik mikro kapaklar kullanılmıştır. Testler sonucunda, mikro kapaklar kullanılarak en düşük 136 pl hacimli damlacıklar üretilabileceği ve bu damlacıkların hacminin 0.4 pl/V duyarlılıkla kontrol edilebileceği gösterilmiştir. Projenin sonraki aşamasında ise normalde kapalı mikro kapaklar damlacık tabanlı bir ilaç araştırma yongasına entegre edilmiş ve bu yonga üzerinde anahtarlama amacıyla kullanımı gösterilmiştir. Projenin en son aşamasında ise, ilaç araştırma yongası canlı hücre yerine mikro boncuklar kullanılarak test edilmiştir. Testler sonucunda, mikro kapaklar kullanılarak içeriği kontrol edilebilen 137 pl hacimli ve 0.34 pl sapmalı damlacıkların içine 3 µm çaplı mikro boncukların hapsedilebileceği gösterilmiştir.

Proje desteğiyle hazırlanan **bir makale Sensors and Actuators A: Physical** dergisinde yayına kabul edilmiş ve **bir doktora tezi** tamamlanmıştır. Bunların dışında bir uluslararası konferans bildirisi değerlendirme aşamasındadır.

Anahtar kelimeler: Mikro kapak, parylene, çip-üstü-laboratuvar, ilaç araştırma sistemleri

ABSTRACT

In this study, characterization of a normally closed electrostatic microvalve, which had previously been designed, was done and use of this microvalve technology in drug screening systems is demonstrated. As the first step, microvalves, which are fabricated by surface micromachining techniques using a biocompatible material – parylene, were tested. As a result of the tests, it was shown that the microvalves could be operated by applying 47 V potential independent of the working fluid. In addition, microvalves were tested under pressurized de-ionized (DI) water flow. It was observed that the leakage ratio was zero up to 20 kPa inlet pressure. During the flow tests, it was also observed that the microvalves respond to potential change in a period less than 0.3 seconds. Afterwards, use of electrostatic microvalves in droplet based systems for droplet metering was demonstrated. For this purpose, normally open electrostatic microvalves, which had previously been designed and tested, were used. As a result of the tests, it was shown that minimum of 136 pl droplets could be generated and controlled with a sensitivity of 0.4 pl/V by using the microvalves. In the next step of the project, normally closed microvalves were integrated to a droplet based drug analysis chip and use of the microvalves for switching purposes was demonstrated. In the last step of the project, the drug analysis chip was tested using micro beads as live cells. As a result of the tests, it was shown that 3 μm diameter beads could be entrapped in droplets of 137pl volume with 0.34pl deviation, whose content could be controlled by using the microvalves.

With the support of this project, **a journal paper** was accepted to be published in **Sensors and Actuators A: Physical**, and a **Ph.D. thesis** was completed. In addition to these, an international conference paper is in review process.

Keywords: Microvalve, parylene, lab-on-a-chip, drug analysis systems

GİRİŞ

Mikro elektromekanik Sistemler (MEMS) alanındaki gelişmeler sonucunda biyomedikal alanında MEMS uygulamaları (Biyo-MEMS) son yıllarda ön plana çıkmaya başlamıştır. Özellikle 1990'lı yılların başında mikro toplam analiz sistemleri (μ TAS) kavramının doğması ile birlikte (Manz et al. 1990), laboratuvar analizlerinin tek bir yonga üzerinde yer alacak şekilde minyatürleştirilmesi prensibine dayanan çip-üstü-laboratuvar sistemleri gelişmeye başlamıştır. Mevcut teknolojiler kullanılarak, mikro boyutta DNA dizin analizleri, hücre ayırıştırma sistemleri, protein, enzim veya hücre tahlilleri gibi işlemlerde kullanılabilen yongalar şimdiye kadar hem dünyada hem de ülkemizde üretilmiştir. Ancak bu gibi sistemlerin, tam anlamıyla bir çip-üstü-laboratuvar içinde bütünleştirilmesi konusunda henüz yeterli ilerleme sağlanamamıştır. Bu problemin çözümü için, tüm bu alt sistemlerin, analiz edilen biyolojik sıvıların manipülasyonunu sağlayan mikro-pompa, mikro-kapak gibi akış bileşenleri kullanılarak entegre edilmeleri gerekmektedir.

Yukarıda belirtildiği gibi mikro-akış kontrolünde önemli bir rol oynayan mikro kapaklar ilaç taşıma sistemleri veya biyo moleküler araştırmaları içeren tıbbi çalışmalardan yakıt hücresi uygulamalarına kadar geniş bir aralıkta kullanılmaktadırlar (Oh & Ahn 2006). Bu uygulamalarda kullanılacak mikro kapakların tasarımında akış yönü önemli rol oynamaktadır. Mikro kapaklar, aktif elemanının (diyafram veya ankastre kapak) akış yönüne dik olduğu düzlem dışı akışı veya aktif elemanının akış yönüne paralel olduğu düzlem içi akışı kontrol etmek için kullanılabilir. Akış yönü ise uygulamaya göre değişmektedir. Örneğin, bir kütle akış denetleyicisi düzlem dışı çalışan bir mikro kapak kullanılabilir. Ancak, çip-üstü-laboratuvar uygulamalarında akış genellikle düzlem içidir. Bu nedenle, çip-üstü-laboratuvar sistemlerinde kullanılacak mikro kapakların düzlem içi çalışması, sistem entegrasyonunu kolaylaştırmaktadır. Günümüzde, çip-üstü-laboratuvar sistemlerinde sıklıkla kullanılan pnömatik tahrikli mikro kapaklar ise, çip dışı birçok ekipman (pompa, selenoid kontrol valfleri ve bu valflerin kontrolü için gereken elektronik devreler) gerektirmeleri nedeniyle entegrasyonu tam olarak sağlayamamaktadırlar. Bu problemlerin çözümü için daha önceden, **basınçlı akış altında düşük veya sıfır sızdırma oranı sağlayan, düşük güç tüketimli, tepki süresi kısa ve sistem entegrasyonu açısından basit, elektrostatik olarak çalıştırılan, parylene tabanlı bir mikro kapak** tasarlanmış ve bu mikro kapağın ilk prototipleri üretilmiştir. Proje

kapsamında, daha önceden üretilmiş olan bu mikro kapakların akış karakterizasyonu yapılmıştır. Böylelikle çip-üstü-laboratuvar sistemlerine uygunluğu gösterilmiştir.

Bunun yanı sıra, karakterizasyonu tamamlanan mikro kapaklar kullanılarak, bir mikro kanal ağı içinde yer alan birden fazla sıvının kontrol edilebileceği gösterilmiştir. Böylelikle, tasarlanan mikro kapağın, parylene tabanlı büyük ölçekli bütünleşik (large scale integrated) çip-üstü-laboratuvar sistemlerinde kullanılabilirliği kanıtlanmıştır.

Diğer yandan, günümüzde çip-üstü-laboratuvar çalışmalarında, damlacık tabanlı kesikli mikro-akış (disperse microfluidics) uygulamaları önem kazanmaktadır. Bu damlacık tabanlı sistemler, birbirine karışmayan su ve yağ gibi iki sıvının birbiri içinde damlacıklar (su akışı içinde yağ damlacıkları veya yağ akışı içinde su damlacıkları gibi) halinde akması esasına dayanmaktadır. Damlacıkların hacimlerinin, bir hücre hacmiyle kıyaslanabilir kadar küçük olması nedeniyle bu sistemler, protein kristalizasyonu, enzim veya hücre tahlilleri ve ilaç araştırmaları gibi çeşitli çip-üstü-laboratuvar sistemlerinde kullanılmaktadırlar. Ayrıca, damlacıkların kolaylıkla ve hızlı bir şekilde oluşturulabiliyor olması da, bu sistemleri çekici kılmaktadır. Böylelikle, çok kısa sürelerde daha hassas analizler yürütmek mümkün olmaktadır. Tüm bu gelişmeler göz önünde bulundurularak, geliştirilen mikro kapak teknolojisi, damlacık tabanlı bir ilaç araştırma yongasına entegre edilmiş ve bu sistemin çalışması gösterilmiştir. Böylelikle, proje kapsamında ele alınan mikro kapak teknolojisinin gelişmekte olan ilaç araştırmalarında kullanılabilirliği kanıtlanmıştır.

Özet olarak, proje kapsamında:

- Daha önceden tasarlanan ve üretilen mikro kapakların akış karakterizasyonu yapılmıştır.
- Mikro kapaklar bir mikro kanal ağına entegre edilmiş, mikro kapakların bu ağ üzerinde anahtarlama (switching) ve dozajlama (metering) özelliği gösterilmiştir.
- Geliştirilen mikro kapak teknolojisinin, damlacık tabanlı ilaç araştırma yongalarında kullanılabilirliği kanıtlanmıştır.

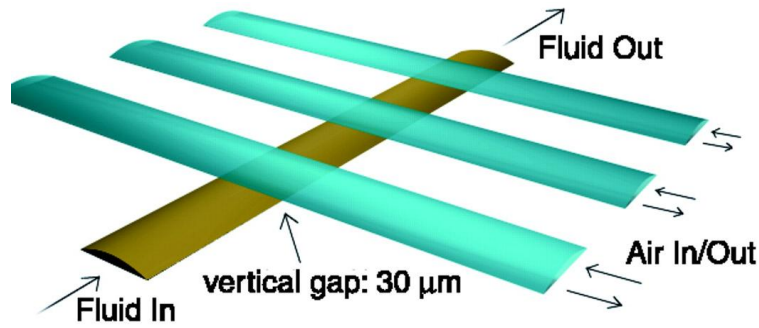
Proje kapsamında akış karakterizasyonu tamamlanan mikro kapak teknolojisi Sensors and Actuators A: Physical dergisinde yayına kabul edilmiştir. Ayrıca, proje kapsamında önerilen damlacık tabanlı ilaç araştırma yongası ile ilgili hazırlanan bir

konferans bildirisi de değerlendirme s¼recindedir. Bunların yanı sıra, proje kapsamında elde edilen sonuçlar kullanılarak bir doktora tezi de tamamlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

1. LİTERATÜR ÖZETİ

Çip-üstü-laboratuvar sistemlerinde kullanılmak üzere şimdiye kadar pnömatik (Unger 2000; Grover et al. 2003; Hosokawa & Maeda 2000; Baek et al. 2005; Go & Shoji 2004), termo-pnömatik (Rich & Wise 2003; Potkay & Wise 2005; van der Wijngaart et al. 2007; Baechi et al. 2002; J.-H. Kim et al. 2004), elektrokinetik (B. J. Kirby et al. 2002), elektrokimyasal (D. E. Lee et al. 2008; Papavasiliou et al. 2000), elektrostatik (Goll et al. 1997; Chang & Maharbiz 2009; Yıldırım & Külah 2011; Jun Xie et al. 2003), elektrotermal (R. H. Liu et al. 2004; Yu et al. 2003; B. Yang & Q. Lin 2007; Pal et al. 2004; Carlen & C. H. Mastrangelo 2002; P. Selvaganapathy et al. 2003) veya hibrid (Ryu et al. 2005) tahrikli mikro kapaklar önerilmiştir. Tüm bu örnekler içerisinde özellikle pnömatik tahrikli mikro kapaklar (Şekil 1), hızlı prototiplemeye uygun bir malzeme olan polidimetilsiloksan (PDMS) kullanılarak üretiliyor olmaları ve nispeten yüksek basınç altında bile düşük veya sıfır sızdırma sağlamaları nedeniyle tercih edilmektedirler. Ancak pnömatik tahrik yönteminin fazladan manifold kanallarına ihtiyaç duyması ve manifold kanallarının kontrolü için dış kontrol ekipmanlarına ve devrelere ihtiyaç duyulması nedeniyle, karmaşık yapılarda çip-dışı bağlantı zorlaşmaktadır (Şekil 2).



Şekil 1. Pnömatik mikro kapak örneği (Unger 2000). Mavi ile gösterilen kanallara basınçlı hava verildiğinde, mavi kanal ile yeşil kanal arasındaki boşlukta yer alan diyafram şişerek yeşil kanalı tıkamakta, böylelikle akış kontrol edilebilmektedir.



Şekil 2: Nispeten karmaşık yapılarda, pnömatik mikro kapakların çalıştırılabilmesi için gereken manifold kanal bağlantıları (Y. Wang et al. 2009).

Bu zorluk çoklayıcı yapılar kullanılarak aşılabilmektedir (Grover et al. 2006). Ancak pnömatik tahrikli mikro kapakların dış kontrol ekipmanlarına olan ihtiyacı ortadan kaldırılamamaktadır. Bu da tam anlamıyla bütünleşik bir çip-üstü-laboratuvar sistemini zorlaştırmaktadır. Bu sorun, üretim ve kontrol kolaylığı göz önünde bulundurulduğunda, elektrostatik tahrikli mikro kapaklar kullanılarak çözülebilir. Ancak bu durumda, elektrotların elektrik-çift-katman oluşumu sonucunda perdelenmesi veya çalışma sıvısının elektrolizi gibi problemler ortaya çıkmaktadır. Sorunun çözümü için ise AC potansiyel uygulanması önerilmektedir (Sounart et al. 2005). Chang ve Maharbiz (Chang & Maharbiz 2009) yüksek frekanslı AC potansiyel uygulanarak çalıştırılan bir mikro kapak önermişlerdir. Ancak bu mikro kapak sızdırma problemine neden olmaktadır. Benzer bir mikro kapak grubumuz tarafından önerilmiş ve sızdırma miktarının nispeten düşük basınçlarda bile çok yüksek olabileceği gösterilmiştir (Yıldırım & Külâh 2011).

Çip-üstü-laboratuvar sistemlerinde mikro kapakların yer aldığı uygulamalar ele alındığında ise polimeraz zincir reaksiyonundan (PCR) (Kaigala et al. 2008) enzim tahlillerine (Thorsen 2002), protein kristalizasyonundan (Lau et al. 2007) damlacık tabanlı uygulamalara (Zeng et al. 2009) kadar geniş bir aralık gözlenmektedir. Bu uygulamalar içinde damlacık tabanlı sistemler, oluşan mikro damlacıkların birbirlerinden yalıtılmış olması ve hacimlerinin nanolitre mertebesinde kontrol edilebilir olması (Song et al. 2006) nedeniyle dikkat çekmektedir. Bu uygulamalarda

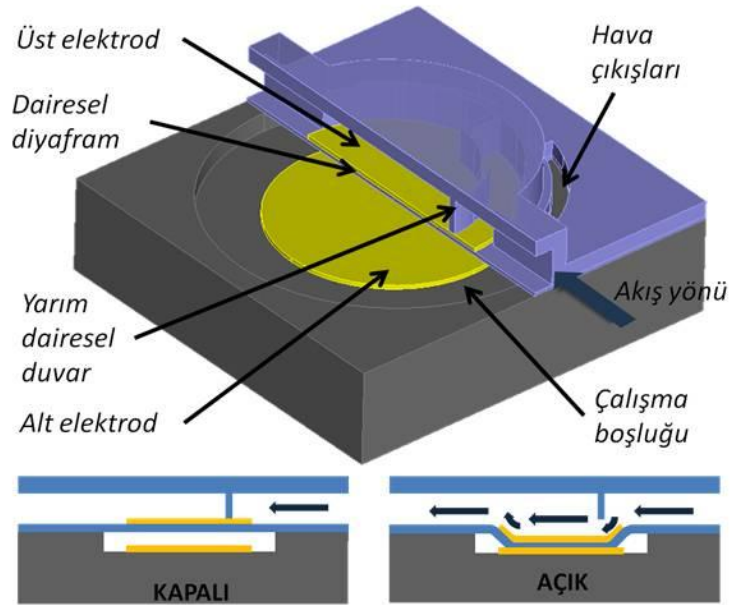
oluşturulan damlacıkların her birinin içinde sadece tek bir hücrenin hapsedilmesi mümkün olabilmektedir (Edgar et al. 2006; Gadd et al. 2008; Edd et al. 2008). Bu durum, damlacık tabanlı sistemlerin, özellikle ilaç araştırmalarında ön plana çıkmasına neden olmaktadır. Geleneksel uygulamalarda ilaç-hücre etkileşimi, üzerinde hacimleri 1 µl ile 300 µl arasında değişen küçük oyukların olduğu mikro titer plakalar (Hüser 2006) kullanılarak yapılmaktadır. Bu yöntemde her bir oyuk içine mikro pipetler vasıtasıyla hücre kültürü ve ilaç bırakılmakta ve ilacın hücre üzerindeki etkisi gözlenmektedir. Ancak bu yöntemde hem sarf edilen kimyasal hacmi yüksek olmaktadır hem de oyuk içindeki hücre sayısı kontrol edilememektedir. Tek bir hücrenin, bir mikro kanal içinde, hacmi belirgin bir ilaç damlası içine hapsedilebiliyor olması ise hem kullanılan reaktif miktarını ciddi oranda azaltacak hem de kanal içindeki akış hızının yüksek olması nedeniyle çok kısa sürede çok fazla sayıda kontrol hacmi (damlacık) üretilebilecektir. Böylelikle ilaç araştırmalarında yüksek çıktılı tarama (high throughput screening (HTS)) mümkün olabilecektir. Gong ve diğerleri bu damlacık teknolojisini kullanarak, PDMS tabanlı bir çip-üstü-laboratuvarda belirli bir tip ilacın meme kanseri hücresi üzerindeki etkisini gözlemişlerdir (Gong et al. 2010). Ancak bu sistemde sadece bir tip ilaç kullanılmıştır. Ayrıca sistemin üretiminde kullanılan PDMS'in buhar geçirgenliğinin inkübasyon üzerindeki etkisi belirtilmemiştir.

2. ÇALIŞMANIN KAPSAMI

Bu projede ele alınan elektrostatik tahrikli normalde kapalı mikro kapak, parylene kullanılarak üretilmiş bir mikro kanal ile mikro kanalın altında yer alan ve silisyum pul içine gömülü bir tahrik odacığını ayıran bir diyaframdan oluşmaktadır (Şekil 3). Mikro kapak kapalı durumdayken, diyafram üzerinde yer alan yarım dairesel duvar sıvı akışını engellemektedir. Diyafram üzerindeki ve tahrik odacığının tabanındaki elektrotlara belirli bir potansiyel (çalışma potansiyeli) uygulandığında ise, elektrostatik kuvvetler yardımıyla diyafram tahrik odacığının tabanına doğru çekilmekte ve sıvı yarım dairesel duvarın altından akabilmektedir. Bu mikro kapağın tasarımı ve üretimleri proje öncesinde tamamlanmıştır (Yildirim et al. 2011). Literatürde önerilen mikro kapaklardan farklı olarak, elektrostatik tahrikli normalde kapalı parylene mikro kapak:

- Çalışma sıvısını elektrik alandan izole etmesi ve böylelikle çalışma sıvısının elektrolitik olarak bozunmasına engel olması,
- Geometrik olarak optimize edilmiş kapak yatağı sayesinde çip-üstü-laboratuvarlarda tipik olan 10-30 kPa mertebesindeki giriş basınçlarında düşük veya sıfır sızdırma sağlaması,
- Kullanılan elektrostatik çalıştırma yönteminin çip üstü elektronik bileşenlerle uyumlu olması ve
- Biyo uyumlu bir malzeme olan parylene kullanılarak üretilmiş olması

nedeniyle çip-üstü-laboratuvar sistemlerinin entegrasyonu için uygun bir mikro kapaktır. Proje kapsamında ilk olarak, daha önceden üretilmiş olan mikro kapakların akış karakterizasyonunun tamamlanması amaçlanmıştır. Karakterizasyon testlerinde, mikro kapakların farklı voltaj seviyelerinde ve farklı giriş basınçları altında sızdırma özelliklerinin tespit edilmesi hedeflenmiştir. Ayrıca, testlerde farklı çalışma sıvıları kullanılması, böylelikle mikro kapakların çalışması için gereken potansiyelin, çalışma sıvısının elektriksel özelliklerinden bağımsız olduğunun gösterilmesi hedeflenmiştir. Bu testler sonucunda, mikro kapaklar farklı operasyon şartları ve farklı sıvılar altında test edildiği için, akış özellikleri tam olarak tespit edilmiş olacaktır.



Şekil 3: Proje kapsamında ele alınan mikro kapağın tasarım detayları ve çalışma prensibi.

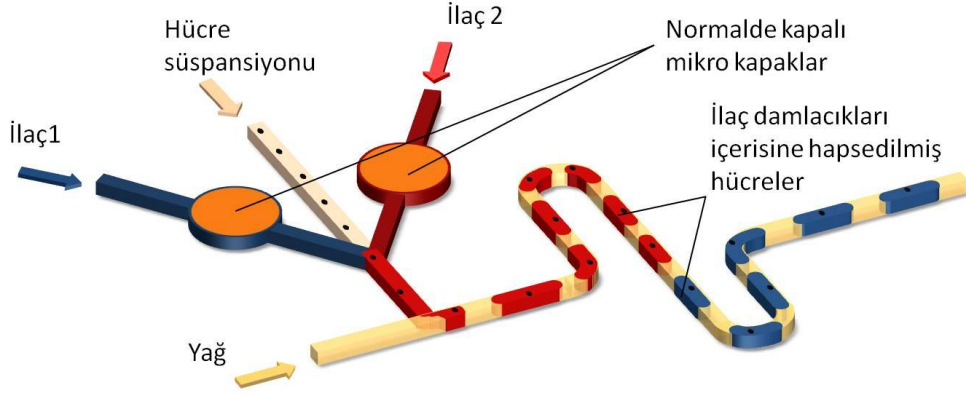
Aktif mikro kapaklar, çip-üstü-laboratuvar sistemlerinde biyolojik analizlerin gerçekleştirilmesi için, bir veya birden fazla tür vücut sıvısı ya da reaktifin dozajlanması (metering) ve anahtarlanması (switching) gibi temel işlemlerde kullanılmaktadır. Projede ayrıca, mikro kapakların bu temel işlemlerde kullanılabileceğinin gösterilmesi hedeflenmiştir. Böylelikle mikro kapakların karmaşık bir mikro kanal ağına entegre edilebileceğinin kanıtlanması amaçlanmıştır.

Bu amaçların yanı sıra, proje kapsamında akış karakterizasyonu yapılan mikro kapak teknolojisi kullanılarak, birden fazla ilacın aynı yonga üzerinde gözlenebildiği bir ilaç araştırma sistemi ele alınmıştır (Şekil 4). Sistem, iki farklı ilacın tek bir tip hücre üzerindeki etkisinin aynı yonga üzerinde gözlenebilmesini sağlamaktadır. Normalde kapalı mikro kapaklardan herhangi birisi açıldığında, o kanal içinden akan ilaç, Y şeklindeki bağlantıda hücre süspansiyonu ile karışmaktadır. Bu karışım daha sonra T-bağlantıda yağ akışı ile kesilmekte ve her birinin içinde birer hücre bulunan damlacıklar halinde serpantin kanal içerisinde akmaktadır. Böylelikle içerisinde hücre hapsedilmiş olan ve ilaç damlacıkları serpantin kanal içerisinde gözlenebilmektedir. Literatürde yer alan benzer sistemler, bir önceki kısımda da belirtildiği gibi, tek bir ilacın etkisinin gözlenmesine izin vermektedir. Burada önerilen sistem ise, mikro kapaklar yardımıyla birden fazla ilacın incelenmesine olanak sağlamaktadır. Sistemin literatürde geçen PDMS tabanlı sistemlere bir üstünlüğü de kullanılan yapısal malzemenin (parylene-C) nispeten düşük buhar geçirgenliğidir. Kullanılan malzemenin bu özelliği nedeniyle, yonga içerisinde oluşturulan ilaç damlacıklarının inkübasyon süresince kurummasının önüne geçilebilecektir. Önerilen bu sistemin ilk testlerinin yapılması ile birlikte, geliştirilen mikro kapak teknolojisinin çip-üstü ilaç araştırma uygulamalarında kullanılabilirliğinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

Özet olarak, yukarıda belirtilen amaçlar doğrultusunda, projede aşağıda belirtilen iş akışı izlenmiştir:

- Üretilmiş olan mikro kapakların, farklı potansiyeller uygulanarak, farklı giriş basınçları altında test edilmesi
- Mikro kapakların, damlacık tabanlı sistemlerde damlacık boyutunu kontrol etmek amacıyla kullanımının gösterilmesi

- Mikro kapakların, mikro kanal ağında anahtarlama amacıyla kullanımının gösterilmesi
- Mikro kapakların, ilaç araştırma yongalarında kullanılabilirliğinin gösterilmesi

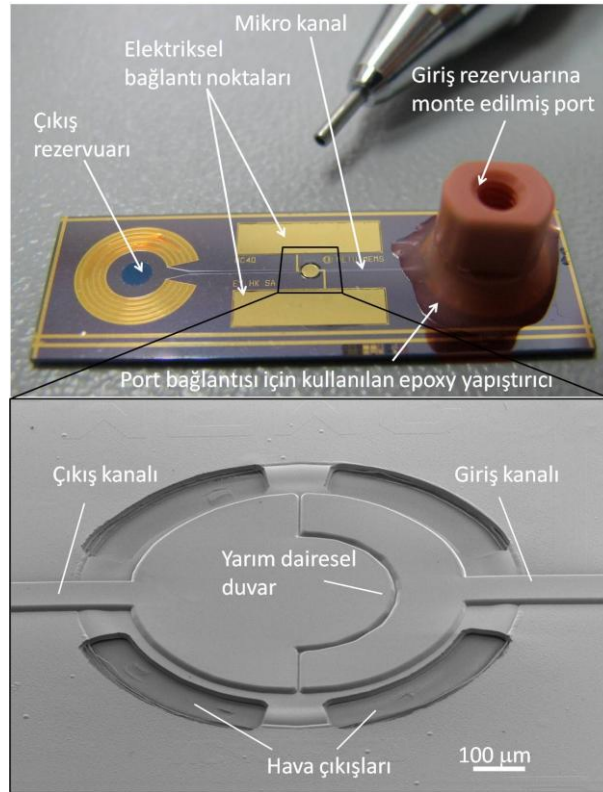


Şekil 4: Proje kapsamında ele alınan ilaç araştırma sisteminin kavramsal yapısı. İlaçlar arasındaki geçiş elektrostatik mikro kapaklar kullanılarak yapılmaktadır.

GEREÇ VE YÖNTEM

1. MİKROKAPAKLARIN AKIŞ KARAKTERİZASYONU

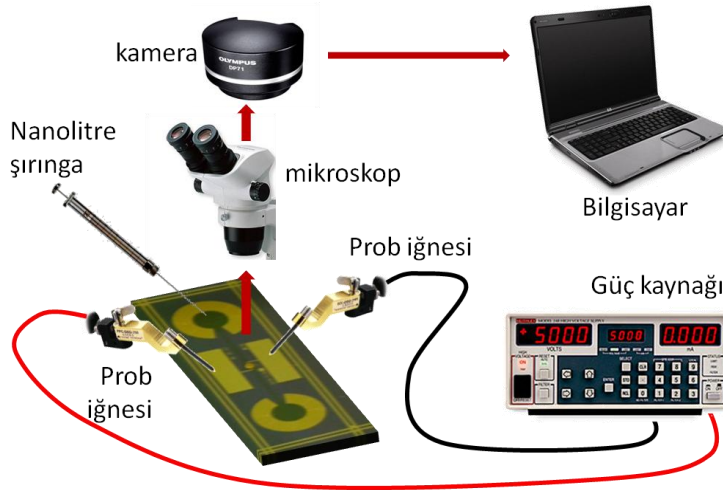
Proje kapsamında ilk olarak, daha önceden tasarımı ve üretimi tamamlanmış olan normalde kapalı elektrostatik mikro kapakların akış karakterizasyon testleri ele alınmıştır. Şekil 5 üretimi tamamlanmış ve teste hazır bir mikro kapak prototipini ve mikro kapağın taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak elde edilmiş görüntüsünü vermektedir. Mikro kapak, silisyum pul üzerinde parylene kullanılarak üretilmiş mikro kanalı ve pul içine gömülü tahrik odacığını ayıran bir diyaframdan oluşmaktadır (Şekil 3).



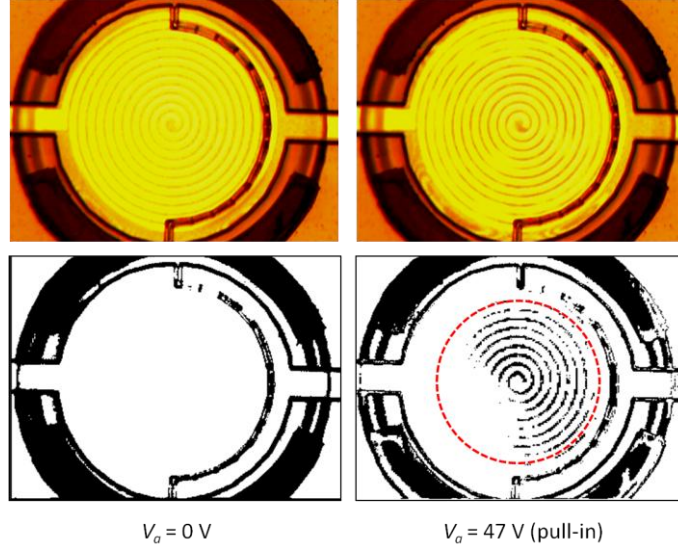
Şekil 5: Üretimi tamamlanmış, test edilmeye hazır mikro kapak prototipi ve mikro kapağın SEM görüntüsü. Prototip üzerine monte edilmiş port, makro-mikro akış ara yüzünü oluşturmaktadır.

Mikro kanal içinde yer alan yarım daire şeklindeki duvar, normalde kapalı durumda akışı engellemektedir. Biri diyafram üzerinde ve diğeri tahrik odacığı tabanında

bulunan elektrotlara yeterli potansiyel uygulandığında, diyafram “pull-in”e (diyaframın potansiyel altında aniden göçmesi) girmekte ve tahrik odacığı tabanına doğru göçmektedir. Böylelikle çalışma sıvısı, yarım daire şeklindeki duvar ile diyafram arasından akabilmektedir. Mikro kapağın özgün yapısı, elektrik alanın tahrik odacığı içinde oluşmasını böylelikle çalışma sıvısının elektrik alandan izole olmasını sağlamaktadır. Sonuç olarak, çalışma potansiyeli çalışma sıvısının elektriksel özelliklerinden bağımsız hale gelmektedir. Bu durumun test edilmesi için ilk olarak mikro kapaklar, sıfır giriş basıncı altında farklı akışkanlar – de-iyonize su ve hava – kullanılarak çalıştırılmıştır. Testler sırasında, ilk olarak mikro kapaklara kanal içinde hava varken ve giriş basıncı sıfır iken DC potansiyel uygulanmıştır. Uygulanan potansiyel, pull-in gözlenene kadar kademeli olarak artırılmıştır. Testler sonucunda, hava ortamında mikro kapakların 47 V DC potansiyel uygulanarak çalıştırılabileceği gözlenmiştir. Aynı test, kanal içinde de-iyonize su varken tekrar edilmiştir. Bu amaçla mikro kanalların içerisine kılcal etkiyle de-iyonize su gönderilmiştir (Şekil 6). Mikro kanalların sıvı ile dolmasının ardından (giriş basıncı sıfır iken) test tekrar edilmiştir. De-iyonize su ile tekrar edilen testlerde pull-in voltajı yine 47 V DC olarak ölçülmüştür. Bu sonuç, öngörüldüğü gibi çalışma potansiyelinin sıvının elektriksel özelliklerinden bağımsız olduğunu ve mikro kapakların herhangi bir sıvıyla çalıştırılabileceğini göstermektedir. Şekil 7 mikro kapağın kapalı (0 V) ve açık (47 V) durumlarını göstermektedir.



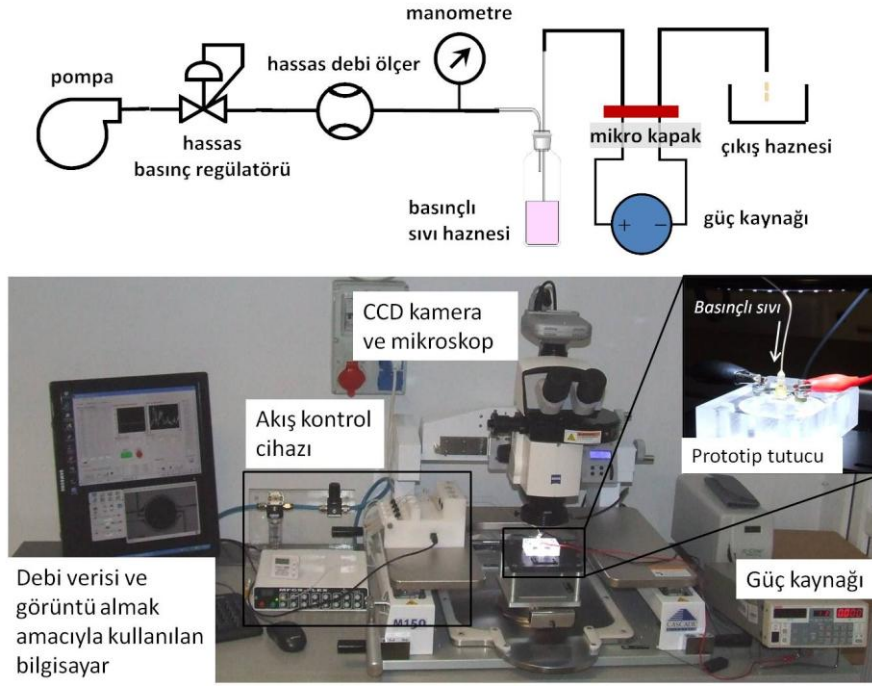
Şekil 6: Pull-in test düzeneği.



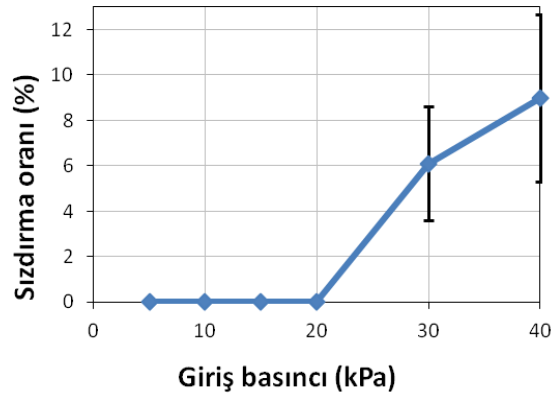
Şekil 7: Mikro kapağın kapalı ($V_a = 0$ V) ve açık ($V_a = 47$ V) durumdaki mikroskop görüntüleri. Siyah-beyaz görüntüde diyaframın çalışma boşluğunun tabanına temas ettiği bölge net bir şekilde görülmektedir.

Çalışma potansiyeli tespit edildikten sonra, 20 kPa giriş basıncına uygun olarak tasarlanmış olan mikro kapaklar, de-iyonize su akışı altında çalıştırılmıştır. Test sırasında de-iyonize su mikro kanal içine, giriş basıncı sabit olacak şekilde gönderilmiştir. Mikro kapak normalde kapalı konumdayken debi ölçülmüş, daha sonra potansiyel uygulanarak, mikro kapak açılmış ve açık konumdaki debi ölçülmüştür. Ölçülen iki debi arasındaki oran, sızdırma oranı olarak kaydedilmiştir. Bu test, giriş basıncının sızdırma oranı üzerindeki etkisi gözlemek için giriş basıncı değiştirilerek tekrarlanmıştır. Şekil 8, testler sırasında kullanılan düzeneği göstermektedir.

Testler sırasında, 20 kPa giriş basıncı için optimize edilmiş mikro kapakların, öngörüldüğü şekilde 20 kPa'ya kadar sıfır sızdırma sağladığı, 40 kPa basınç altında ise sızdırma oranının sadece %9 olduğu gözlenmiştir (Şekil 9).



Şekil 8: Akış karakterizasyon testlerinde kullanılan düzeneğin şematik görünümü ve kurulu test düzeneği.

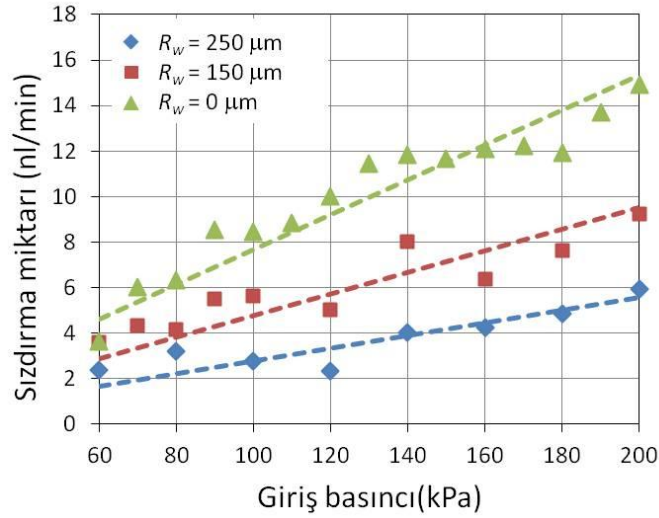


Şekil 9: 20 kPa giriş basıncı için optimize edilmiş mikro kapağın sızdırma oranının giriş basıncında göre değişimi.

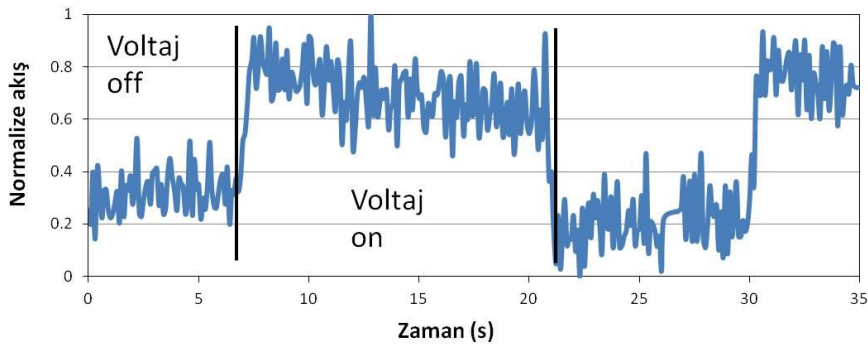
Sızdırma oranını etkileyen bir diğer parametre ise, mikro kapakta yer alan yarım-dairesel duvarın yarıçapıdır. Yarıçap küçüldükçe, sıvı basıncının diyafram üzerindeki etkisi artacak, neticesinde voltaj uygulanmadığı durumda (kapalı) bile diyafram bir miktar bükülecek ve sızdırma miktarı artacaktır. Yarıçap arttıkça, sıvı basıncının

etkisi azalacak, böylelikle sızdırma oranı da azalacaktır. Bu etkinin gözlenebilmesi için, farklı duvar yarıçapları kullanılarak üretilmiş mikro kapaklarda kapalı durumdaki akış miktarı gözlenmiştir. Testlerin sonucunda (Şekil 9), öngörüldüğü gibi duvar yarıçapı arttıkça sızdırma miktarının azaldığı gözlenmiştir.

Sızdırma özelliklerinin yanı sıra, mikro kapakların dinamik tepkisi de gözlenmiştir. Bu amaçla, basınçlı de-iyonize su akışı altında mikro kapaklar, daha önceden tespit edilen çalışma potansiyeli uygulanarak açılmış ve ardından tekrar kapatılmıştır. Test sonucunda mikro kapakların tepki süresinin hem açma hem de kapama için 0.3 saniyenin altında olduğu gözlenmiştir (Şekil 10).



Şekil 10: Duvar yarıçapının (R_w) sızdırma miktarı üzerindeki etkisi.



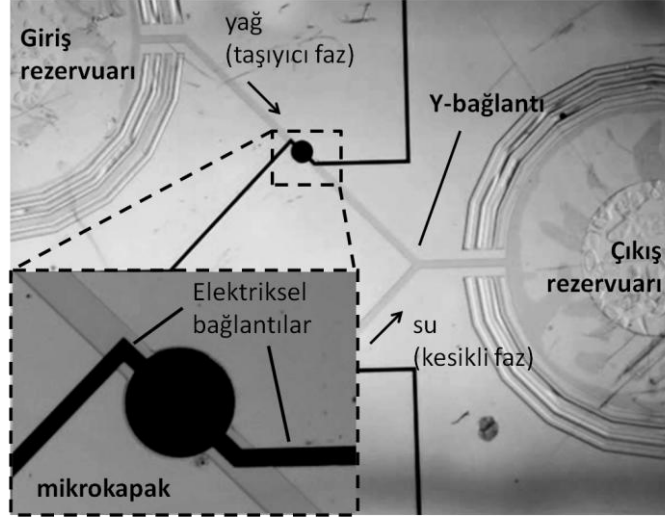
Şekil 11: Çalışma potansiyelinin debi üzerindeki etkisi.

2. MİKRO KAPAKLAR KULLANILARAK DAMLACIK BOYUTU KONTROLÜ

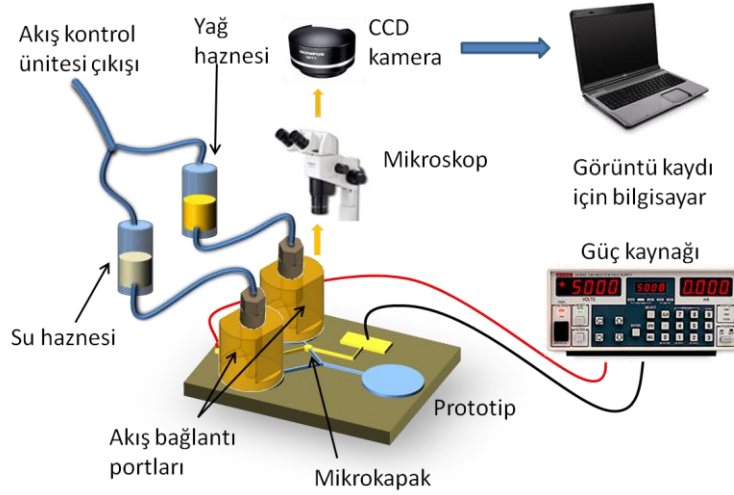
Mikro kapakların damlacık tabanlı sistemlerde damlacık boyunun kontrolü için kullanımının gösterilmesi için, bir önceki iş paketi kapsamında karakterizasyonu tamamlanmış olan mikro kapakların kullanılması öngörülmüştür. Ancak damlacık tabanlı sistemlerde yağ akışının sürekli olduğu göz önünde bulundurulduğunda, debi kontrolü için normalde kapalı bir mikro kapağın kullanılmasının uygun olmadığı görülmektedir. Çünkü bu durumda yağ akışının sürekliliğinin sağlanabilmesi ancak mikro kapağa sürekli potansiyel uygulanmasıyla mümkün olacaktır, bu durum da yapısal malzemenin (parylene) dielektrik yüklenmesine neden olacaktır (Yao et al. 2002). Bu nedenle, debi kontrolü için daha önceden tasarlanmış ve karakterizasyonu yapılmış elektrostatik tahrikli normalde açık mikro kapakların (Yıldırım & Külah 2011) kullanılmasına karar verilmiştir.

Normalde açık mikro kapaklar, mikro kanal tavanında yer alan bir diyaframın elektrostatik olarak kanal tabanına doğru çekilmesi suretiyle çalıştırılmaktadır. Diyafram üzerinde yer alan üst elektrot ve kanal tabanında yer alan alt elektrota pull-in potansiyeli uygulanması ile birlikte diyafram anında kanal tabanına geçmekte ve mikro kapak kapanmaktadır. Potansiyelin daha da artırılması diyaframın kanal tabanına daha iyi oturmasına neden olmakta ve sızdırma miktarı düşmektedir (Yıldırım & Külah 2011).

Normalde açık mikro kapakların debi kontrolü amacıyla kullanımının gösterilmesi için Şekil 12’de gösterilen prototip kullanılmıştır. Prototip, bir Y-bağlantı içermektedir. Y-bağlantının bir kolundan su, diğer kolundan ise yağ akmaktadır. Yağ akışı olan kol üzerinde bulunan mikro kapak kullanılarak, yağın debisi kontrol edilmektedir. Y-bağlantı çıkışında yer alan kanalda ise damlacıklar oluşmaktadır. Testler sırasında Y-bağlantının iki kolu girişinde bulunan rezervuarlardan basınçlı (10 kPa) yağ ve su verilmiştir. Farklı çalışma voltajı seviyelerinde, Y-bağlantı çıkışında oluşan damlacıklar mikroskop altında görüntülenmiş ve görüntü işleme yöntemleri kullanılarak damlacık hacimleri tespit edilmiştir (Şekil 13).



Şekil 12: Damlacık boyu kontrolü testlerinde kullanılan prototip

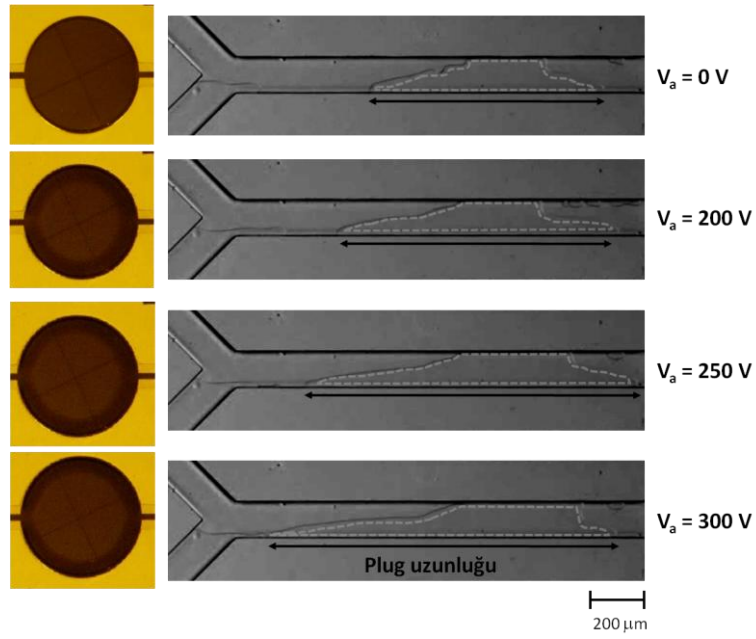


Şekil 13: Damlacık boyu kontrolü test düzeneği

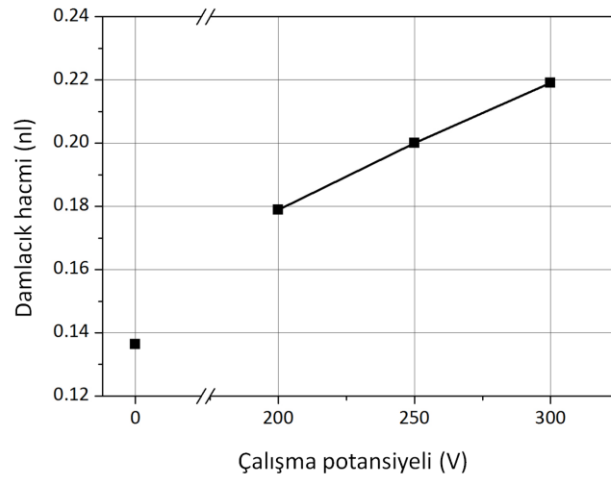
Testler sırasında, mikro kapaklara farklı seviyelerde potansiyel uygulanarak oluşan damlacıkların boyu kaydedilmiştir. Giriş basınçlarının aynı olmasına rağmen yağın vizkositesinin suyun vizkositesinden daha büyük olması nedeniyle, yağ akış hızının su akış hızından daha düşük olduğu gözlenmiştir. Bu da “plug” şeklinde uzun damlacıkların oluşmasına neden olmuştur. Şekil 14, farklı potansiyel seviyelerinde oluşan damlacıkları göstermektedir. Oluşan damlacıkların görüntüleri daha sonra, görüntü işleme programı ImageJ kullanılarak değerlendirilmiştir. ImageJ yardımıyla damlacık alanı ölçülmüş, ölçülen alan kanal yüksekliğiyle çarpılarak damlacık hacmi

tespit edilmiştir. Damlacık boyunun ($100 \mu\text{m}$ seviyesinde) kanal yüksekliğinden ($4 \mu\text{m}$) çok büyük olması bu hesaplama yöntemini doğrulamaktadır.

Şekil 10 damlacık hacminin çalışma potansiyeline göre değişimini göstermektedir. Şekilde sıfır voltaj seviyesinde mikro kapak açıktır ve bu seviyede oluşan damlacık, belirtilen basınç seviyesinde elde edilebilecek en küçük damlacıktır.



Şekil 14: Farklı çalışma potansiyellerinde diyaframın kapanma miktarı ve oluşan damlacık boyu



Şekil 15: Damlacık hacminin çalışma potansiyeline bağlı değişimi

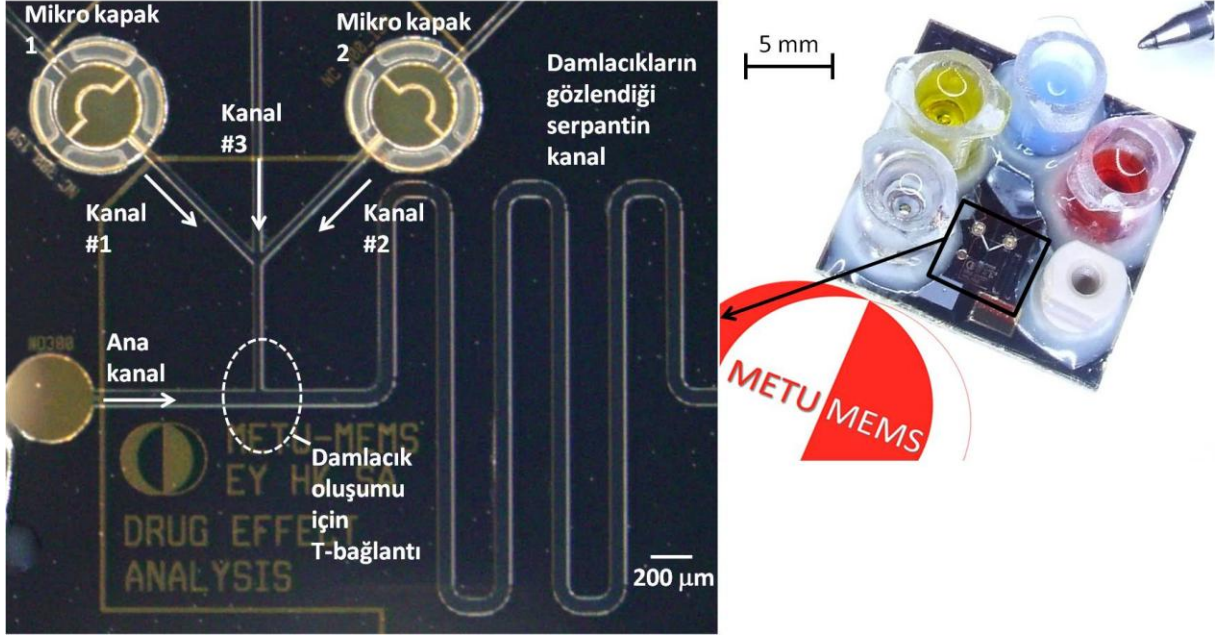
Testler sırasında en küçüğü 136 pl hacminde % 6 sapma ile tekil dağılımlı damlacıklar oluşturulmuştur. Çalışma potansiyeli artırılarak damlacık hacminin 0.4 pl/V duyarlılıkla kontrol edilmesinin mümkün olduğu gösterilmiştir. Bir diğer sonuç ise, kapalı durumdaki mikro kapakta, çalışma potansiyeli ile damlacık hacmi arasındaki ilişkinin doğrusal olmasıdır. Bu durum damlacık kontrolünde kolaylık sağlamaktadır.

3. MİKRO KAPAKLARIN ANAHTARLAMA AMACIYLA KULLANIMININ GÖSTERİLMESİ

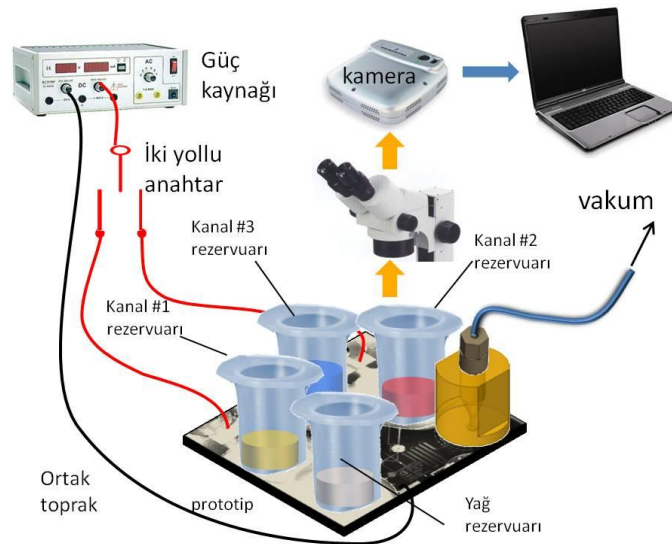
Bütünleşik çip-üstü-laboratuvar sistemlerinde mikro kapakların en önemli kullanımlarından biri anahtarlama (switching). Proje kapsamında, karakterizasyonu yapılan mikro kapakların çoklayıcı olarak kullanımının gösterilmesi amacıyla Şekil 16'da gösterilen yapı kullanılmıştır. Yapıda yer alan 1 ve 2 numaralı normalde kapalı mikro kapaklardan herhangi birinin voltaj uygulanarak açılması durumunda, açık olan mikro kapağın üzerinde bulunduğu mikro kanaldan Y-bağlantıya doğru bir akış olacaktır. Bu akış Y-bağlantıda, şekilde gösterilen 3. kanaldaki sıvı ile birleşecektir. Bu karışım T-bağlantıda ana kanaldan gelen yağ akışı tarafından kesilecek ve kanal içinde damlacıklar oluşturulacaktır. Mikro kapaklar kullanılarak damlacığın içeriğinde yer alan sıvı kontrol edilebilecektir (1. mikro kapak açık iken damlacık kanal 1'den, 2. mikro kapak açık iken ise kanal 2'den gelen sıvılardan oluşacaktır.). Bu yapı aynı zamanda, projenin bir sonraki aşamasında test edilen ilaç araştırma yongasının bir prototipidir. Yonganın çalışma prensiplerinin bütünü bir sonraki kısımda tekrar ele alınmıştır. Bu aşamada ise yonga üzerinde yer alan mikro kapaklar kullanılarak, Y-bağlantıya ulaşan sıvıların anahtarlanması amaçlanmıştır.

Anahtarlama uygulamasının gösterilmesi amacıyla mikro kapakların yer aldığı 1. ve 2. kanallara basınçlı deiyonize su verilmiştir. İki kanaldaki suyun görsel olarak ayrıştırılabilmesi için de-iyonize su, iki farklı renkte (sırasıyla sarı ve kırmızı) gıda boyası ile renklendirilmiştir. Sistemin yukarıda belirtildiği şekilde çalışabilmesi için 3. kanala basınçlı deiyonize su, ana kanala ise basınçlı yağ verilmiştir. Sıvı basıncının sağlanabilmesi amacıyla ilk olarak giriş rezervuarlarına pozitif basınç uygulanmıştır. Ancak bu yöntem, kanallarda hava kabarcıklarının oluşmasına ve bu nedenle akışın kararsız olmasına neden olmaktadır. Bu sorunun çözümü için Şekil 17'de gösterilen düzenek kullanılmıştır. Buna göre akış, çıkış rezervuarına uygulanan negatif

(vakum) basınç ile sağlanmaktadır. Böylelikle giriş rezervuarlarında hava kabarcıklarının oluşmasının önüne geçilebilmektedir. Mikro kapakların kontrolü için ise iki yönlü bir mikro anahtar kullanılmıştır. Anahtarın bir konumunda 1. mikro kapağa, diğer konumunda ise 2. mikro kapağa potansiyel uygulanabilmektedir.

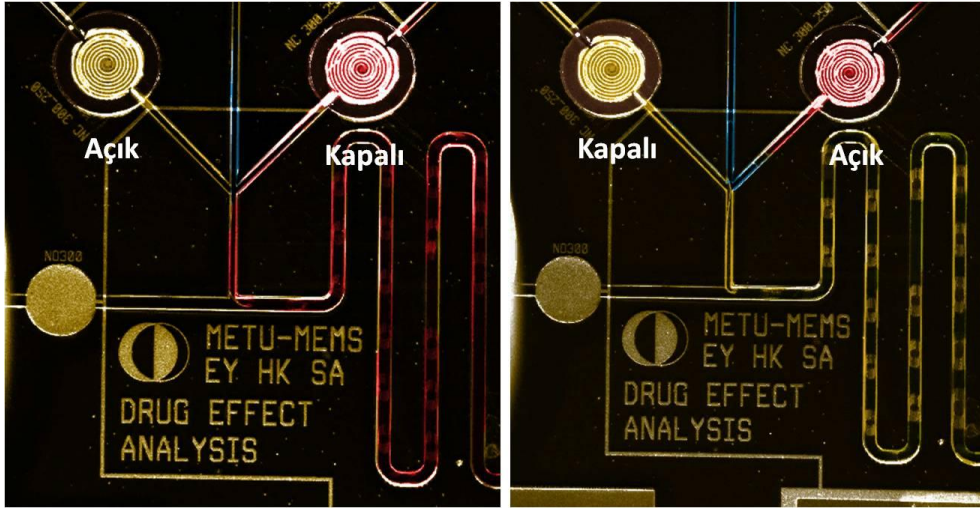


Şekil 16: Projenin 3. ve 4. aşamalarında test edilen damlacık tabanlı ilaç araştırma sistemi prototipi



Şekil 17: Mikro kapakların anahtarlama özelliğinin gösterilmesi amacıyla kullanılan test düzeneği

Yapının test edilebilmesi için, çıkış rezervuarına 25 kPa vakum uygulanmıştır. Akış sırasında mikro kapak 1 ve 2 sırasıyla voltaj uygulanmıştır. Testler sırasında farklı renkteki sıvıların mikro kapaklar yardımıyla seçilerek Y-bağlantıya yönlendirilebilmiştir. Şekil 18, testler sırasında oluşan farklı renkteki damlacıkları göstermektedir. Böylelikle mikro kapakların çip-üstü laboratuvar sistemlerinde anahtarlama amacıyla kullanılabileceği gösterilmiştir.



Şekil 18: Mikro kapakların açık ve kapalı durumları ve oluşan farklı renkteki damlacıklar. Mikroskop altında elde edilen görüntüler netlik için tekrar renklendirilmiştir.

4. MİKRO KAPAKLARIN İLAÇ ARAŞTIRMA YONGALARINDA KULLANILABİLİRLİĞİNİN GÖSTERİLMESİ

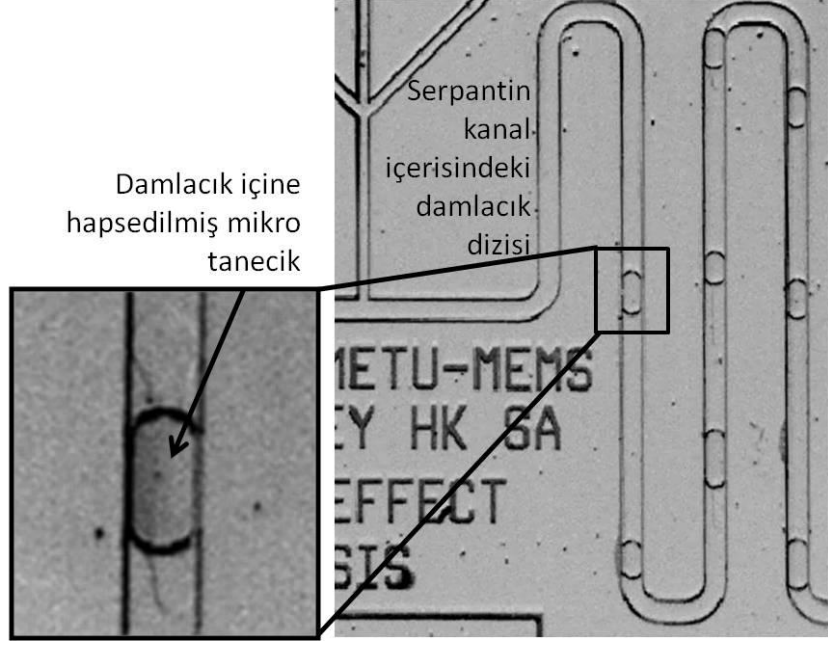
Projenin son aşamasında, mikro kapakların ilaç araştırma yongasında kullanılabilirliği gösterilmiştir. Bu amaçla yine Şekil 16'de gösterilen yonga kullanılmıştır. Bir önceki kısımda da belirtildiği gibi, sistem üzerinde iki adet normalde kapalı elektostatik mikro kapak yer almaktadır. Bu mikro kapaklardan herhangi biri açıldığında, o mikro kapağın üzerinde bulunduğu kanalda bulunan ilaç Y-bağlantıya doğru akmakta ve burada 3. kanaldan gelen hücre süspansiyonu ile karışmaktadır. Diğer mikro kapağın açılması durumunda ise, o kanalda yer alan diğer ilaç Y-bağlantıya taşınmakta ve bu sefer diğer ilaç hücre süspansiyonu ile karışmaktadır. Böylelikle hücre ile hangi ilacın tepkimeye gireceği kontrol edilebilmektedir. Y-bağlantıda

oluşan ilaç-hücre karışımı daha sonra T-bağlantıda ana kanaldan gelen yağ akışıyla kesilmekte ve içerisinde hücre bulunan damlacıklar oluşmaktadır. Bu damlacıklar daha sonra serpantin kanal içerisinde inkübasyona bırakılmakta ve ilacın-hücre üzerinde etkisi zaman içinde gözlenebilmektedir.

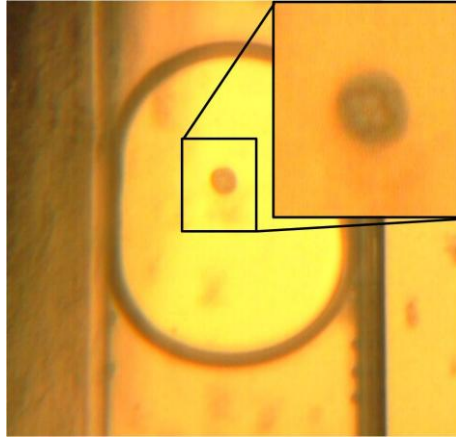
Sistemin uygulanabilirliğinin gösterilmesi amacıyla, ilaç yerine gıda boyasıyla renklendirilmiş deiyonize su, hücre süspansiyonu yerine ise mikro tanecik süspansiyonu kullanılmıştır. Mikro tanecik süspansiyonu, 3 µm çaplı polystrene tanecikler ile de-iyonize suyun 1.68×10^7 tanecik/ml konsantrasyonda karıştırılmasıyla elde edilmiştir. Taneciklerin süspansiyon içerisinde homojen olarak dağıldığı varsayıldığında, belirtilen konsantrasyona göre oluşan damlacıklar içine tek bir taneciğin hapsedilebilmesi için damlacık hacminin 120 pl olması gerekmektedir. Testler sırasında, bir önceki kısımda bahsedildiği şekilde çıkış rezervuarına 25 kPa vakum uygulanmıştır. Giriş rezervuarlarına monte edilen her bir rezervuara ise 0.5 µl hacminde çalışma sıvısı (rezervuara göre yağ, renkli deiyonize su veya mikro boncuk süspansiyonu) doldurulmuştur. Mikro kapakların kontrolü için ise yine bir önceki kısımda belirtildiği gibi 2 yollu bir mikro anahtar kullanılmıştır.

Testler sırasında oluşan damlacıkların hacminin ölçümü için, ImageJ yazılımı kullanılarak damlacık alanı ölçülmüş ve bu alan kanal yüksekliği ile çarpılmıştır. Test sonuçlarına göre ortalama 137 pl hacminde ve 0.34 pl sapmayla damlacıklar elde edilebilmiştir. Bu değer, her bir damlacık içine tek bir mikro tanecik hapsedilebilmesi için gereken damlacık hacmine oldukça yakın bir değerdir. Böylelikle oluşan damlacıkların içerisine tek bir mikro tanecik hapsedilebilmesi mümkün olmuştur. Şekil 19 serpantin kanal içindeki bir dizi damlacığı ve damlacık içerisine hapsedilmiş bir mikro taneciği göstermektedir. Sonuç olarak, mikro kapakların bir ilaç araştırma sisteminde ilaç seçimi için kullanılabileceği ve böyle bir sistemin seçilen ilacın tek bir hücre üzerindeki etkisini gözlemek üzere kullanılabileceği kanıtlanmıştır.

Önerilen sistemin canlı hücreler ile kullanılacağı göz önünde bulundurularak aynı testler bu sefer maya hücreleri ile tekrar edilmiştir. Testler sonucunda damlacıklar içerisinde maya hücrelerinin de hapsedilmesi mümkün olmuştur. Ancak canlı hücre durumunda, hücre agregasyonu etkisi nedeniyle birden fazla hücrenin aynı damlacık içerisine girdiği gözlenmiştir (Şekil 20).



Şekil 19: Serpantin kanal içindeki damlacıklar ve damlacık içersine hapsedilmiş mikro tanecek.



Şekil 20: Damlacık içine hapsedilmiş maya hücreleri. Hücre agregasyonu nedeniyle, damlacık içine birden fazla maya hücresi girmiştir.

SONUÇ VE BULGULAR

Bu araştırma projesi kapsamında daha önceden tasarımı ve MEMS teknolojisi kullanılarak prototip üretimi yapılmış olan elektrostatik tahrikli normalde-kapalı parylene mikro kapakların akış karakterizasyonu yapılmış, mikro kapak teknolojisinin genelde çip-üstü-laboratuvar sistemlerinde, özelde ise damlacık tabanlı ilaç araştırma sistemlerinde kullanımı gösterilmiştir. Proje kapsamında karakterizasyonu tamamlanan mikro kapağın, literatürde yer alan mikro kapaklara kıyasla üretimi ve kontrolünün daha kolay olması ve kullanılan malzemenin standart yüzey mikro işleme yöntemleriyle uyumlu olması nedeniyle bütünleşik çip-üstü-laboratuvar sistemlerinin geliştirilmesine katkıda bulunması beklenmektedir. Proje kapsamında elde edilen somut kazanımlar ise aşağıdaki başlıklar halinde sıralanabilir.

- **Elektrostatik tahrikli normalde kapalı parylene mikro kapağın akış karakterizasyonu:** Daha önceden 20 kPa'ya kadar giriş basınçları için optimize edilmiş olan mikro kapakların (Yıldırım et al. 2011), çalışma sıvısının elektriksel özelliklerinden bağımsız olarak 47 V uygulanarak çalıştırılabileceği gösterilmiştir. Mikro kapakların, teoriye uygun olarak 20 kPa giriş basıncına kadar sıfır sızdırma oranı sağladığı, 40 kPa basınç altında ise sızdırma oranının %9 olduğu gösterilmiştir. Ayrıca mikro kapak içerisinde yer alan yarım-dairesel duvarın yarıçapı değiştirilerek sızdırma miktarının kontrol edilebileceği de gösterilmiştir.
- **Elektrostatik tahrikli mikro kapakların çip-üstü-laboratuvar sistemlerinde hacim kontrolü ve anahtarlama amacıyla kullanımın gösterilmesi:** Proje kapsamında, daha önceden tasarımı, üretimi ve karakterizasyonu tamamlanmış olan elektrostatik tahrikli normalde açık mikro kapaklar (Yıldırım & Külah 2011) kullanılarak en düşük ortalama 136 pl olan damlacıkların hacimlerinin 0.4 pl/V duyarlılıkla kontrol edilebileceği gösterilmiştir. Ayrıca, projenin bir önceki adımında karakterizasyonu tamamlanan normalde kapalı mikro kapakların, damlacık tabanlı bir sistem üzerinde yer alan iki kanaldaki sıvıların anahtarlanması amacıyla kullanılabileceği gösterilmiştir.
- **Elektrostatik tahrikli normalde kapalı mikro kapaklar kullanılarak damlacık tabanlı ilaç araştırma sisteminin kontrolü:** İki farklı ilacın aynı tip

hücre üzerindeki etkisinin gözlenebildiği damlacık tabanlı bir ilaç araştırma yongası üzerinde, mikro kapaklar kullanılarak istenilen ilacın seçilebildiği ve seçilen ilaçtan oluşan damlacıkların içerisine tek bir hücrenin hapsedilmesinin mümkün olduğu gösterilmiştir. Testlerde 137 pl hacimli damlacıklar içine, hücreyi temsil eden 3 µm çaplı polystrene tanecikler hapsedilmiştir.

Sonuç olarak, projenin temel hedefi olan, elektrostatik tahrikli normalde kapalı mikro kapakların akış karakterizasyonu tamamlanmış ve bu mikro kapakların ilaç araştırma sistemlerinde kullanılabilirliği kanıtlanmıştır. İleriki dönemlerde, proje kapsamında ele alınan ilaç araştırma sisteminin iyileştirilmesi ve sistemin geçek hücre-ilaç kombinasyonlarıyla kullanımının gerçekleştirilmesi önerilebilir. Buna göre, ilaç araştırma sisteminin testleri sırasında gözlenen bazı sorunlar ve bu sorunların giderilmesi için alınması gereken önlemler aşağıda sıralanmıştır.

- İlaç araştırma sisteminde ilaç ile hücre süspansiyonunun karışması Y-bağlantı ile T-bağlantı arasında olmaktadır. Mikro akış sistemlerinde karışımın temel olarak difüzyona dayandığı göz önünde bulundurulduğunda (B. Kirby 2010), Y-bağlantı ile T-bağlantı arasındaki mesafenin karışım için yeterli olmadığı görülmektedir. İlaç-hücre süspansiyonu karışımının hızlandırılması amacıyla ana kanal üzerine pasif veya aktif mikro karıştırıcılar (Nguyen & Wu 2005) eklenmesi yonganın etkinliğini arttıracaktır.
- İlaç araştırma yongası üzerinde damlacık oluşumu için T-bağlantı kullanılmıştır. Çıkış basıncına bağlı olarak, damlacık oluşumunun nispeten yüksek basınç seviyelerinde kararsız olduğu, düşük basınç seviyelerinde ise damlacıkların hiç oluşmadığı gözlenmiştir. Damlacık oluşumunun kararlılığının artırılması amacıyla X-bağlantı veya akış odaklama yöntemleri (Garstecki et al. 2004) kullanılabilir.
- İlaç araştırma yongası üzerinde yer alan serpantin kanalın, inkübasyon süresince hücrelerin gözlenmesi amacıyla kullanılması öngörülmüştür. Ancak damlacık oluşumu için uygulanması gereken basınç damlacıkların ana kanal içerisinde çok hızlı bir şekilde akmasına neden olmakta, bu durum ise damlacıkların serpantin kanal içerisinde durdurulmasını zorlaştırmaktadır. Bu sorunun çözümü için ise ana kanal üzerine, akış hızının düşürülmesi için

nispeten geniş bir gözlem rezervuarının yerleştirilmesi önerilebilir. Böylelikle oluşan damlacıkların rezervuar içerisine girdiklerinde hızlarını kaybetmeleri ve vakum kesildiğinde hala daha rezervuar içerisinde kalmaları sağlanabilecektir.

- Yine damlacık hızının yüksek olması, damlacık oluşumunun karakterizasyonunu zorlaştırmıştır. Mikroskop üzerine yerleştirilebilecek bir yüksek hızlı kamera temine dilmesi durumunda, damlacık oluşumunun gözlenebilmesi mümkün olacaktır. Böylelikle daha kararlı bir damlacık oluşum sisteminin yonga üzerine entegre edilmesi söz konusu olabilecektir.

REFERANSLAR

- Baechi, D., Buser, R. & Dual, J., 2002. A high density microchannel network with integrated valves and photodiodes. *Sensors and Actuators A: Physical*, 95, pp.77–83.
- Baek, J.Y. et al., 2005. A pneumatically controllable flexible and polymeric microfluidic valve fabricated via in situ development. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 15, pp.1015–1020.
- Carlen, E.T. & Mastrangelo, C. H, 2002. Surface micromachined paraffin-actuated microvalve. *Journal of Microelectromechanical Systems*, 11, pp.408–420.
- Chang, M.-P. & Maharbiz, M.M., 2009. Electrostatically-driven elastomer components for user-reconfigurable high density microfluidics. *Lab on a Chip*, 9, p.1274.
- Edd, J.F. et al., 2008. Controlled encapsulation of single-cells into monodisperse picolitre drops. *Lab on a Chip*, 8, p.1262.
- Edgar, J.S. et al., 2006. Capillary electrophoresis separation in the presence of an immiscible boundary for droplet analysis. *Analytical chemistry*, 78, pp.6948–6954.
- Gadd, J.C. et al., 2008. Sizing Subcellular Organelles and Nanoparticles Confined within Aqueous Droplets. *Analytical chemistry*, 80, pp.3450–3457.
- Garstecki, P. et al., 2004. Formation of monodisperse bubbles in a microfluidic flow-focusing device. *Applied Physics Letters*, 85, p.2649.
- Go, J.S. & Shoji, S., 2004. A disposable, dead volume-free and leak-free in-plane PDMS microvalve. *Sensors and Actuators A: Physical*, 114, pp.438–444.
- Goll, C. et al., 1997. An electrostatically actuated polymer microvalve equipped with a movable membrane electrode. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 7, pp.224–226.
- Gong, Z. et al., 2010. Drug effects analysis on cells using a high throughput microfluidic chip. *Biomedical Microdevices*, 13, pp.215–219.

Grover, W.H. et al., 2006. Development and multiplexed control of latching pneumatic valves using microfluidic logical structures. *Lab on a Chip*, 6, p.623.

Grover, W.H. et al., 2003. Monolithic membrane valves and diaphragm pumps for practical large-scale integration into glass microfluidic devices. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 89, pp.315–323.

Hosokawa, K. & Maeda, R., 2000. A pneumatically-actuated three-way microvalve fabricated with polydimethylsiloxane using the membrane transfer technique. *Journal of micromechanics and microengineering*, 10, p.415.

Hüser, J., 2006. *High-throughput screening in drug discovery*, Wiley-VCH.

Jun Xie, Shih, J. & Yu-Chong Tai, 2003. Integrated surface-micromachined mass flow controller. In *IEEE The Sixteenth Annual International Conference on Micro Electro Mechanical Systems*, Kyoto, pp. 20–23.

Kaigala, G.V., Hoang, V.N. & Backhouse, C.J., 2008. Electrically controlled microvalves to integrate microchip polymerase chain reaction and capillary electrophoresis. *Lab on a Chip*, 8, p.1071.

Kim, J.-H. et al., 2004. A disposable thermopneumatic-actuated microvalve stacked with PDMS layers and ITO-coated glass. *Microelectronic Engineering*, 73-74, pp.864–869.

Kirby, B., 2010. *Micro- And Nanoscale Fluid Mechanics: Transport in Microfluidic Devices*, Cambridge University Press.

Kirby, B.J., Shepodd, T.J. & Hasselbrink Jr., E.F., 2002. Voltage-addressable on/off microvalves for high-pressure microchip separations. *Journal of Chromatography A*, 979, pp.147–154.

Lau, B.T. et al., 2007. A complete microfluidic screening platform for rational protein crystallization. *Journal of the American Chemical Society*, 129, pp.454–455.

Lee, D.E., Soper, S. & Wang, W., 2008. Design and fabrication of an electrochemically actuated microvalve. *Microsystem Technologies*, 14, pp.1751–1756.

Liu, R.H. et al., 2004. Single-use, thermally actuated paraffin valves for microfluidic applications. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 98, pp.328–336.

Manz, A., Graber, N. & Widmer, H.M., 1990. Miniaturized total chemical analysis systems: A novel concept for chemical sensing. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1, pp.244–248.

Nguyen, N.-T. & Wu, Z., 2005. Micromixers—a review. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 15, pp.R1–R16.

Oh, K.W. & Ahn, C.H., 2006. A review of microvalves. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 16, pp.R13–R39.

Pal, R. et al., 2004. Phase Change Microvalve for Integrated Devices. *Anal. Chem.*, 76, pp.3740–3748.

Papavasiliou, A.P., Liepmann, D. & Pisano, A.P., 2000. Electrolysis-bubble actuated gate valve. In *Solid State sensor and Actuator Workshop*, Hilton Head, pp. 48–51.

Potkay, J.A. and Wise, K.D., 2005. An electrostatically latching thermopneumatic microvalve with closed-loop position sensing. In *18th IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems*, pp. 415– 418.

Rich, C.A. and Wise, K.D., 2003. A high-flow thermopneumatic microvalve with improved efficiency and integrated state sensing. *Journal of Microelectromechanical Systems*, 12, pp.201– 208.

Ryu, K.S. et al., 2005. Design and prototyping of a surface micromachined parylene microvalve with hybrid actuation scheme: on-chip thermopneumatic initiation and electrostatic latching. In *9th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences*. pp. 1192–1194.

Selvaganapathy, P., Carlen, E.T. & Mastrangelo, C. H., 2003. Electrothermally actuated inline microfluidic valve. *Sensors and Actuators A: Physical*, 104, pp.275–282.

Song, H., Chen, D.L. & Ismagilov, R.F., 2006. Reactions in droplets in microfluidic channels. *Angewandte Chemie*, 45, p.7336.

Sounart, T.L., Michalske, T.A. & Zavadil, K.R., 2005. Frequency-dependent electrostatic actuation in microfluidic MEMS. *Journal of Microelectromechanical Systems*, 14, pp.125–133.

Thorsen, T., 2002. Microfluidic Large-Scale Integration. *Science*, 298, pp.580–584.

Unger, M.A., 2000. Monolithic Microfabricated Valves and Pumps by Multilayer Soft Lithography. *Science*, 288, pp.113–116.

Wang, Y. et al., 2009. An integrated microfluidic device for large-scale in situ click chemistry screening. *Lab on a Chip*, 9, p.2281.

van der Wijngaart, W. et al., 2007. A Low-Temperature Thermopneumatic Actuation Principle for Gas Bubble Microvalves. *Journal of Microelectromechanical Systems*, 16, pp.765–774.

Yang, B. & Lin, Q., 2007. A latchable microvalve using phase change of paraffin wax. *Sensors and Actuators A: Physical*, 134, pp.194–200.

Yao, T.-J., Walsh, K. & Tai, Y.-C., 2002. Dielectric charging effects on Parylene electrostatic actuators. In *The Fifteenth IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems*, pp. 614 –617.

Yıldırım, E. and Kūlah, H., 2011. Analysis and characterization of an electrostatically actuated in-plane parylene microvalve. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 21, p.105009.

Yildirim, E., Kulah, H. and Arikan, M. A. S., 2011. An electrostatically actuated parylene microvalve for lab-on-a-chip applications. In *16th International Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems Conference*, pp. 250–253.

Yu, C. et al., 2003. Flow Control Valves for Analytical Microfluidic Chips without Mechanical Parts Based on Thermally Responsive Monolithic Polymers. *Analytical Chemistry*, 75, pp.1958–1961.

Zeng, S. et al., 2009. Microvalve-actuated precise control of individual droplets in microfluidic devices. *Lab on a Chip*, 9, p.1340.

TÜBİTAK

PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje No: 111E110
Proje Başlığı: Çip-Üstü-Laboratuvar Sistemleri İçin Tasarlanan Parylene Tabanlı Elektrostatik Mikro Kapakların Karakterizasyonu ve İlaç Araştırma Yongalarında Uygulaması
Proje Yürütücüsü ve Araştırmacılar: Doç Dr. Haluk Külâh
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi: Orta Doğu Teknik Üniversitesi Elektrik-Elektronik Mühendisliği Bölümü
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri: 01.06.2011 – 01.06.2012
Öz (en çok 70 kelime) <p>Bu araştırma projesinin amacı, daha önceden tasarlanmış ve üretimi tamamlanmış olan elektrostatik tahrikli normalde kapalı mikro kapakların akış karakterizasyonunun yapılması ve bu mikro kapakların ilaç araştırma sistemlerinde kullanılabilirliğinin gösterilmesidir. Bu amaçla, bir ilaç araştırma sistemi geliştirilmiş ve ilk testleri tamamlanmıştır. Bunun yanı sıra proje kapsamında, elektrostatik tahrikli mikro kapakların çip-üstü-laboratuvar sistemleri üzerinde entegrasyon amaçlı kullanımı da gösterilmiştir. Böylelikle önerilen mikro kapaklar kullanılarak büyük ölçekli bütünlüklü çip-üstü-laboratuvar sistemlerinin geliştirilmesi mümkün olacaktır.</p>
Anahtar Kelimeler: Mikro kapak, parylene, çip-üstü-laboratuvar, ilaç araştırma sistemleri
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu mu? Evet <input type="checkbox"/> Gerekli Değil <input checked="" type="checkbox"/>
Fikri Ürün Bildirim Formu'nun tesliminden sonra 3 ay içerisinde patent başvurusu yapılmalıdır.
Projeden Yapılan Yayınlar: <ol style="list-style-type: none">1. E. Yıldırım, M. A. S. Arıkan, H. Külâh, "An electrostatic normally closed microvalve for micro total analysis systems," Sensors and Actuators A: Physical, doi: 10.1016/j.sna.2012.05.008.2. E. Yıldırım, E. Özgür, H. Külâh, "A droplet based multi-drug screening system controlled with electrostatic microvalves," submitted to the 16th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences.