

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **240974**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **429003**

(22) Data zgłoszenia: **21.02.2019**

(51) Int.Cl.
C12M 3/00 (2006.01)
C12M 1/00 (2006.01)
C12N 11/04 (2006.01)

(54) **Mikrosystem przepływowy zintegrowany z matami nanowłóknistymi do hodowli i badania regeneracji komórek**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
24.08.2020 BUP 18/20

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
04.07.2022 WUP 27/22

(73) Uprawniony z patentu:

**POLITECHNIKA WARSZAWSKA,
Warszawa, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**ANNA KOBUSZEWSKA,
Grodzisk Mazowiecki, PL
ELŻBIETA JASTRZĘBSKA, Warszawa, PL
DOMINIK KOŁODZIEJEK, Antoniówka
Świerżowska, PL
MICHAŁ WOJASIŃSKI, Warszawa, PL
KAMIL ŻUKOWSKI, Reszel, PL
ZBIGNIEW BRZÓZKA, Warszawa, PL
TOMASZ CIACH, Warszawa, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Iwona Płodzich-Hennig

PL 240974 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest mikrosystem przepływowy zintegrowany z matami nanowłóknistymi do hodowli i regeneracji komórek. Tego typu mikrosystemy znajdują zastosowanie w mikrobioanalizie, inżynierii tkankowej i komórkowej, a także medycynie regeneracyjnej. Przedmiot wynalazku może przyczynić się do tworzenia modeli komórkowych użytecznych w badaniach komórkowych *in vitro*.

Obecnie wiele zespołów badawczych prowadzi badania z wykorzystaniem hodowli komórkowych w warunkach *in vitro*, które mają być alternatywą dla badań na zwierzętach. Ponadto, badania laboratoryjne nad opracowaniem nowych metod leczenia chorób, zwłaszcza tych związanych z niewydolnością serca, wykonywane są na dwuwymiarowych (2D) modelach komórkowych, które nie odwzorowują tkanki mięśnia sercowego w warunkach *in vivo*. Dlatego też, konieczne jest opracowanie nowych modeli tkankowych i narzędzi usprawniających badania przeprowadzane przez zespoły badawcze. Jednym z nowatorskich rozwiązań, pozwalającym na usprawnienie badań biologicznych w tym zakresie, jest wykorzystanie mikrosystemów przepływowych typu *Lab-on-a-Chip*, w których komórki, a w szczególności komórki mięśnia sercowego hodowane są na nanowłóknach polimerowych. Nanowłókna mają służyć jako rusztowania do prowadzenia hodowli komórek mięśnia sercowego oraz kierunkować ich równoległe ułożenie, co naśladować ma tkankę mięśnia sercowego w warunkach *in vivo*. W literaturze niewiele jest przykładów tego typu rozwiązań technologicznych pozwalających na uzyskanie hodowli komórek mięśnia sercowego na nanowłóknach polimerowych oraz do próby ich regeneracji po uszkodzeniu za pomocą komórek macierzystych. Zazwyczaj proponowane są rozwiązania mikrosystemów, w których prowadzona jest dwuwymiarowa hodowla komórek lub hodowla przestrzenna z zastosowaniem hydrożelu lub sferoidów. Takie rozwiązania uniemożliwiają jednak uzyskanie ściśle sprecyzowanego kierunku wzrostu komórek. Ukierunkowany (równoległy) wzrost komórek serca zagwarantowany jest przez równoległe ułożenie nanowłókien w macie nanowłóknistej.

Dokument KR20190088337 ujawnia sposób wytwarzania tkanki biomimetycznej związanej z membraną bazową z nanowłókien utworzoną przez elektroprzędzenie oraz urządzenia mikroprzepływowego zawierającego chip biomimetyczny złożony z wielu tkanek biomimetycznych utworzonych w ten sposób z membraną bazową. Konkretnie wynalazek ujawnia sposób formowania sztucznej membrany na powierzchni żywej tkanki, gdzie elektroprzędzenie polega na przykładaniu pola elektrycznego pomiędzy elektrodę przędzalniczą a roztwór elektrolitu w celu elektrospiniwania materiału polimerowego tworzącego włókna w postaci nanowłókien. Ujawniona w dokumencie cienka membrana nie jest tym samym co mata nanowłóknista według wynalazku, gdyż jej zasadniczą funkcją jest naśladowanie błony podstawnej w danej tkance oraz imitowanie bariery fizycznej w ludzkim ciele pomiędzy komórkami dwóch różnych linii.

Dokument WO2006068421 ujawnia siatkę do hodowli komórkowej, w której liniowe nanowłókna składające się z polihydroksyalkanianu; lub polihydroksyalkanianu i kolagenu, żelatyny lub ich mieszaniny są usieciowane. Siatka do hodowli komórkowej według tego wynalazku służy do hodowli komórek nowotworowych, które łatwo do niej przylegają. Dokument US2014046236 ujawnia warstwowe rusztowanie chitozanowe składające się z częściowo stopionych warstw zawierających membranę z nanowłókien chitozanu oraz gąbkę chitozanową. Rusztowanie przeznaczone jest do stosowania jako opatrunek na rany w medycynie regeneracyjnej.

Dokument US9655995 ujawnia kompozycje zawierające rusztowanie z nanowłókien, które jest zaszczerpione jedną lub większą liczbą odpowiednich komórek i ma konfigurację plecioną, która naśladuje strukturę tkanki, takiej jak tkanka serca oraz sposób leczenia uszkodzonej tkanki serca gdzie nakłada się rusztowanie na uszkodzoną tkankę serca i zszywa. Przedstawione w stanie techniki rozwiązania nie ujawniają mikrosystemów przepływowych typu *Lab-on-a-Chip*, a jedynie rusztowania nanowłókniste do hodowli komórkowych, które wytworzono metodą elektroprzędzenia. Komórki rosnące na rusztowaniach przedstawionych w stanie techniki hodowane są w warunkach statycznych w tzw. makroskali, w związku z tym nie są to warunki w pełni odwzorowujące warunki panujące w ludzkim organizmie (warunki *in vivo*). Natomiast mikrosystem przepływowy zaproponowany w wynalazku w dużym stopniu umożliwia imitację warunków fizjologicznych danej tkanki poprzez zapewnienie przepływu laminarnego występującego w mikrosystemach przepływowych oraz wysoki stosunek powierzchni do objętości, który zapewnia nieograniczony dostęp substancji odżywczych i tlenu do komórek.

Celem wynalazku jest opracowanie mikrosystemu przepływowego umożliwiającego hodowlę komórek mięśnia sercowego oraz ich regenerację po uszkodzeniu. Zaproponowany mikrosystem

przepływowy jest układem dwóch płytek polimerowych, w których wytworzono sieć mikrokanalów i mikrokomór hodowlanych z umieszczonymi w nich matami nanowłóknistymi. Jest to mikrosystem przepływowy typu *Lab-on-a-Chip* do hodowli komórek mięśnia sercowego oraz badania wpływu czynników zewnętrznych (np. związki, inne komórki) na tę hodowlę. Przedstawiony mikrosystem przepływowy jest mikrouządzeniem, które z powodzeniem może zostać wykorzystane w pracach badawczych (w badaniach przedklinicznych).

Mikrosystem według wynalazku stanowi hybrydowy układ składający się z hydrofobowej płytki górnej z polimeru, korzystnie poli(dimetylosiloksanu) (PDMS), wyposażonej w cztery liniowe mikrokanaly, dwa boczne i dwa środkowe, z trzema mikrokomorami hodowlanymi o podłużnym kształcie każdy; z hydrofobowej płytki dolnej z polimeru, korzystnie poli(dimetylosiloksanu) (PDMS), wyposażonej w dwanaście mikrozagłębień, tworzących macierz 4×3, w których umieszczono maty nanowłókniste, korzystnie polilaktydowe lub poliuretanowe. Mikrokanaly w płytce górnej znajdują się w miejscu odpowiadającym środkowi mikrozagłębień, w których umieszczono maty nanowłókniste. W górnej płytce polimerowej znajdują się dwa otwory wlotowe: jeden połączony z trzema mikrokanalami (jednym bocznym i dwoma środkowymi), oraz drugi połączony z dwoma mikrokanalami (drugim bocznym i sąsiadującym z nim mikrokanalem środkowym). Przy czym jeden mikrokanal środkowy jest wspólny dla obydwu otworów wlotowych. Dwa osobne otwory wlotowe umożliwić mają równoczesne wprowadzenie np. dwóch linii komórkowych, co pozwolić może na hodowlę kokultury komórek w jednym z mikrokanalów. Z drugiej strony mikrokanalów znajdują się trzy otwory wylotowo-wlotowe: dwa osobne dla mikrokanalów bocznych oraz jeden wspólny dla mikrokanalów środkowych. Otwory wylotowo-wlotowe służyć mogą do wprowadzania czynników zmieniających warunki hodowli. Obydwie płytki polimerowe są ze sobą trwale połączone przy użyciu generatora plazmy tlenowej. Układ mikrokomór hodowlanych oraz mikrozagłębień z umieszczonymi matami nanowłóknistymi jest liniowy, czterorzędowy i zgodny z układem mikrodołków hodowlanych w standardowej płytce wielodołkowej Sarstedt 5022411.

Korzystnie mikrokanaly mają szerokość 300 μm i wysokość 200 μm .

Korzystnie mikrokomory hodowlane mają wymiary 1000 μm × 6400 μm i wysokości 200 μm .

Korzystnie mikrozagłębienia mają wymiary 4000 μm × 6400 μm i wysokości 500 μm .

Korzystnie maty nanowłókniste mają wymiary 4000 μm × 6400 μm i wysokości 500 μm .

Mikrostruktury mikroukładu na obu płytkach polimerowych zostały wytworzone w PDMS. PDMS jest transparentnym, przepuszczalnym dla gazów, biokompatybilnym materiałem polimerowym, który daje możliwość odwzorowywania mikrostruktur metodą replikacyjną. Formę do wytworzenia mikrostruktur w płytce polimerowej górnej wykonano metodą fotolitografii, która polega na naświetleniu i utwardzeniu światłem UV filmu kapilarnego w ściśle określonych miejscach. Formę do wytworzenia mikrostruktur w płytce polimerowej dolnej wykonano metodą mechaniczną, korzystnie metodą mikro-frezowania, w płytce polimerowej z poli(metakrylanu metylu) (PMMA). Metoda mikro-frezowania polega na usuwaniu warstw materiału przez obracający się mikro-frez w ściśle określonych miejscach. Uzyskana forma może być używana wielokrotnie. Formy do odwzorowania płytki górnej i dolnej zalano mieszaniną prepolimeru PDMS i czynnika sieciującego zmieszanych w stosunku wagowym 9:1 dla płytki dolnej i usieciowano w podwyższonej temperaturze (ok. 75°C). Górną płytę sieciowano przez 60 min, do całkowitego usieciowania polimeru. Płytkę dolną została usieciowana w podwyższonej temperaturze (ok. 75°C) częściowo przez 21 minut. Następnie, w dolnej płytce polimerowej w mikrozagłębieniach umieszczano maty nanowłókniste i tak przygotowana dolna płytka polimerowa z zatopionymi matami umieszczana była w podwyższonej temperaturze (ok. 75°C) na kolejne 39 min, w celu zakończenia sieciowania się PDMS. Maty nanowłókniste wykonano metodą rozdmuchu roztworu polimeru. Metoda ta polega na wykorzystaniu dwóch dysz, w których dyszą wewnętrzną przepływa roztwór polimeru, a dyszą zewnętrzną sprężone powietrze. Na wylocie dyszy zewnętrznej, ulegające rozprężeniu powietrze zwiększa swoją prędkość, co prowadziło do wyciągnięcia włókna polimeru z kropli roztworu. Włókna zbierano na obracającym się kolektorze z kontrolą szybkości obrotowej, co pozwala na kontrolę ukierunkowania włókien. Główne elementy mikrosystemu: płytka górna polimerowa oraz płytka dolna polimerowa z zatopionymi matami nanowłóknistymi zostały ze sobą trwale połączone za pomocą plazmy tlenowej, która wytworzona została przy użyciu generatora plazmy tlenowej.

Mikrosystem według wynalazku został zaprojektowany w taki sposób, że możliwa jest hodowla komórek dwóch linii, korzystnie komórek mięśnia sercowego i komórek macierzystych oraz ich kokultura w różnych warunkach. Komórki jednej linii w postaci zawiesiny komórkowej w medium hodowlanym wprowadzane są jednym otworem wlotowym połączonym z trzema mikrokanalami (jednym bocz-

nym i dwoma środkowymi). Komórki drugiej linii komórkowej wprowadzane są w postaci zawiesiny drugim otworem wlotowym, który połączony jest z dwoma mikrokanalami (drugim bocznym i sąsiadującym z nim mikrokanalem środkowym). Otwory wlotowe przechodzą w mikrokanaly, które umożliwiają przepływ zawiesiny komórkowej i umieszczenie jej w mikrodołkach hodowlanych, na matach nanowłóknistych. W ten sposób uzyskiwane mogą być kolejno: hodowla komórek jednego typu – w jednym mikrokanale bocznym i jednym środkowym, kokultura dwóch typów komórek – w drugim mikrokanale środkowym, hodowla komórek drugiego typu – w drugim mikrokanale bocznym.

Mikrosystem według wynalazku daje możliwość prowadzenia w tym samym mikroukładzie niezależnych hodowli dwóch typów komórek oraz ich kokultury w różnych warunkach na matach nanowłóknistych. Mikrosystem według wynalazku może stać się alternatywnym rozwiązaniem pozwalającym na stworzenie modelu tkanki mięśnia sercowego oraz na badanie wpływu innej linii komórkowej, korzystnie komórek macierzystych na regenerację uszkodzonych komórek mięśnia sercowego. Mikrosystem według wynalazku może posłużyć jako narzędzie do opracowania nowych metod terapeutycznych pozwalających na leczenie niewydolności serca.

Mikrosystem według wynalazku został zilustrowany w przykładzie wykonania na rysunku, na którym Fig. 1 przedstawia widok perspektywiczny kolejnych warstw mikrosystemu, Fig. 2 przedstawia widok mikrosystemu z góry, a Fig. 3 przedstawia przekrój poprzeczny przez środek mikrokomory hodowlanej.

Mikrosystem wykonano z hydrofobowych płytek polimerowych górnej 1 i dolnej 2 z poli(dimetylosiloksanu) (PDMS). Pierwszym etapem wytworzenia mikrosystemu było zaprojektowanie geometrii mikrostruktur w programie AutoCAD. W celu wykonania formy do odwzorowania mikrostruktur w płytce polimerowej górnej 1 wykonano tzw. maskę. Zaprojektowany wzór mikrostruktur został naświetlony na folii w wysokiej rozdzielczości 3600 dpi. Następnie maska została wykorzystana do wykonania formy z wypukłymi mikrostrukturami, która wytworzona była w filmie kapilarnym o grubości 200 μm metodą fotolitografii. Metoda fotolitografii polega na naświetleniu i utwardzeniu filmu kapilarnego światłem UV w ściśle określonych miejscach, a następnie odmyciu filmu kapilarnego z miejsc, które nie były naświetlone. W wyniku tych działań powstała forma do wytworzenia płytki górnej 1 z modelem sieci mikrokanalów o wysokości 200 μm .

Zaprojektowany model CAD płytki polimerowej dolnej 2 przetłumaczono na język maszynowy przy pomocy modułu CAM – SolidCAM. Następnie wzór geometrii mikrostruktur płytki dolnej 2 został odwzorowany w formie (płytką z PMMA o wymiarach 100 mm \times 100 mm) za pomocą metody mikro-frezowania. W pierwszym etapie usunięto wierzchnią warstwę PMMA o grubości około 125 μm . Następnie wykonano właściwą wypukłą formę, korzystnie pieczętkę. Pieczętki wykonane zostały wirującym (prędkość 15 000 obrotów/min) frezem o średnicy 500 μm . Frez poruszał się z prędkością liniową 500 mm/minutę w płaszczyźnie równoległej do powierzchni frezowanej. Zachodzenie frezu przy sąsiednich przejazdach nastawiono na 70%. Dzięki takim parametrom zminimalizowana została chropowatość powierzchni, która powstała w wyniku frezowania. W wyniku tych działań powstała forma do wytworzenia płytki dolnej 2 z modelem mikrozagłębień 4 o wysokości 500 μm . Usunięto wióry z pieczętki, a następnie umyło ją i osuszono.

Na przygotowaną formę (pieczętkę) do wytworzenia górnej płytki 1 wylano płynny PDMS (zmieszany prepolimer i odczynnik sieciujący w stosunku wagowym 9:1) i pozostawiono do usieciowania w podwyższonej temperaturze (ok. 75°C) przez 60 min. W ten sposób odwzorowano mikrostrukturę w górnej płytce PDMS, na którą składały się cztery mikrokanaly: dwa boczne 1a i 1d oraz dwa środkowe 1b i 1c. Każdy mikrokanal zawierał trzy mikrokomory hodowlane 5 o podłużnym kształcie. Poprzez zamrożenie w ciekłym azocie usieciowanej górnej płytki polimerowej 1, a następnie wywiercenie otworów za pomocą wiertła o średnicy 1,3 mm, wykonano otwory wlotowe 6 i 7 oraz wylotowo-wlotowe 8 i 9. Otwór wlotowy 6 połączony jest z trzema mikrokanalami (jednym bocznym 1a i dwoma środkowymi 1b i 1c), natomiast otwór wlotowy 7 połączony jest z dwoma mikrokanalami (drugim bocznym 1d i sąsiadującym z nim mikrokanalem środkowym 1c). Z drugiej strony mikrostruktury dwa mikrokanaly boczne 1a i 1d zaopatrzone są w dwa osobne otwory wylotowo-wlotowe 8, natomiast mikrokanaly środkowe 1b i 1c zakończone są kolejnym otworem wylotowo-wlotowym 9.

Na przygotowaną formę (pieczętkę) do wytworzenia dolnej płytki 2 wylano płynny PDMS (prepolimer i odczynnik sieciujący zmieszany w stosunku wagowym 9:1) i pozostawiono do częściowego usieciowania w podwyższonej temperaturze (ok. 75°C) przez 21 minut. W ten sposób odwzorowano w dolnej płytce polimerowej 2 dwanaście mikrozagłębień 4, w których zatopiono maty nanowłókniste 3 wykonane z poli-L-laktydu lub poliuretanu. Następnie płytkę dolną 2 z matami

nanowłóknistymi 3 pozostawiono do całkowitego usieciowania w podwyższonej temperaturze (ok. 75°C) przez kolejne 39 min.

Maty nanowłókniste 3 wytworzono za pomocą metody rozdmuchu roztworu polimeru. Metoda ta polega na wykorzystaniu układu koncentrycznych dysz (dysza zewnętrzna i wewnętrzna), systemu dostarczania sprężonego powietrza, systemu dostarczania roztworu polimeru oraz obrotowego bębna jako kolektora. Roztwór polimeru dostarczono do dyszy wewnętrznej za pomocą pompy strzykawkowej z prędkością przepływu 30 ml/h, natomiast sprężone powietrze dostarczono do dyszy zewnętrznej przy ciśnieniu wlotowym 0,1 MPa za pomocą pompy powietrza. Dzięki rozprężeniu się powietrza na wylocie dysz, zwiększało ono swoją prędkość, co pozwoliło na wyciągnięcie włókien polimeru, a następnie zebraniu ich na obracającym się bębnie (prędkość kolektora wynosiła 11 000 obrotów/min, co pozwalało na ukierunkowanie włókien w strukturze otrzymywanej maty). Otrzymane maty nanowłókniste ogrzewano przez noc w temperaturze 50°C, co pozwoliło na odparowanie resztek rozpuszczalnika, w którym rozpuszczono polimer. Po tym czasie wycięto maty nanowłókniste 3 o odpowiednich wymiarach.

Płytkę polimerową górną 1 i płytkę polimerową dolną 2 z zatopionymi matami nanowłóknistymi 3 poddano działaniu plazmy tlenowej i trwale połączono ze sobą. Płytki 1 i 2 połączono w taki sposób, że mikrokomory hodowlane 5 w górnej płytce 1 znajdują się w miejscu odpowiadającym środkowi mikrozagłębienia 4 w dolnej płytce 2. W wykonanych otworach wlotowych 6, 7 oraz wylotowo-wlotowych 8 i 9 umieszczono wężyki.

Mikrosystem według wynalazku wykorzystano do hodowli i analizy wzrostu komórek mięśnia sercowego (*H9C2*) oraz mezenchymalnych komórek macierzystych (MSC) na matach nanowłóknistych wykonanych z poliuretanu. W tym celu, wykonany przepływowy mikrosystem wysterylizowano za pomocą światła UV. Następnie, otworami wlotowymi 6 i 7 wprowadzono do mikrosystemu medium hodowlane i inkubowano przez 24 h. Po tym czasie, do mikrokomór komórek hodowlanych 5 wprowadzono przez otwór wlotowy 6 zawiesinę komórek *H9C2*, natomiast otworem wlotowym 7 zawiesinę komórek MSC. W ten sposób uzyskiwano różne typy hodowli w mikrokomorach hodowlanych 5 każdego z mikrokanalów 1a–1d: hodowla komórek *H9C2* – w mikrokanale bocznym 1a i środkowym 1b, kokultura dwóch typów komórek – w mikrokanale środkowym 1c, hodowla komórek MSC – w mikrokanale bocznym 1d. Wprowadzone komórki inkubowano przez 24 godziny w inkubatorze w temp. 37°C i atmosferze 5% CO₂. W celu jakościowej analizy żywotności komórek hodowanych w mikrosystemie, przez otwory wylotowo-wlotowe 8 i 9 wprowadzono roztwór barwników fluorescencyjnych – kalceiny-AM o stężeniu 2 mM oraz jodku propidyny o stężeniu 1 mg/ml i mikrosystem inkubowano przez 10 minut w inkubatorze. Z wykorzystaniem analizy mikroskopowej dokonywano oceny żywotności komórek oraz ich ukierunkowanego wzrostu. Do mikrosystemu mogą być wprowadzone kolejno medium hodowlane otworami wylotowo-wlotowymi 8 i czynnik symulujący niedotlenienie komórek otworem wylotowo-wlotowym 9. Dzięki temu mikrosystem może być wykorzystany do symulacji modelu choroby serca lub badania regeneracji komórek mięśnia sercowego.

Zastrzeżenia patentowe

1. Mikrosystem przepływowy zintegrowany z matami nanowłóknistymi do hodowli i badania regeneracji komórek mięśnia sercowego posiadający system mikrokanalów i mikrozagłębień na maty nanowłókniste oraz otwory wlotowe i wylotowe wykonane w połączonych trwale płytkach polimerowych, **znamienny tym**, że w hydrofobowej górnej płytce polimerowej (1) znajdują się cztery liniowe mikrokanaly, mianowicie dwa boczne (1a) i (1d) i dwa środkowe (1b) i (1c) z trzema mikrokomorami hodowlanymi (5) o podłużnym kształcie każdy a w hydrofobowej dolnej płytce polimerowej (2) znajduje się dwanaście mikrozagłębień (4), tworzących macierz 4×3, w których umieszczono maty nanowłókniste (3), ponadto w górnej płytce (1) znajdują się dwa otwory wlotowe: jeden otwór (6) połączony z trzema mikrokanalami – jednym bocznym (1a) i dwoma środkowymi (1b) i (1c), oraz drugi otwór (7) połączony z dwoma mikrokanalami – drugim bocznym (1d) i sąsiadującym z nim mikrokanalem środkowym (1c), z drugiej strony mikrokanalów znajdują się trzy otwory wylotowo-wlotowe: dwa osobne (8) dla mikrokanalów bocznych (1a) i (1d) oraz jeden wspólny (9) dla mikrokanalów środkowych (1b) i (1c), przy czym płytki (1) i (2) są ze sobą trwale połączone przy użyciu generatora plazmy tlenowej a układ mikrokomór hodowlanych (5) w mikrosystemie jest liniowy,

czterorzędowy i zgodny z układem dołków hodowlanych na standardowej płytce wielodołkowej Sarstedt 5022411, przy czym hydrofobowe płytki górna (1) i dolna (2) wykonane są z poli(dimetylosiloksanu) oraz maty nanowłókniste (3) wykonane są z poliuretanu lub polilaktydu.

2. Mikrosystem według zastrz. 1, **znamienny tym**, że mikrokanaly (1a–1d) mają szerokość 300 μm i wysokość 200 μm , mikrokomory hodowlane (5) mają wymiary 1000 μm \times 6400 μm i wysokość 200 μm oraz mikrozagłębienia (4) mają wymiary 4000 μm \times 6400 μm i wysokość 500 μm .
3. Mikrosystem według zastrz. 1, **znamienny tym**, że maty nanowłókniste (3) mają wymiary 4000 μm \times 6400 μm i wysokość 500 μm .

Rysunki

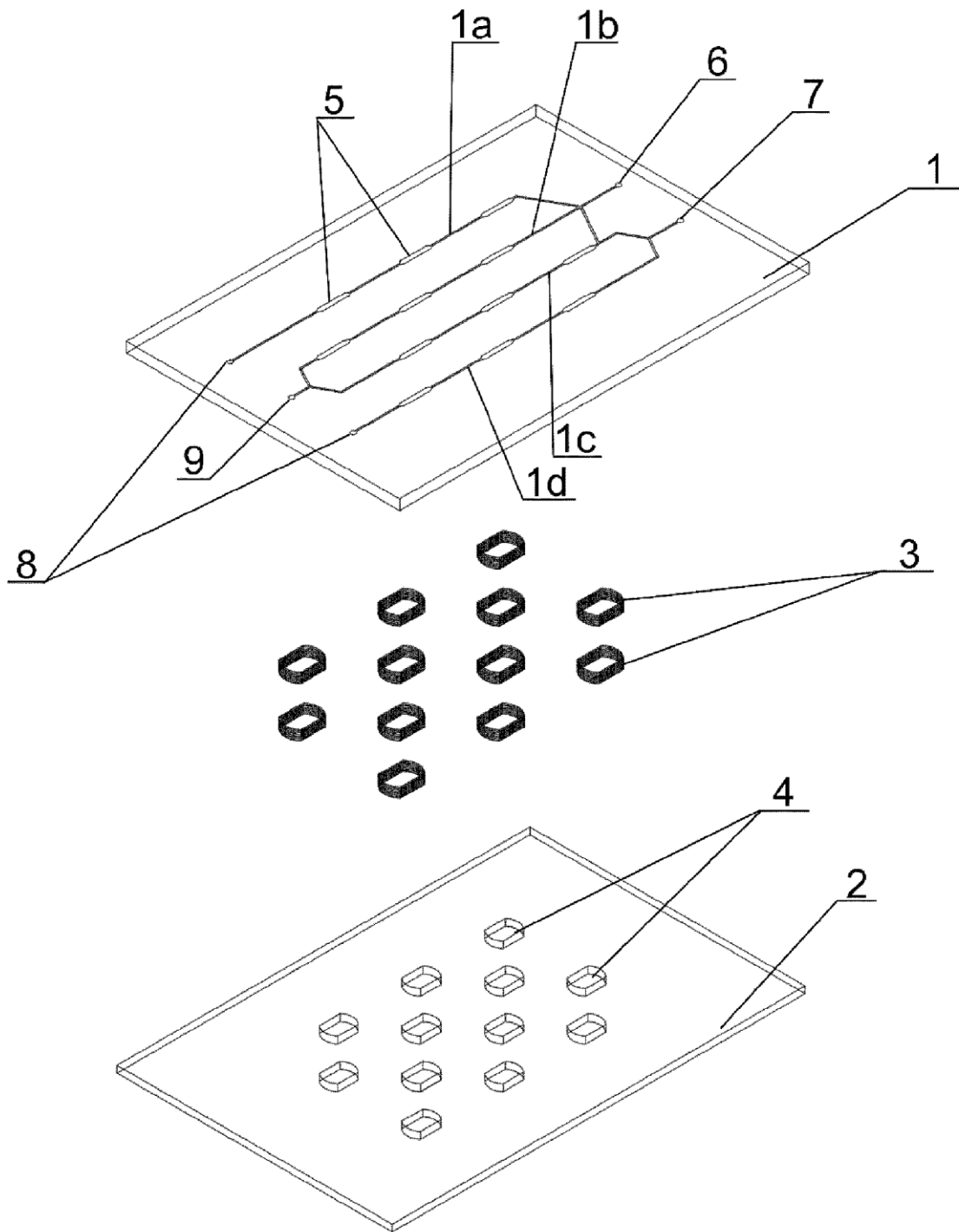


Fig.1

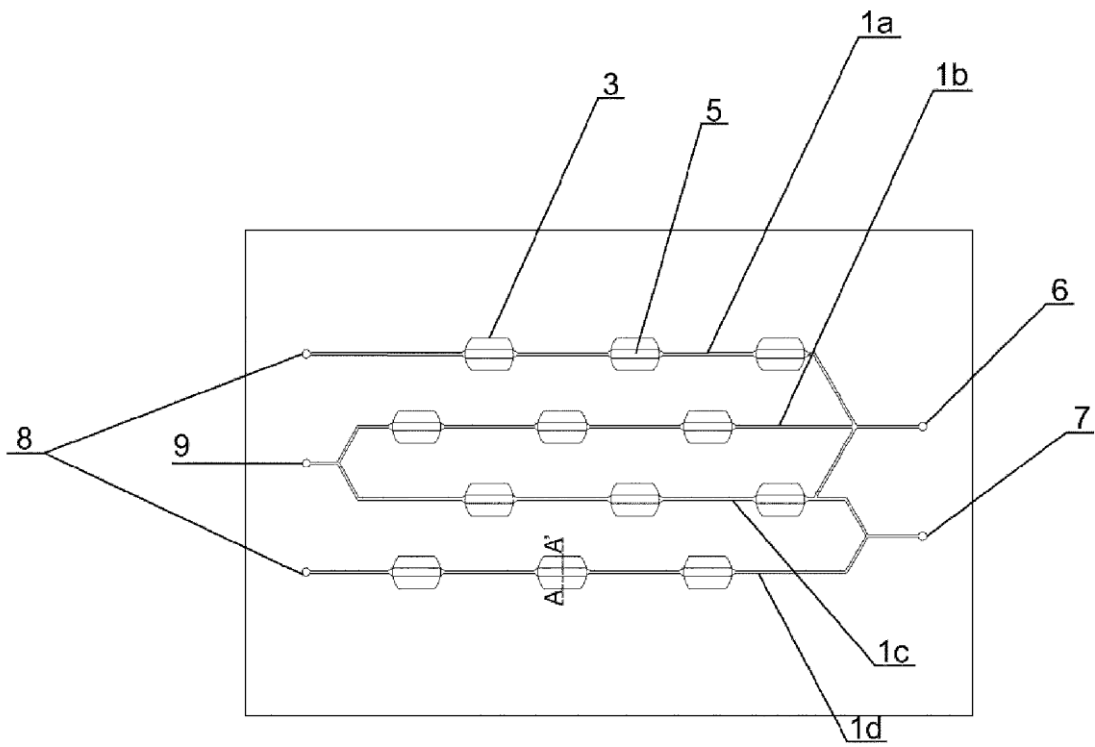


Fig. 2

A - A'

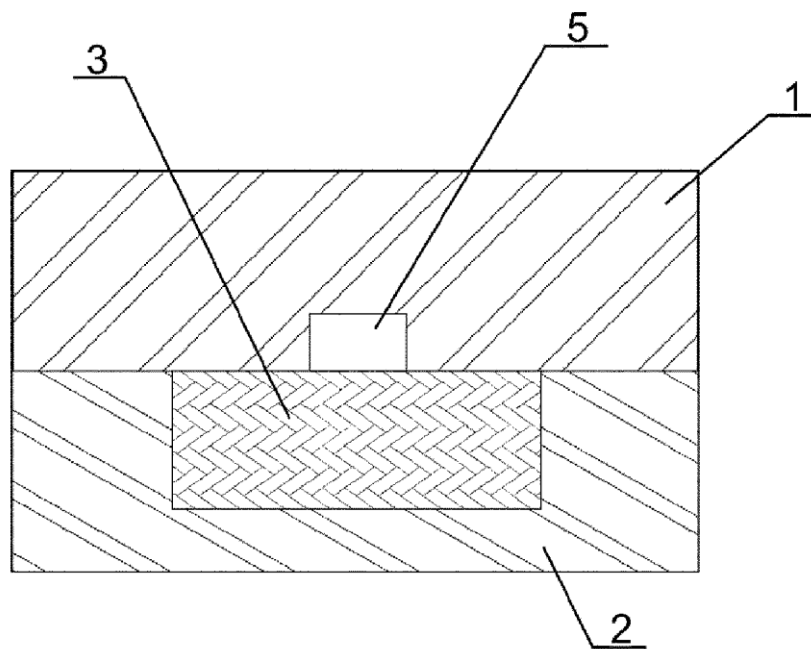


Fig. 3