

Gailu mikro-fluidiko analitikoetarako osagaien garapen eta azterketa

Jaione Etxebarria Elezgarai¹, Susana Carregal-Romero², Charles Lawrie^{3,5}, Fernando Benito-Lopez⁴, Lourdes Basabe Desmots^{1,5*}

BIOMICS-microfluidics Research group, Microfluidics Cluster UPV/EHU ikerketa taldea, Zoologia eta Animalia Zelulen Biologia Saila, Euskal Herriko Unibertsitatea, Gasteiz (1), Bionanoplasmonics Laboratory, CIC biomaGUNE, Donostia (2), Onkologia Saila, Biodonostia Osasun Ikerketa Institutua, Donostia (3), AMMa LOAC Research Group, Microfluidics Cluster UPV/EHU ikerketa taldea, Kimika Analitikoa Saila, Euskal Herriko Unibertsitatea, Gasteiz (4), IKERBASQUE Zientziarako Euskal Fundazioa, Bilbo (5)

Jaione.etxebarria@ehu.eus

Laburpena

Lan honetan minbiziaren diagnosi goiztiarrerako eta tratamenduen egokitzapenerako kontzeptu berri bat aurkezten da, non gailu hibrido miniaturizatu batekin odoleko DNA zirkulatzaila analizatuz, kasuan kasuko mutazioaren presentziarik ote dagoen ezagutu nahi den. Egitura hibridodun gailua paperezko zein material polimerikozko mikro-egiturez osatuta egongo da eta laginaren prestakuntzarako, seinalearen amplifikaziorako eta detekziorako modulu ezberdinak izango ditu. Halaber, analisiak *in situ* egin eta emaitzak denbora gutxian eskuratzeko aukera emango digu, kostu gutxiko analisisekin pazientearen jarraipen egokituago bat egin ahal izateko.

Hitz gakoak: Mikro-teknologiak, diagnostiko azkarra, *in situ* analisisa, txip mikro-fluidiko hibridoak.

Abstract

This work presents a new concept of a hybrid Point-of-Care (POC) device developed for the detection of cancer biomarkers in blood, circulating DNA, for early cancer diagnostics. The device is composed of both, paper and polymeric based self-powered microfluidic structures and it includes several modules with different functions: sample preparation, signal amplification and detection. This POC device will enable in situ analysis and quick delivery of results, as well as a low cost tool for diagnostics which could impact clinical decision making and personalized medicine.

Keywords: Microtechnology, rapid diagnostic systems, in situ analysis, hybrid microfluidic devices.

1. Sarrera eta motibazioa

Azken urteetan mikro-teknologietan emandako aurrerakuntzek Lab-on-a-chip (LOC) edo Point-of-Care (POC) diagnosi azkarreko gailu miniaturizatuak garatzea ahalbidetu dute. Teknologia berritzaile hauek hainbat ezagutza esparru biltzen dituzten sistema integratu multifuntzionalak dira eta aplikazio mediko eta biologikoetarako aukera handiak eskaintzen dituzte (Vilkner *et al.*, 2004; Dittrich *et al.*, 2006). Berauen abantaila nagusiak erantzun-denbora baxuak, errektibo eta laginen erabilera minimoak, eta analisi biologikoen errendimendu hobekuntza dira (Thorsen *et al.*, 2002). Gainera, miniaturizazioari esker, laborategitik urrun gaixotasun ezberdinak *in situ* detektatzeko balio dute, azkar batean emaitzak jakinez (Piraino *et al.*, 2016). Gaur egun, erronka nagusia sentsibilitate eta efikazia altuko gailu autonomo eta automatizatuak sortzea da, betiere erabilera erraza eta kostu baxua eskainiz. Bestetik, sistema gehienek lagina bere egoera normalean erabiltzea bilatzen dute, lagina zuzenean eta inolako aurretratamendurik gabe analizatu ahal izateko (Gubala *et al.*, 2012).

Lan honetan INDICATE kontzeptu berritzailea aurkezten da, “In vitro minbizi diagnosi testa” deritzona (IN vitro DIagnostics for CANcer TESting) eta ClearBlue™ obulazio testa bezalako *in vitro* diagnosi tresnetan inspiratuta dagoena. INDICATE gailua pazientearen odol lagin bat erabiliz minbiziaren diagnostiko goiztiarra ahalbidetuko duen “biopsia-likidoa” da. 1. irudian erakusten den prototipoaren izaera ez-inbaditzaile eta eramangarriak oso erakargarri egiten du

gailu hau medikuaren kontsultan bertan, laborategitik urrun eta makina espezializatu garestirik erabili gabe, minbizidun pazienteen gaixotasunaren zein tratamenduen jarraipena egiteko.

1. irudia. Haurdunaldi testaren gisako INDICATE tresna eramangarriaren diseinu orokorra



2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

POC sistema analitikoak aplikazio errealean inplementatu eta emaitza onak lortu ahal izateko beharrezkoa da kontrol mikro-fluidiko zorrotza izatea zirkuitu fluidiko guztian zehar. Gaur egun kontrol mikro-fluidikorako osagai ugari aurki ditzakegu eta horien artean mikro-balbulak eta mikro-ponpak dira garrantzitsuenak. Analisisirako sistema autonomoak egiterako orduan osagai autopropulstatuak erabiltzea interesgarria denez, azken urteetan mota honetako osagaien sorta zabala aurki daiteke (Cha e Kim, 2011; Liang *et al.*, 2011; Kokalj *et al.*, 2014). Orain arte fabrikazio teknika eta material ezberdinak erabili dira osagai hauek garatzeko. Tradizionalki materialik ohikoenak beira eta silizioa izan dira, baina gaur egun jada material berri ugari erabiltzen dira, horien artean zabalduenak polimeroak izanik. Honekin batera, fabrikazio teknika berriak sortu dira azken hamarkadetan, moldekatze termikoa, injekzio bidezko moldekatzea, laser bidezko fabrikazioa edo azkenaldian indarra hartzen ari den 3D inprimaketa esaterako (Amin *et al.*, 2016). Joera honi jarraiki, suspertzen ari den teknologia bat material polimerikoen desgasifikazio bidezko zirkuitu fluidikoen kontrola da. Mikro-ponpak material elastomeroetan modularki diseinatzeke aukera dago, gero txip mikro-fluidikoei gehituz mikro-kanalen barruko emarien kontrola sustatzeko. Kasu honetan emaria ponparen diseinuaren menpekoea da soilik eta ez txiparen menpekoea (Li *et al.*, 2012).

Ildo horretan, lan honen helburua INDICATE teknologia garatzeko egindako aurrerapenak erakustea da, osagai mikro-fluidikoen diseinu, fabrikazioa eta funtzionamendua erakutsiz. INDICATE polimerozko egitura mikro-fluidikoez eta alboko fluxudun paperezko tirez osatuta egongo da (ingelesez Lateral Flow Assay, LFA). Polimero zurrunk erabiliko dira likidoaren ibilbiderako mikro-kanalek eta errektiboentzako mikro-gordailuek osatuko duten zirkuitu mikro-fluidikoak 3D inprimaketa bidez fabrikatzeko. Polimerozko txipean emaria sortzeko PoliDiMetilSiloxano (PDMS) elastomerozko ponpa autopropulstatuak erabiliko dira. INDICATE gailuak paperezko LFA egitura bat izango du bisualki analitoea detektatu ahal izateko. LFA-etan emariak paperak berez daukan kapilaritate ahalmenari esker lortu daitezke baina likido kantitate handien erabilera bermatzeko material bereziak gehitu behar izaten zaizkie. Beraz azkenik txip hibridoak garatuko da polimero, elastomero eta paperezko egiturak elkartuz eta integrazioaren egokitasuna lagin bolumen handietarako (>200 ul) aztertuko da.

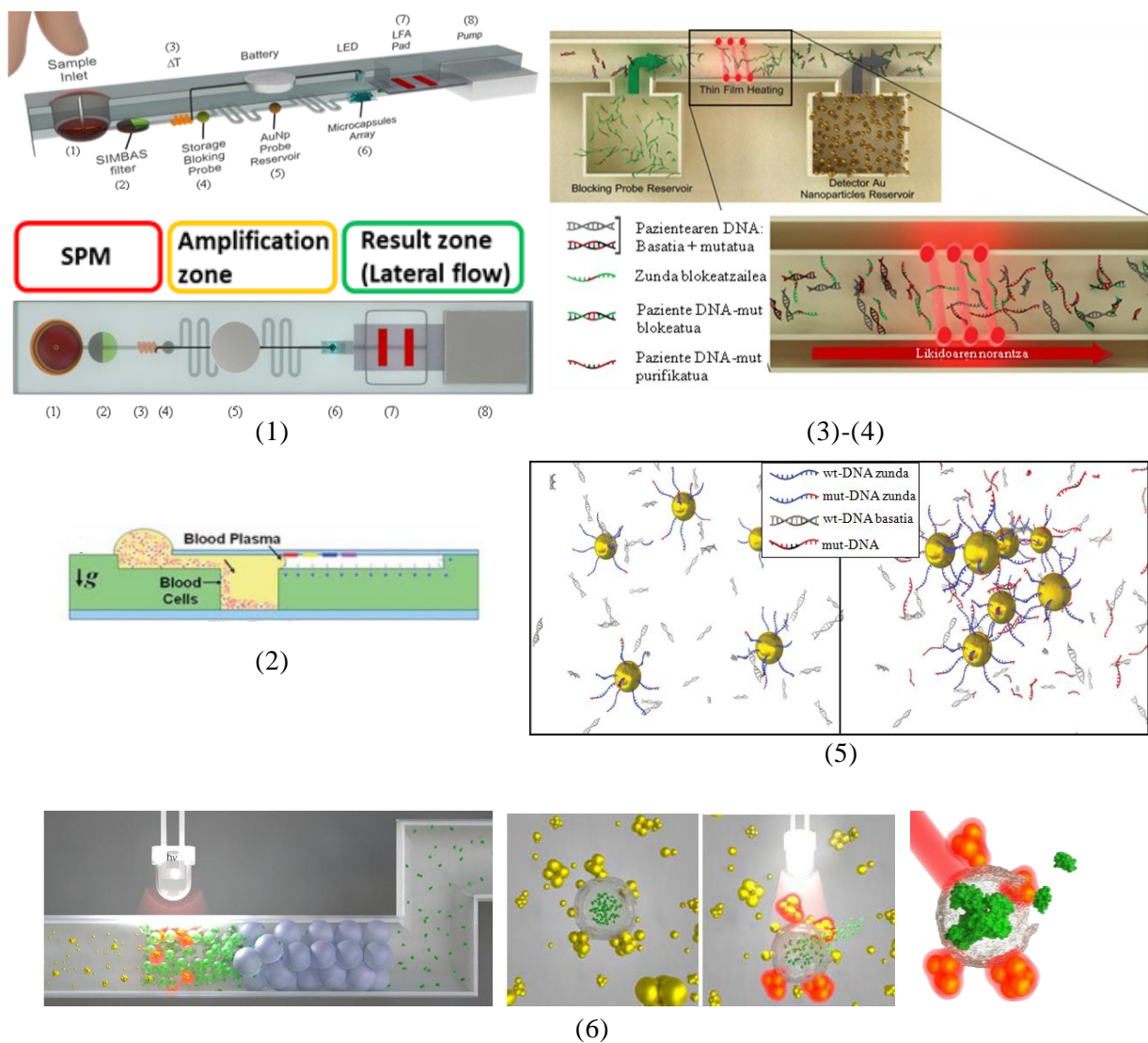
3. INDICATE gailurako osagai mikro-fluidikoen diseinu eta garapena

Aurrez aipatu bezala INDICATE gailua sistema integratu multifuntzionala izango da eta 2.1. irudiko eskeman erakusten diren hainbat etapa biologiko eta mikro-fluidiko bilduko ditu, honako hau izanik jarraitu beharreko mekanismoa: Pazientearen odol lagina gailuan sartzen da eta filtroan garbitzen da zelulak kanporatzeko (1-2), laginean dagoen DNA mutaturik purifikatu egiten da (3-4) eta urrezko nanopartikulekin (AuNP) elkartzen da aglomeratuak sortzeko (5), aglomeratu horiek uhin luzera zehatzeko laserrarekin irradiatzean berotu egiten dira (metalen efektu plasmonikoa) eta bero hori erabiltzen da aurrez txipean gordeta dauden mikro-kapsula termosentikor batzuk apurtzeko (6), horrela mikro-kapsula hauetan bilduta dauden milaka molekula koloratu askatzen dira eta paperezko tiran bisualki detektatzen dira.

Kasuan kasuko mutazioarentzako DNA zunda espezifikoa diseinatuko dira bai pazientearen DNA mutaturik purifikatzeko, bai eta AuNP-ak funtzionalizatu eta aglomeratu espezifikoa

sortzeko. DNA mutatuaz pazientearen laginean aurkitzen denean bakarrik gertatuko da honen eta AuNP-en arteko lotura eta ondorioz aglomerazioa. Are gehiago, kapsula termosentikorrek AuNP-en aglomerazioa gertatzean bakarrik apurtuko dira, erabilitako uhin luzera tartean banakako AuNP-ek sortu dezaketean bera ez baita mikro-kapsulak apurtzeko nahikoa (AuNP-ak aglomeratzean beraien absortzio banda banakako AuNP-en bandarekiko desplazatu egiten da) (Hais *et al.*, 2007; Vivero-Escoto *et al.*, 2009; Khlebtsov e Dykman, 2010). Beraz, amplifikazio mekanismoa aztertu nahi den mutazioarekiko espezifiko da eta ohiko termoziklagailuak ez bezala milaka seinale-molekulen askapen selektiboan oinarritzen da.

2. irudia. INDICATE gailuaren osagai nagusiak: Laginaren sarrerako gordailua (1), filtrazio gunea (2), DNA desnaturalizatze berogailua (3), pazientearen DNA mutatuaz purifikatzeko zunda blokeatzailearen gordailua (4), pazientearen DNA mutatuaz harrapatze funtzionalizaturiko AuNPen gordailua (5), LED laserra eta mikro-kapsulen filtroa duen amplifikazio gunea eta alboko fluxudun paperezko detekzio gunea.



Sistema integratu multifuntzionalak garatzean ohikoa da prototipoen ekoizpena era modularrean bideratzea, eta gehienetan ikerketa talde ugari parte hartu ohi dute prozesu horretan. Esaterako, INDICATE gailurako kontzeptu batzuk beste talde batzuk ikertu eta frogatuta dituzte jadanik, zunden diseinua eta aglomerazioa (Sanromán-Iglesias *et al.*, 2016) edo kapsula termosentikorren laser bidezko irekitzea (Baffou *et al.*, 2013; Ott *et al.*, 2015) esaterako. Ondoko emaitzetan beraz, kontzeptu horietarako beharko diren egitura mikro-fluidikoen fabrikazio eta funtzionamendua ilustratuko da. Hala nola, 3D inprimaketa, filtratzeko sistema, amplifikazio gunea, pompa autopropulsatuak eta txip hibidorako hurbilpen bat.

3.1. 3D inprimaketa bidezko txip mikro-fluidikoen fabrikazioa

Osagai ezberdinak “*Creo Parametrics 2.0 3D*” eta “*PreForm*” softwareekin diseinatu dira eta 3D inprimaketa “*FormLab 1+*” inprimagailuan 50 μm -tako erresoluzioa eta material akriliko gardena (Formlab Clear resin FLGP CL02) erabiliz egin da. *FormLab* makinak estereolitografia teknologia erabiltzen du eta 405 nm-ko uhin luzerako laserra dauka erretxina erreazionarazteko. Inprimatutako piezak isopropanolezko bainu baten garbitzen dira gogortu ez den erretxina eliminatu eta egituren emaitza hobetzeko. Ondoren erretxina guztiz gogortzeko pieza 365 nm-ko uhin luzerako argi ultramoredun lanpara baten ontzen utzi da 30 minutuz.

3.2. Odolaren filtrazioa

3.1. irudian 3D inprimaketa bidez fabrikatutako eta 100 μl -ko odol bolumenera egokitutako filtrazio modulua ikus daiteke. Filtroan odola bere egoera normalean sartzen da eta, 3.2. irudian erakutsi bezala, tanke zirkular guztia beteta dagoenean odoleko zelulak (globulu gorri, zuri eta plaketak) dekantazio bidez eliminatzen dira. Orduan tanketik plasma likidoa ateratzen da eta plasma horren fronte 3.2 irudian marra zuri batekin bereizi da.

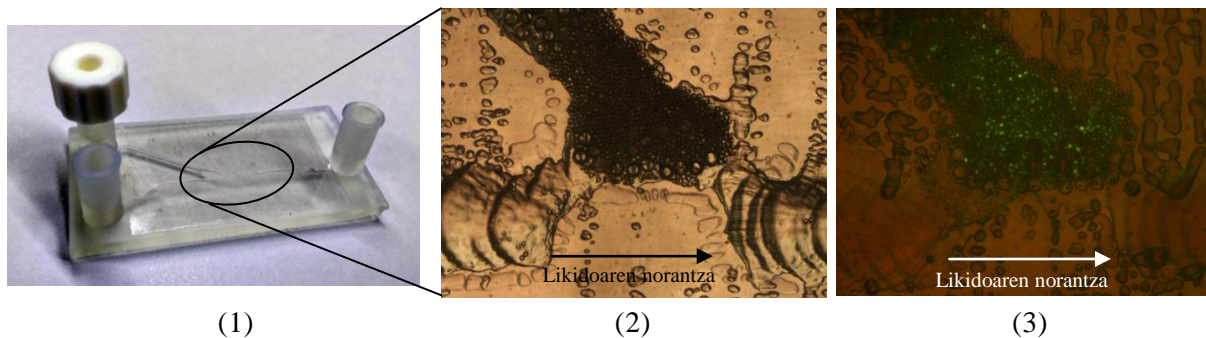
3. irudia. Odoleko zelulak filtratzeko 3D inprimaketa bidezko txip mikro-fluidikoa. Diseinua 100 μl odol filtratzeko egokitu da, eta marra zuriak filtratutako plasma likidoaren fronteak erakusten du.

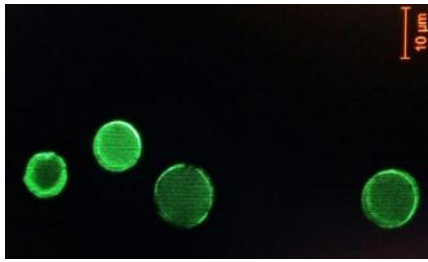


3.3. Anplifikazio modulua

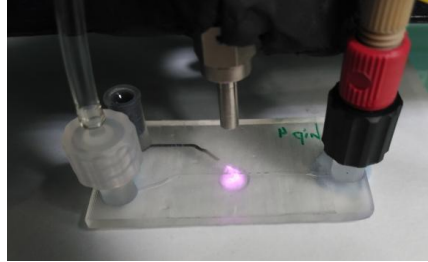
Anplifikazio moduluan molekula fluoreszenteak (dextrano-FITC) erabili dira seinale-molekula gisa eta hauek 10 μm -tako $\text{SiO}_2/\text{PDADMAC}$ (Poli(DiAlilDimetilAmonio Kloruro)) mikro-kapsula termosentikorren barnean sartu dira. Mikro-kapsulak laserra dagoen eremuan finkatuta egon behar dira AuNP aglomeratuak pasatzean beroa sortu eta mikro-kapsulak beroaren bidez apurtzea nahi bada. Horretarako 3D inprimaketa bidez “anplifikazio zona” bat fabrikatu da beirazko mikro-esferen (75 μm Glass Beads, 59200-U Sigma Aldrich) filtro baten bidez mikro-kapsulak finkatzeko, 4.1., 4.2. eta 4.3.irudietan ilustratu bezala. Laser bidezko kapsulen hausketa eta molekula fluoreszenteen askapena aurrez prestatuko AuNP aglomeratuak erabiliz aztertu da. 800 nm-ko uhin luzera eta 3000 A-ko intentsitatea 3 minutuz erabiltzean dextrano-FITC molekulen askapena lortu dela ikus daiteke 4.6.irudian.

4. irudia. Anplifikazio modulua: (1) 3D inprimaketa bidezko txip mikro-fluidikoa, (2-3) mikro-kapsulak atxikita mantentzeko beirazko mikro-esferen zutabea, laserraren zona definitzeko, (4) molekula fluoreszentez beteriko mikro-kapsula termosentikorrak, (5) laserrarekin erabilitako muntaia kapsulak zabaltzeko, (6) molekula fluoreszenteen askapena

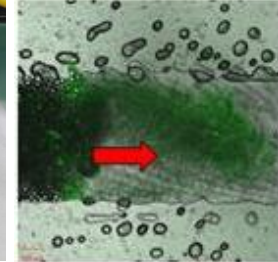




(4)



(5)



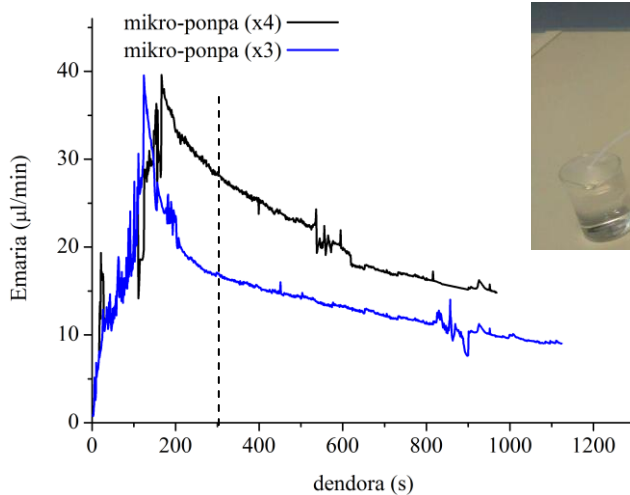
(6)

3.4. PDMS mikro-ponpak

Elastomerozko ponpa autopropultsatuen funtzionamendua oso sinplea. PDMS-ak bere barneko poroetan duen airea hutsune bidez ateratzen da, behin mikro-ponpa desgasifikatuta dagoenean (horrela paketatuta eta biltegitatu daiteke) txiparen bukaerako zonaldean ezartzen da eta barneko poroetako presio negatiboa orekatzeko asmotan mikro-kanaletako airea xurgatzen du. Ondorioz airearen desplazamenduak mikro-kanaletako likidoa ere desplazatzea eragiten du, emari bat sortuz.

Aurreko lan baten erakutsi genuen sortzen den emaria PDMS-aren gainazaleko azaleraren menpekoa dela (Ruiz *et al.*, 2015), beraz ponparen gainazal erabilgarria aldatuaz emari ezberdinak lortu ditzakegu, eta gainazal hori handitzeko modu sinple bat ponpak elkarren gainean pilatzea da. 5.irudian ikus daitezkeen azken diseinuei ezker emari gaitasun handia duten PDMS elastomerozko mikro-ponpak garatu ditugu eta erabiltzen den unitate kopuruaren arabera emari tarte ezberdinak lortzen dira. Horrela $14 \pm 4 \mu\text{l}/\text{min}$ -ko eta $20 \pm 6 \mu\text{l}/\text{min}$ -ko emariak lortu dira ($t > 300\text{s}$) 3 eta 4 mikro-ponpa unitate batera erabili direnean.

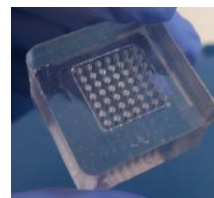
5. irudia. (1) PDMS mikro-ponpen funtzionamendua 3 eta 4 ponpa unitate elkarrekin itsatsita erabiltzean. (2) Analisirako erabili den emari-sentsorearen muntaia. (3) PDMS mikro-ponpa unitarioa. (4) 3 eta 4 ponpa unitate elkarrekin itsastean lorturiko emari altuko PDMS mikro-ponpak.



(1)



(2)



(3)



(4)

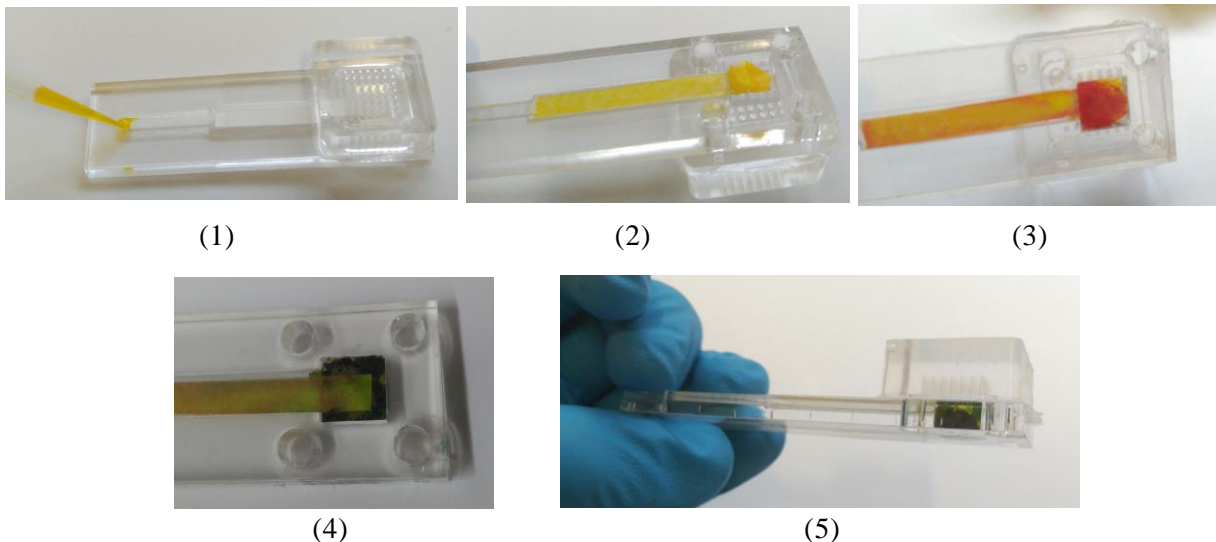
3.5. Txip hibridoa

Azkenik plastikozko txipaz, paperezko tiraz eta elastomerozko ponparekin osatuko txip hibrido integratu bat fabrikatu da. Txip honetan lagina LFA-ra iristean paperak kapilaritateari esker lagina xurgatu egingo du. Aplikazioan espero den laginaren kantitatea paperak absorbatu dezakeena baino askoz handiagoa izango denez, paperaren saturazioa ekidin eta lagin guztia

detekzio genetiko pasako dela ziurtatu behar da. Horretarako paperean hidrogel disko bat integratu da LFA-tik pasatzen den likidoa eliminatu eta txiparen bukaerako gordailuan biltzeko.

Hurrengo esperimentuan guztira 300 μ l-ko bolumena 3 zatitan sartu da txiparen sarreratik, bakoitzean 100 μ l sartu direlarik, kolore horiko likidoa lehenik, gorria bigarrenik eta urdina azkenik. Proba honetan frogatu da txip hibridoak 300 μ l-ko bolumen batekin lan egin dezakeela integratutako hidrogel diskoari esker.

6. irudia. Plastikozko txipaz, paperezko tiraz, hidrogel disko batez eta elastomerozko ponparekin osatuko txip hibrido integratuan egindako froga fluidikoa.



4. Ondorioak

INDICATE gailurako osagai ezberdinak 3D inprimaketa bidez fabrikatu dira. Osagai hauen funtzionamendu egokiak erabilitako fabrikazio teknikaren balioasuna baieztatu da, etorkizuneko modulu ezberdinak gailu bakarrean integratzea errazago eginez.

Odol filtroa 100 μ l odol bolumenarekin erabili da eta zelulak eliminatu eta plasma ateratzeko gai dela ziurtatu da. Kasu honetan laginaren bolumen kantitatea 20 aldiz handitzea lortu da aurreko beste publikazio batekin alderatuz (Dimov *et al.*, 2010). Beraz, INDICATE gailurako ez da odol laginaren aurre prestaketarik behar, baina gutxienez 200 μ l-tara arteko filtrazio ahalmena lortzeko egokitu behar da proiektuko espezifikazioak bete daitezela.

Anplifikazio genetiko DNA kantitate txiki batekin sortutako AuNP aglomeratuak pasaraztean laserrarekin irradiatu eta molekula fluoreszenteak liberatzea lortu da. Horrela, hasieran oso urria eta neurtezina den DNA kantitaterako aise neurtu daitekeen seinalea lortu da. Hurrengo esperimenduetan askapen hori kuantifikatu behar da analisi parametro ezberdinetarako.

PDMS elastomerozko mikro-ponpak modulu unitario gisa garatu dira eta unitate kantitatea handituz lortzen den likidoaren emaria ere handitu egiten dela erakutsi da. Diseinurako askatasun honek intereseko emari baldintzak bermatuko duen mikro-ponpa fabrikatzea erraztuko du, izan ere azken diseinuei ezker lortutako emari tarteek POC gailu eramangarri eta autonomoak sortzeko baldintzak betetzen dituzte. Gainera beraien funtzionamendua oso sinplea denez eta erabili eta botatzekoak direnez, oso aproposak dira erabilera bakarreko test biologikoetarako.

Egitura hibridoa osatzeko plastikozko txipa, paperezko tira, hidrogel disko bat eta elastomerozko mikro-ponpa integratu dira. Gailu hauek guztiak konbinatuz eta mikro-ponpak sortzen duen hutsari eta paperaren kapilaritate ahalmenari esker likidoaren mugimendua lortu daitekeela erakutsi da. Gainera erabilitako hidrogel diskoa txipetik pasatutako likido guztia

gordetzeko gai dela ere ikusi da, bolumen altuetako laginak erabiltzea ahalbidetuz detekzio gunean likidoarekin saturatu gabe.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

INDICATE gaur egun ikerketa zentro eta enpresa ugariaren parte hartzearekin aurrea doan proiektua da eta hurrengo urteetan teknologia hau garatuz joango dela espero da. Behin prototipoa definituta, garatutako teknologikoaren ezagutza industriara transferituko da eta gailuaren serie altuak fabrikatuko dira eremu klinikoan beraien balidatzea jorratzeko.

6. Erreferentziak

- Dittrich, P.S., et al. (2006): *Micro total analysis systems. Latest advancements and trends*. Analytical Chemistry, 78(12) 3887-908.
- Vilkner, T., et al. (2004): *Micro total analysis systems. Recent developments*. Analytical Chemistry, 76(12) 3373-85.
- Thorsen, T., et al. (2002): *Microfluidic Large-Scale Integration*. Science, 298 580-584.
- Piraino, F., et al. (2016): *A Digital-Analog Microfluidic Platform for Patient-Centric Multiplexed Biomarker Diagnostics of Ultralow Volume Samples*. ACS Nano, 10(1) 1699-1710.
- Gubala, V., et al. (2012): *Point of care diagnostics: status and future*. Analytical Chemistry, 84(2) 487-515.
- Cha, K.J., et al. (2011): *A portable pressure pump for microfluidic lab-on-a-chip systems using a porous polydimethylsiloxane (PDMS) sponge*. Biomedical Microdevices, 13 877-883.
- Kokalj, T., et al. (2014): *Self-powered imbibing microfluidic pump by liquid encapsulation: SIMPLE*. Lab on a Chip, 14(4329).
- Liang, D.Y., et al. (2011): *Systematic characterization of degas-driven flow for poly(dimethylsiloxane) microfluidic devices*. Biomicrofluidics, 5(024108).
- Amin, R., et al. (2016): *3D-printed microfluidic devices*. Biofabrication, 8(022001).
- Li, G., et al. (2012): *A "place n play" modular pump for portable microfluidic applications*. Biomicrofluidics, 6(1) 14118-1411816.
- Haiss, W., et al. (2007): *Determination of size and concentration of gold nanoparticles from UV-vis spectra*. Analytical Chemistry, 79(11) 4215-4221.
- Khlebtsov, N.G. et al. (2010): *Optical properties and biomedical applications of plasmonic nanoparticles*. J. Quant. Spectrosc. Ra., 111(1) 1-35.
- Vivero-Escoto, J.L., et al. (2009): *Photoinduces intracellular controlled release drug delivery in human cells by gold-capped mesoporous silica nanosphere*. J. Am. Chem. Soc., 131(10) 3462-3463.
- Sanromán-Iglesias, M., et al. (2016): *Sensitivity Limit of Nanoparticle Biosensors in the Discrimination of Single Nucleotide Polymorphism*. ACS Sens, 1(9) 1110-1116.
- Ott, A., et al. (2015): *Light-Addressable and Degradable Silica Capsules for Delivery of Molecular Cargo to the Cytosol of Cells*. Chem. Mater., 27 1929-1942.
- Baffou, G., et al. (2013): *Photoinduces Heating of Nanoparticle Arrays*. ACS Nano, 7(8) 6478-6488.
- Ruiz, I., et al. (2015): *Self-powered high flow capacity polymeric microfluidics*, microTAS.
- Dimov, I.K., et al. (2010): *Stand-alone self-powered integrated microfluidic blood analysis system (SIMBAS)*. Lab on a Chip, 11 845-850.

7. Eskerrak eta oharrak

Egileok gure esker ona adierazi nahiko genioke Eusko Jaurlaritzako Industria, berrikuntza, merkataritza eta turismo Sailari eta baita ere Eusko Jaurlaritzako Osasun Sailari, ELKARTEK 2015 deialdiko KK-2015/0000088 zenbakidun eta RIS3 deialdiko 307616FKA4 zenbakidun diru laguntzekin, hurrenez hurren, ikerketa hau babesteagatik.

Gainera, egileok Euskal Herriko Unibertsitateko Marian Martínez de Pancorbo katedraduna eskertu nahiko genuke UPV / EHUko laborategi instalazioen erabilera gure eskura jartzeagatik, eta baita DNA Bankuko (SGIker) Maite Alvarez Doktorea, laguntza tekniko eta pertsonalarekin eta Europako finantziarioarekin (FEDER eta FSE) laguntzeagatik. Azkenik, Adhesive Research zentruaren kolaborazioa ere aipatu nahiko genuke, PSA materialaren doako horniketarengatik.

Jaione Etxebarriak “2016ko UPV/EHUn ikertzaile doktoreak espezializatzeko kontratatzeko diru laguntzen deialdia” eskertu nahiko luke ESPOC 16/65 zenbakidun laguntzarekin ikerketa hau babesteagatik. Era berean, Jaionek eskerrak eman nahiko lizkieke INDICATE proiektuko partzuergoan parte hartzen duten ikerketa taldeetako ikerlariei.

Bestalde, Fernando Benito-Lopezek, Espainiako Ekonomia eta Lehiakortasun Ministerioko “Ramón y Cajal” Programako onuraduna denak, “*European Union’s Seventh Framework Programme (FP7) for Research, Technological Development and Demonstration, 604241*” proiektua eskertu nahiko luke.