

Auf dem Weg zum Chip-Labor

Belder, Detlev

Max-Planck-Institut für Kohlenforschung, Mülheim an der Ruhr

Korrespondierender Autor: Belder, Detlev

E-Mail: belder@mpi-muelheim.mpg.de

Zusammenfassung

Nach dem großen Erfolg in der Elektronik hat die Miniaturisierung nun die Chemie erreicht. Neue Entwicklungen in der Mikrofluidik ermöglichen chemische Analysen in bisher ungeahnter Geschwindigkeit sowie die Integration von chemischer Synthese und Analyse auf einem Chip. Damit stehen neue Werkzeuge nicht nur für die Diagnostik und den Lifescience-Bereich, sondern auch für die klassische Chemie- und Katalyse-Forschung zur Verfügung.

Abstract

After tremendous success in electronics miniaturization is now a hot topic in chemistry. Current developments in microfluidics enable chemical analyses with unsurpassed speed as well as the integration of chemical synthesis and analyses on a single chip. This offers new tools not only for diagnostics and life-science but also for classical chemistry and catalyses.

Einführung

Bei den gegenwärtigen Entwicklungen zur Miniaturisierung in der Chemie werden gern Parallelen zu den Erfolgen in der Mikroelektronik gezogen. Durch die Miniaturisierung elektronischer Bauteile konnten ganze Rechenzentren zu kleinen Computern schrumpfen und heutzutage kann sich kaum noch jemand vorstellen, wie das Leben ohne die vielen elektronischen Helfer aussehen würde. Die Anwendung der hierfür entwickelten Mikrosystemtechnik ist nicht auf die Mikroelektronik begrenzt, sondern ermöglicht auch die Miniaturisierung immer komplexerer Komponenten und Systeme für ganz unterschiedliche Anwendungsfelder.

Der Siegeszug der Miniaturisierung macht auch vor der Chemie nicht halt und könnte auch hier eine neue Ära einläuten. Es wird das ehrgeizige Ziel verfolgt, ganze Chemie- und Analysen-Laboratorien zu so genannten Lab-on-a-chip-Systemen „schrumpfen“ zu lassen. Die Verheißungen solcher Westentaschenlabore sind groß. Es werden nur noch winzige Mengen chemischer Substanzen benötigt, was viel umweltfreundlicher ist und teure Chemikalien spart. Auf dem Gebiet der analytischen Chemie und der Diagnostik verspricht man sich besonders viel von solchen geschrumpften Analysenlaboren, weil damit zum Beispiel selbst komplexe Analysen direkt vor Ort gemacht werden könnten. So muss man vielleicht in einigen Jahren nicht mehr bangend auf die Laborwerte warten, sondern erhält das Ergebnis sofort in der Arztpraxis von einem scheckkartengroßen Gerät.

Das Schrumpfen chemischer Prozesse und Anlagen zu Westentaschen-Laboratorien ist jedoch ungleich schwerer und komplexer als die Miniaturisierung in der Mikroelektronik. Winzige Flüssigkeitsmengen, in denen chemische Substanzen gelöst sind, lassen sich nämlich viel schwerer manipulieren als elektrische Ströme in der Mikroelektronik. Mikrofluidische Kanäle sind, in Analogie zu den Leiterbahnen in der Mikroelektronik, die zentralen Bauelemente eines geschrumpften Chemielabors. Solche haarfeinen Kanäle werden zum Transport, Mischen und Trennen von Reagenzien im Nanoliter-Maßstab benötigt.

Chip-Elektrophorese

Ein Forschungs-Schwerpunkt im Labor des Autors ist die Miniaturisierung der Elektrophorese. Die so genannte Mikrochip-Elektrophorese ist das derzeit erfolgreichste analytische Verfahren in der noch jungen Mikrofluidik, es sind sogar bereits die ersten kommerziellen Geräte verfügbar. Hierzu werden Mikrofluidik-Chips eingesetzt, das sind Bauteile mit haarfeinen Mikrokanälen, die auf den ersten Blick an Objektträger aus der Mikroskopie erinnern. Eine schematische Darstellung mit Dimensionen eines typischen Elektrophorese-Chips ist in **Abbildung 1** gezeigt.

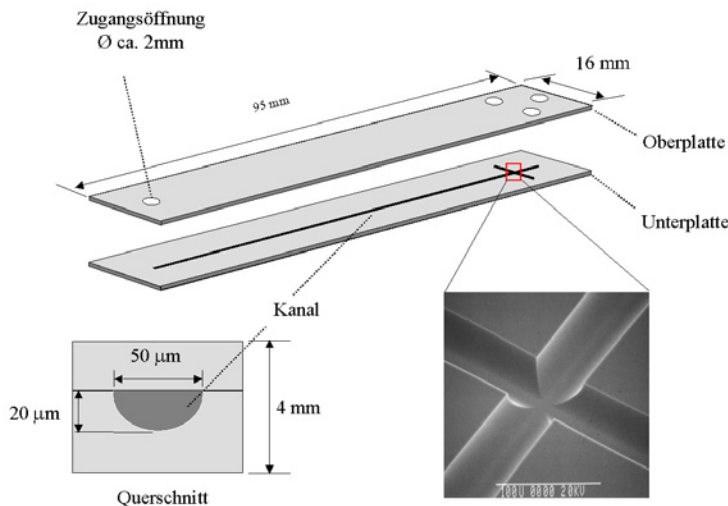


Abb. 1: Schematische Darstellung des Aufbaus eines einfachen Elektrophorese-Chips: Zweiteiliger Chip mit mikrostrukturierter Unterplatte und gelochter Oberplatte, Querschnittsdarstellung des Chips sowie elektronenmikroskopische Aufnahme des Kreuzungsbereiches.

Urheber: Max-Planck-Institut für Kohlenforschung

Die Funktion eines solchen einfachen Elektrophorese-Chips mit 2 gekreuzten haarfeinen Kanälen wird aus der **Abbildung 2** deutlich. Das Analysenprinzip ist in der Mikrochip-Elektrophorese das gleiche wie in der klassischen Elektrophorese, dessen Ergebnis jeder Krimi-Fan schon mal bei Erstellung des genetischen Fingerabdrucks gesehen hat. Verbindungen werden aufgrund ihrer unterschiedlichen Wanderungsgeschwindigkeit im elektrischen Feld aufgetrennt, so wie Läufer auf einem Hindernisparcours, wo die schlanken und starken Athleten das Ziel vor den großen, Behäbigen erreichen. Neben der Miniaturisierung ist der Hauptunterschied zur klassischen Elektrophorese der Injektionsprozess, bei dem das Kunststück gelingen muss, nur wenige Nanoliter einer Probe zu dosieren um nicht das ganze System zu überladen. Hierfür wird zunächst durch Anlegen einer Spannung der Injektionskanal mit der Probe gefüllt und dort mit Gegenspannungen fokussiert. Ein winziger Teil der Probe, der sich im Kreuzungsbereich der Kanäle befindet, wird dann durch Umschalten der Spannungen gleichsam ausgestanzt und auf den Hindernisparcours zur Auftrennung geschickt, siehe **Abbildung 2**.

Dieser Prozess kann mithilfe der Videomikroskopie sehr schön visualisiert werden. Entsprechende Einzelbilder sind in **Abbildung 2** gezeigt, wo eine Probe in nur 760 ms, auf einer Strecke von weniger als einem Millimeter Länge, getrennt wird. Hieraus wird deutlich, dass die Chip-Elektrophorese eine außerordentlich schnelle Analysenmethode darstellt. So konnten wir bei dem wichtigen Anwendungsfeld der Analyse von Enantiomeren, das sind chemisch sehr ähnliche Verbindungen die sich gleichen wie Bild und Spiegelbild, einen Weltrekord bezüglich der Analysengeschwindigkeit aufstellen [1]. Während die Trennung von Enantiomeren mit klassischen Methoden wie der Chromatographie üblicherweise eine gute halbe Stunde dauert, gelingt dies in der Chip-Elektrophorese in weniger als einer

Sekunde, siehe **Abbildung 3**. Die Analyse von Enantiomeren ist besonders in der pharmazeutischen Industrie von großer Bedeutung, da enantiomere Wirkstoffe trotz ihrer chemischen Ähnlichkeit im Körper ganz unterschiedliche Wirkungen entfalten können.

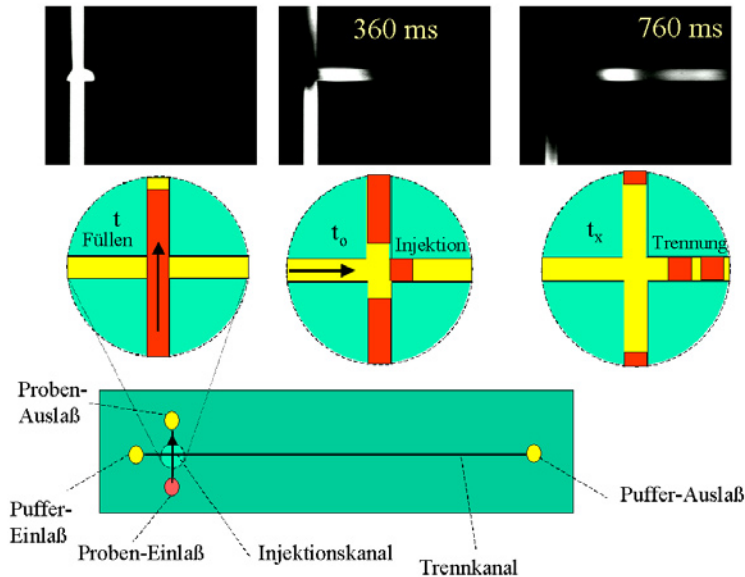


Abb. 2: Schematische Darstellung der Funktionsweise eines Elektrophorese-Chips mit Einzelbildern des Prozesses aus der Videomikroskopie.

Urheber: Max-Planck-Institut für Kohlenforschung

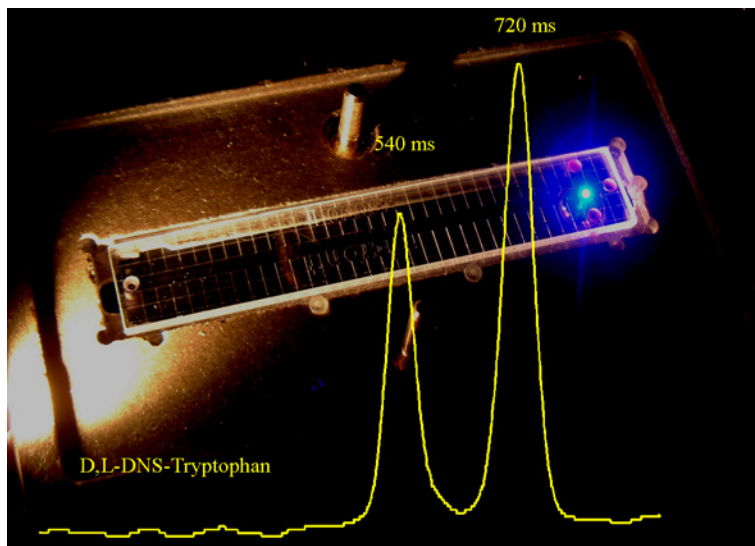


Abb. 3: Photo eines Elektrophorese-Chips, der von unten durch die Detektionseinheit beleuchtet wird. Das gelbe Messsignal zeigt die derzeit schnellste Trennung einer Verbindung in die entsprechenden spiegelbildlichen Isomere (Enantiomere).

Urheber: Max-Planck-Institut für Kohlenforschung

Katalyse und Analyse auf einem Chip

Wie bei Computer-Chips ist die Geschwindigkeit auch in der Mikrofluidik kein Selbstzweck, sondern ermöglicht ganz neue bisher ungeahnte Möglichkeiten. In Kooperation mit der Arbeitsgruppe Reetz nutzen wir am Max-Planck-Institut in Mülheim diese rasante Analysengeschwindigkeit zu einem neu-

artigen Ansatz in der Katalysatorforschung. Hierfür wird neben der Analyse der Enantiomere auch deren chemische Synthese auf einen Chip verpflanzt. Damit wird es möglich eine große Anzahl von enantioselektiven Bio-Katalysatoren, die in der Arbeitsgruppe Reetz mit neuen biotechnologischen Ansätzen entwickelt werden, in kürzester Zeit auf Ihre Eignung für eine bestimmte Reaktion zu testen. Ein Prototyp eines solchen Chips ist in **Abbildung 4** gezeigt. Katalysator (rot) und Substrat (grün) werden dafür in den farblich markierten Mikrogefäßen vorgelegt. In den mäandernden Kanälen wird dann der Katalysator mit dem Substrat gemischt und das Epoxid (Substrat, grün) zum Alkohol (gelb) umgesetzt. Wie gut diese Reaktion mit dem untersuchten Enzym funktioniert, wird dann aus der anschließenden elektrophoretischen Analyse deutlich, die nur eine knappe Minute dauert.

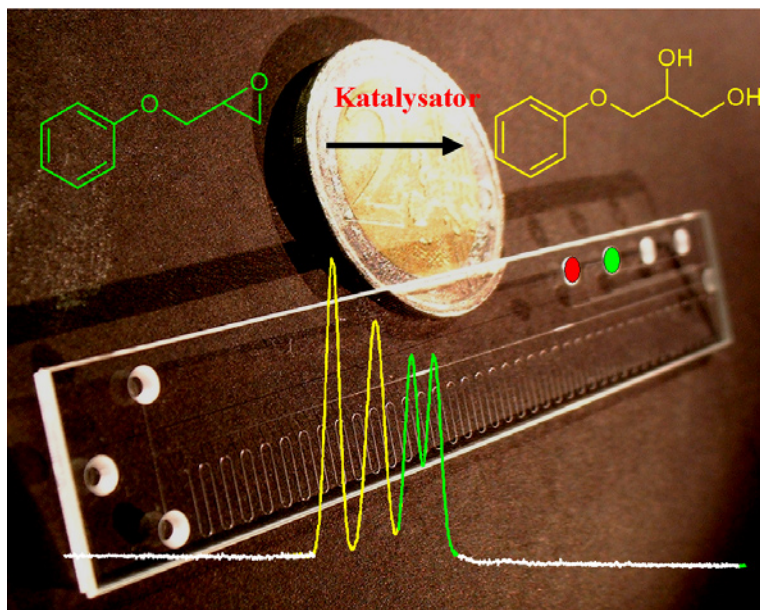


Abb. 4: Photo des Mülheimer Katalyse-Chips im Größenvergleich mit einer 2-Euro-Münze. Auf dem Chip findet sowohl die gezeigte chemische Reaktion statt als auch die Analyse des Reaktionsgemisches.

Urheber: Max-Planck-Institut für Kohlenforschung

Um die Verbindungen auf dem Chip nachweisen zu können, musste zunächst noch ein ganz neues Detektionssystem entwickelt werden. Die Detektion so geringer Probenmengen ist derzeit noch eine der größten Herausforderungen bei den chipbasierten Analysensystemen. Üblicherweise nutzt man hier wegen der hohen Sensitivität die Fluoreszenzdetektion, bei der vereinfacht gesprochen die Moleküle durch Lichteinstrahlung zum Leuchten angeregt werden. Bisher funktionierte das aber nur, wenn die Verbindungen vorher mit einem Fluoreszenzfarbstoff derivatisiert wurden, was oft sehr problematisch ist. Kürzlich konnten wir jedoch zeigen, dass durch die Anwendung kurzweiliger UV-Laser diese Fluoreszenzmarkierung nicht mehr notwendig ist [2]. Erstmals ist damit die native Fluoreszenzdetektion vieler Verbindungen in der Mikrofluidik möglich. Diese Technik wurde auch für den Katalyse/Analyse-Chip angewendet, das entsprechende Messsignal ist in **Abbildung 4** gezeigt. Mit dieser Fluoreszenzdetektion konnten wir auch erstmals native Proteine in der Chip-Elektrophorese mit optischen Methoden detektieren, was die Chip-Elektrophorese zu einem heißen Kandidaten für die Proteinanalytik macht.

Oberflächenchemie

Ein wichtiger Aspekt mikrofluidischer Systeme ist die Beschaffenheit der Kanal-Oberflächen. So ist es ganz entscheidend, ob die Oberflächen hydrophil oder hydrophob sind. Hydrophile, also wasserliebende Kanäle, füllen sich sogar ganz von selbst mit wässrigen Lösungen. Stark hydrophile Kanäle

sind insbesondere zur Auftrennung von Proteinen notwendig, damit diese nicht an der Kanalwand kleben bleiben, wie ein Spiegelei in der Edelstahl-Pfanne. Ähnlich wie bei der Bratpfanne kann dieses Problem auch bei Mikro-Kanälen in Chips mit einer Beschichtung gelöst werden. Statt des Teflons sind hier jedoch hydrophile Polymere besonders geeignet [3]. Hierfür konnte in unserer Arbeitsgruppe ein Verfahren zur inneren Beschichtung von Kanälen von Glaschips entwickelt werden, mit denen die Leistungsfähigkeit solcher Elektrophorese-Chips deutlich verbessert wird [4, 5, 6]. Selbst die Analyse komplexer Proteinmischungen, wie die der Proteine des Hühnereiklars, wird damit möglich [2]. Damit könnte die Mikrochip-Elektrophorese auch einen wichtigen Beitrag zum Gelingen des gegenwärtig ehrgeizigsten Projekts der Lebenswissenschaft leisten, welches mit dem Schlagwort Proteomics bezeichnet wird. Hier versuchen Wissenschaftler in aller Welt das Zusammenspiel der Proteine im Körper zu verstehen, um z.B. effizientere Waffen im Kampf gegen Krankheiten zu entwickeln. Anstatt Glas-Chips aufwendig mit hydrophilen Polymeren zu beschichten wäre es viel eleganter, die Chips gleich aus entsprechenden Polymeren herzustellen. Es ist bekannt, dass sich Mikrofluidik-Chips ähnlich wie Legos kostengünstig aus Kunststoffen herstellen lassen. Dafür werden jedoch, aus fertigungstechnischen Gründen, bisher ausschließlich hydrophobe Polymere eingesetzt. Hier haben wir einem neuen Ansatz gefunden, in dem solche Polymere zum Einsatz kommen, deren Oberflächen nach Mikro-Strukturierung sehr einfach hydrophilisiert werden können. Die Mikrofluidik ist derzeit ein sehr aktives und spannendes Forschungsgebiet mit vielen Facetten, von denen hier nur ein kleiner Ausschnitt beleuchtet wurde. Die Chancen stehen nicht schlecht, dass wir durch die fortschreitenden Entwicklungen zur Miniaturisierung am Anfang einer neuen Ära stehen, in der Chemielaboratorien zu winzigen Systemen schrumpfen.

Literaturhinweise

- [1] N. Piehl, M. Ludwig, D. Belder:
Subsecond chiral separations on a microchip
Electrophoresis **25**, 3848-3852 (2004).
- [2] P. Schulze, M. Ludwig, F. Kohler, D. Belder:
Deep UV Laser-Induced Fluorescence Detection of Unlabeled Drugs and Proteins in Microchip Electrophoresis
Analytical Chemistry **77**, 1325-1329 (2005).
- [3] D. Belder, M. Ludwig:
Surface modification in microchip electrophoresis
Electrophoresis **24**, 3595-3606 (2003).
- [4] M. Ludwig, D. Belder:
Coated microfluidic devices for improved chiral separations in microchip electrophoresis
Electrophoresis **24**, 2481-2486 (2003).
- [5] S. J. O. Varjo, M. Ludwig, D. Belder, M.-L. Riekkola:
Separation of FITC-labeled amines by microchip electrophoresis on uncoated and PVA-coated glass chips with dimethyl sulfoxide based electrolyte
Electrophoresis **25**, 1901-1906 (2004).
- [6] D. Belder, A. Deege, F. Kohler, M. Ludwig:
Poly(vinyl alcohol)-coated microfluidic devices for high-performance microchip electrophoresis
Electrophoresis **23**, 3567-3573 (2002).

Drittmittelfinanzierung

DFG