

Polymerchipbasierte mikrofluidische Komponenten für Anwendungen in den Life Sciences

Claudia Gärtner



Claudia Gärtner

Einführung

Bedingt durch die großen Fortschritte in den Life Sciences, z. B. in der Genomforschung und in der Medizintechnik, besteht ein wachsender Bedarf, eine große Anzahl von Analysen und Synthesen schnell, parallel und mit portablen Systemen durchzuführen.

Als Vision besteht das künftige biochemische Labor aus miniaturisierten Modulen, die bestehende, einige Stunden in Anspruch nehmende Verfahren auf wenige Minuten verkürzen oder eine Kombination verschiedener Methoden erlauben, z. B. eine hochparallele Kapillarelektrophorese auf Chipbasis, mit Detektion und Auswertung der Substanzen und einer Fraktionierung der gewünschten Moleküle oder die Kombination dieser Methode mit einer je nach Anwendung vor- oder nachgeschalteten Vervielfältigung von Nukleinsäuren mittels PCR (Polymerase Chain Reaction), um Analyse und Synthese als kontinuierlich arbeitendes System zu verbinden. Anwendungen sind dabei – nach der vollständigen Sequenzierung der menschlichen Erbsubstanz – insbesondere in der funktionellen Genomanalyse zu sehen.

Auch das kontinuierliche Überwachen von biochemischen Prozessen, die konstante Medikamentendosierung und die direkte Erfassung von Patientendaten am Krankenbett (Point-of-Care-Diagnostik, POCD) werden erst durch den Einsatz miniaturisierter Komponenten umfassend möglich. Die Echtzeitüberwachung kritischer medizinischer oder biochemischer Parameter kann besonders gut mit mikrofluidischen Systemen realisiert werden, da bei diesen verschiedenste funktionelle Elemente auf engstem Raum kombinierbar sind.

Miniaturisierte Fluidiksysteme bieten dem Anwender daher ein großes Potenzial hinsichtlich Kosten- und Zeiteinsparung sowie Verfahrensverbesserung:

- Verbesserte und schnellere Reaktionsführung durch optimale Temperatursteuerung auf Grund des großen Oberflächen-Volumen-Verhältnisses
- Zeiteinsparung durch eine Parallelisierung von Reaktionen und die Einsparung von Handlungsschritten
- Einsparung von Substraten
- Neue Wege der Reaktionsführung
- Erhöhung der Performance: Integration verschiedener funktioneller Elemente zu einem Gesamtsystem
- Realisierung portabler Systeme für eine Vor-Ort-Analytik.

Für Anwendungen in den Life Sciences sind mikrofluidische Komponenten aus Kunststoffen gefragt, verbinden sie doch eine günstige Herstellbarkeit und niedrige Materialkosten, um als Einwegartikel genutzt zu werden, sind optisch transparent, um eine optische Detektion zu ermöglichen, weisen eine hohe Biokompatibilität auf und sind das Material, das derzeit genutzt wird – also das gewohnheitsmäßig favorisierte Material.

Polymer microfluidic components for life science applications

Claudia Gärtner

Introduction

The growing demand for a large amount of analysis and synthesis to be carried out in parallel, at a fast rate and with the aid of portable systems is the result of significant progress in the area of life sciences, such as genomic research and research in the field of medical technology.

It is envisaged that the future biochemical laboratory will consist of miniaturized modules which can replace conventional systems of a time-consuming nature. These miniaturized modules will reduce the time needed for analysis from hours to minutes and will allow a combination of several different methods, for example, highly parallel capillary electrophoresis based on a chip, in combination with the detection and interpretation of substances, including a fractioning of the desired molecules. Alternatively, it would be possible to combine this method with the amplification of nucleic acid by way of PCR (Polymerase Chain Reaction) before or after electrophoresis in order to combine analysis and synthesis into one continuously working system. Functional genome analysis – subsequent to the sequencing of the total humane genome – is a particularly likely field for the application of such systems.

The continuous control of biochemical processes, the consistent dosage of drugs and the immediate analysis of patient data directly at the patients' drugs bedside (point-of-care diagnostics, POCD) will all be made possible with the help of miniaturized components.

The online analysis of critical medical or biochemical processes can be implemented particularly well with the help of microfluidic components, which enable the combination of different functional elements within a very reduced space.

Miniaturized fluidic systems therefore offer the user enormous potential concerning the reduction of cost and time as well as in the optimisation of processes:

- Reactions can be carried out faster and more efficient with the help of optimal temperature control due to the high surface-to-volume-ratio.
- Reduction of time due to parallelization of reactions and the minimization of processing stages.
- Reduction of sample volumes.
- New ways to carry out chemical reactions.
- Increased performance: the integration of different functional elements into one system.
- Production of portable systems for on-the-spot analysis.

Polymer microfluidic components are in great demand for life science applications. There are several reasons for this: they combine affordable production with low material costs (rendering them disposable), offer optical transparency (enabling optical detection), a high level of biocompatibility and are currently in general use as a standard material.

Realisierung der Komponenten

Die Realisierung mikrofluidischer Komponenten ist schematisch in Abb. 1 dargestellt. Der kritische Schritt ist zunächst die Herstellung des Abformmasters, das die Qualität der anschließenden Replikation maßgeblich bestimmt.

Abb. 2 zeigt ein Master aus Silizium für die Replikation mittels Heißprägen. Für den Mikrospritzguss finden metallische Master ihren Einsatz, die beispielsweise mittels Mikrogalvanik oder Ultrapräzisionsbearbeitung hergestellt werden.

Liegen die mikrostrukturierten Polymerteile vor, beginnt der derzeit aufwändigste Schritt bei der Herstellung der Polymerchips, das so genannte Back-End-Processing: das Einbringen von Durchgangslöchern, ohne die haarfeinen Kanäle zu beschädigen, das Aufbringen von Elektroden als Spannungszuführung oder für eine elektrochemische Detektion, die Funktionalisierung von Oberflächen und schließlich das Deckeln der Chips ohne den Einsatz eigenfluoreszierender Klebstoffe, um eine Fluoreszenzdetektion nicht zu stören.

Anschließend erfolgt das Vereinzeln der Chips mittels Sägen. Ein Auslasern wird derzeit nur für wenige Kunststoffe beherrscht. Dieses Back-End-Processing ist der längste und derzeit der kostenverursachende Schritt.

Reduzierung des Back-End-Processing

Die Zielstellung für das Back-End-Processing heißt verringern oder vermeiden. Ein erster Ansatz ist das direkte Einbringen der Durchgangslöcher. In einen mikrostrukturierten Polymerwafer wurden Durchgangsbohrungen eingebracht, der Wafer wurde rückseitig mit einer Folie verschlossen und die Struktur wurde galvanisch abgeformt. Das erhaltene Abformmaster kombiniert Mikro- mit Makrostrukturen. Das direkte Durchprägen der Durchgangslöcher mittels dieser Master wird etabliert, siehe Abb. 3. Entscheidend ist ein sauberer Übergang der Mikro-Makrostruktur im Polymerteil, woraufhin der Heißprägeprozess etabliert werden muss.

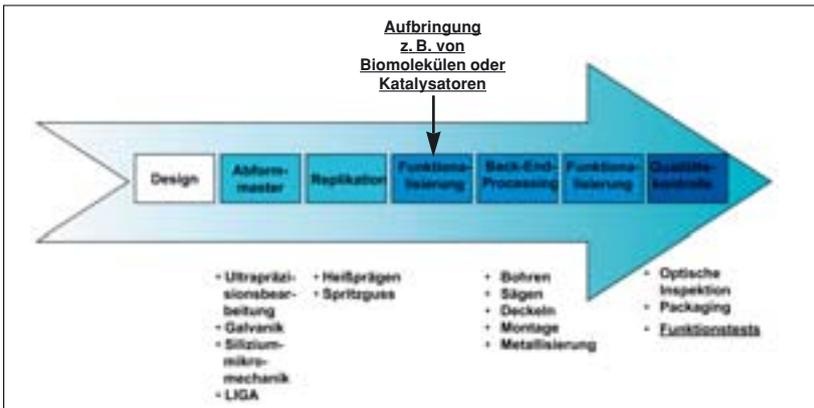


Abb. 1: Schematische Darstellung der Herstellung von mikrofluidischen Polymerchips.

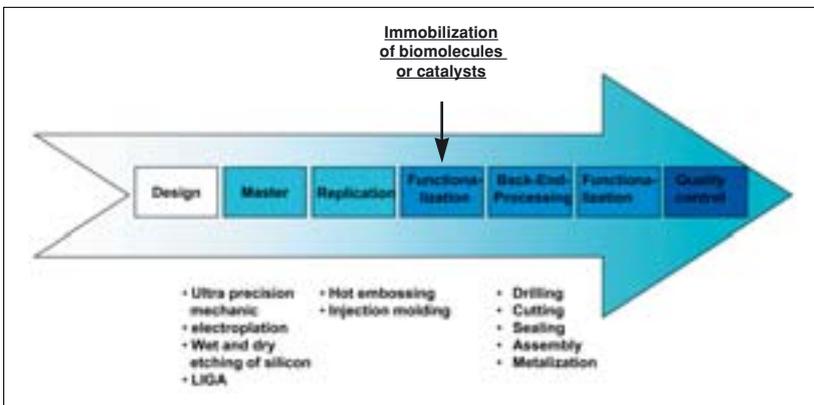


Fig. 1: Schematic drawing for the realization of microfluidic polymer chips.

Production of the components

Fig. 1 schematically illustrates the separate stages in the production of microfluidic components in polymers. The critical stage is the fabrication of the mold insert, which defines the quality of the subsequent replication process.

Fig. 2 depicts a mold made of silicon used for replication by means of hot embossing. Metallic molds are used in micro-injection molding, and are produced by micro-electroplating or ultra-precision machining.

The back-end-processing, the most time-consuming stage in the production of microfluidic components, follows the replication process.

This involves drilling through-holes without damaging the very thin channels, integrating electrodes for voltage supply or electrochemical detection, functionalizing surfaces and lastly covering the chips without using glues containing intrinsic fluorescence, so as to avoid a disturbance of the fluorescence detection.

Reduction of Back-End-Processing

The aim for the back-end-processing is to reduce or eliminate it. The first approach to the matter was to introduce through-holes. These holes were drilled onto a microstructured polymer wafer, which was then sealed at the back with a foil before the structure was electroplated. The direct embossing of through-holes using such mold inserts is currently in development (see fig. 3). A smooth transition from the micro- to macrostructure in the polymer substrate is very important, and has yet to be established within the hot embossing process.

Abb. 2:
Silizium-Formeinsatz für das Mikroheißprägen,
Design: Kapillarelektrophorese- und Mischer-
strukturen.

Fig. 2:
Silicon mold for micro hot embossing, design:
capillary electrophoresis and mixer structures.

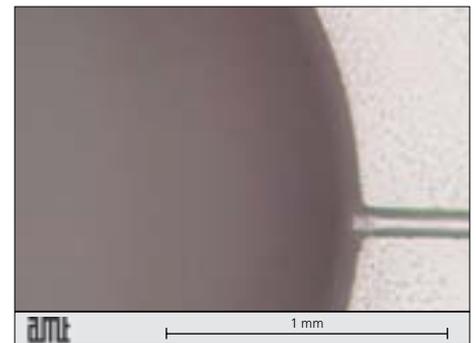
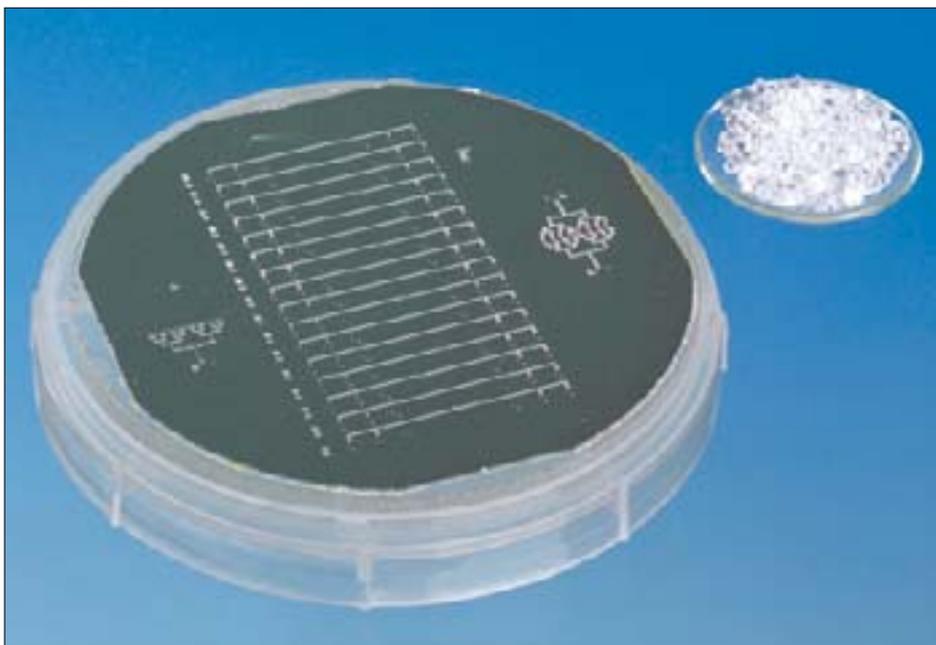


Abb. 3:
Direkt geprägte Durchgangslöcher zur Vereinfachung des Back-End-Processing.
Der kritische Punkt ist der Übergang von Mikro-
zur Makrostruktur.

Fig. 3:
Directly embossed through-holes used to simplify back-end-processing. The critical point is the transition from micro- to macro-structures.

Fluidische Anschlusstechnik

Für eine breite Einsetzbarkeit mikrofluidischer Komponenten, d. h. eine Kombination der Bauteile untereinander und ihre Anschließbarkeit an Laborgeräte, wie Pumpen, oder analytische Großgeräte, wie Massenspektrometer, ist die fluidische Anschlusstechnik das entscheidende Kriterium. Basierend auf verfügbaren Fluidverbindern, siehe Abb. 4, lässt sich eine für Prototypen einfache fluidische Anschlusstechnik umsetzen. Gerade Polymerbauteile bieten indes die Möglichkeit, die Fluidverbinder direkt zu integrieren, z. B. Luer-Lok-Verbinder für medizintechnische Anwendungen. Spezielle totvolumenarme Anschlussvarianten befinden sich derzeit in Entwicklung.



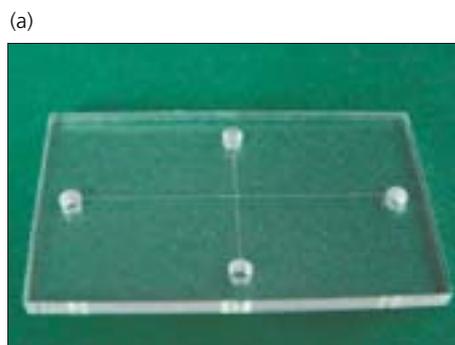
Abb. 4:
Mikrofluidisches System mit kommerziellen Fittings für die Ankopplung von Gasen und Flüssigkeiten, Quelle: microfluidic ChipShop.

Fig. 4:
Microfluidic system with commercial fittings for the transfer of gases and fluids to the chip, Source: microfluidic ChipShop.

Anwendung

Applikationsbeispiele von Polymerkomponenten für analytische Anwendungen in den Life Sciences sind Kapillarelektrophorese-Chips, die mittels laserinduzierter Fluoreszenzdetektion oder elektrochemisch ausgelesen werden können oder zur Betrachtung einzelner Nukleinsäuremoleküle im elektrischen Feld genutzt werden, siehe Abb. 5–6. Der Durchfluss-PCR-Chip, bei dem anstelle des Aufheizens und Abkühlens ein räumliches Durchlaufen der Temperaturzonen für die notwendigen Temperaturwechsel verantwortlich ist, stellt ein weiteres Applikationsbeispiel dar, siehe Abb. 7.

Abb. 5 a, b:
Kapillarelektrophorese-Chip aus Topas (a) und elektronenmikroskopische Aufnahme des Kreuzungspunktes (b), Design: ibidi.



Ausblick

Der Trend für mikrofluidische Systeme geht zu einer größeren Anwendungsbreite und insbesondere zu einer gesteigerten Komplexität, denn es sollen nicht nur einzelne biochemische Verfahren auf dem Chip ablaufen, sondern ganze Prozessketten – das Lab-on-a-Chip.

Die Kombination von mikrotechnischem Herstellungs-Know-how und Anwenderwissen ist hier die Basis für die künftigen Produktentwicklungen. Für eine breite Einsetzbarkeit müssen im Bereich fluidische Anschlusstechnik Standards etabliert werden und eine Optimierung der Fertigungsverfahren erfolgen, um eine kostengünstige Herstellung von Einwegkomponenten zu ermöglichen.

Fig. 5 a, b:
Capillary electrophoresis chip made from Topas (a) and SEM image of the T-injection (b), Design: ibidi.

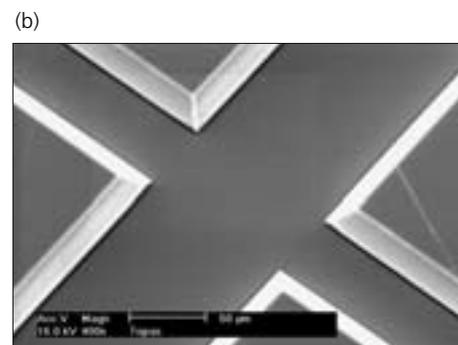


Abb. 6:
2-D-Mikroelektrophorese in den Chips aus Abb. 5 auf einem kationischen Nanofilm mit fluoreszenzgelabelter Lambda-DNA, Quelle: Valentin Kahl, ibidi.

Fig. 6:
2-D microelectrophoresis in the chips depicted in fig. 5 on a cationic nanofilm with fluorescence-labelled lambda-DNA, Source: Valentin Kahl, ibidi.

Fluidic interface

Fluidic interface is the deciding factor in broadening the application range of microfluidic components so as to enable a combination of the components with each other as well as with standard laboratory equipment such as pumps and with analytical systems such as mass spectrometers.

A relatively simple fluidic interface can be created for prototypes by using commercial fluidic fittings (see fig. 4). Particularly in the case of polymer components, it is possible to integrate the fluidic interface directly, as for example in Luer-Lok adapters used for medical applications. Special connectors with a low dead volume are currently being developed.

Application

Capillary electrophoresis chips are one example of microfluidic polymer components in analytical life science applications. Detection in these chips can be carried out either by laser-induced fluorescence detection or by means of electrochemical detection. These chips can be used for the examination of single nucleic acid molecules in an electric field (see fig. 5 and 6).

A further example of an application is the continuous flow PCR chip, with which the temperature profile is reached by guiding the fluid through three different temperature zones as opposed to heating up and cooling down the reaction vessel (see fig. 7).

Outlook

In relation to microfluidic systems, it is possible to recognize a trend towards a broader field of application, and in particular towards increasing complexity. Not only single biochemical processes will be carried out on the chip but complete process chains – the „lab-on-a-chip.“

The combination of microtechnical fabrication know-how and application expertise will be the basis for future product developments. For broader applications, standardized fluidic interfaces and optimized production processes need to be established in order to allow the cost-efficient production of single-use components.

Abb. 7:
Galvanisch hergestelltes Abformmaster und fertige Polymerchips für die Durchfluss-PCR,
Design: S. Poser, J.M. Köhler, IPHT.

Fig. 7:
Electroplated master and polymer chips for continuous flow PCR,
Design: S. Poser, J.M. Köhler, IPHT.

