

Chip-Laboreien

Mikrofluidik mit Tröpfchen**

Detlev Belder*

Stichwörter:

Analysemethoden · Hochdurchsatz-Screening · Lab-on-a-chip · Mikrofluidik · Mikroreaktoren

In Analogie zur Miniaturisierung in der Mikroelektronik wird derzeit weltweit an der Integration chemischer Prozesse auf Chips geforscht, auf denen sich die Reaktionen in Mikrokanälen und -cavitäten abspielen. Es wird das ehrgeizige Ziel verfolgt, ganze Chemie- und Analytik-Labore zu so genannten Lab-on-a-Chip-Systemen „zu schrumpfen“. Die Entwicklung von Technologien und miniaturisierten Komponenten wie Reaktoren und Ventilen zur Realisierung eines solchen Chip-Laboreums ist derzeit ein sehr aktives Forschungsgebiet.

Einen besonderen Stellenwert nimmt hier die Mikrofluidik ein, da Mikrokanäle, in Analogie zu den Leiterbahnen in der Mikroelektronik, die zentralen Bauelemente eines geschrumpften Chemielabors sind. Mikrokanäle werden zum Transport, Mischen und Trennen von Reagentien im Nanoliter-Maßstab benötigt.

Während bei der Miniaturisierung unterschiedlicher Bauteile eines zukünftigen „Westentaschenlabors“ derzeit rasante Fortschritte gemacht werden, ist die Verbindung dieser miniaturisierten Systeme mit der Außenwelt noch ein weitgehend ungelöstes Problem.

Zheng und Ismagilov^[1] berichteten nun über einen sehr einfachen und ökonomischen Ansatz zur Handhabung und Überführung einer großen Zahl von Proben im Nanoliter-Maßstab in einfache Mikrofluidik-Systeme. Hierzu werden wenige Nanoliter wässriger Proben

in eine Kapillare überführt, wobei Proben untereinander durch nicht mischbare Phasen getrennt werden, sodass sie dort wie an einer Perlenschnur aufgereiht vorliegen. Während in der klassischen Fließinjektionsanalyse Gasblasen zur Separierung der unterschiedlichen Proben genutzt werden, beschreiben Zheng und Ismagilov ein dreiphasiges Flüssig/Flüssig/Gas-System. Hierzu wird ein Array von ganz unterschiedlichen wässrigen Proben in einer Kapillare erzeugt, wobei die Reagenztröpfchen von einer hydrophoben fluorierten Trägerflüssigkeit umgeben sind und zusätzlich noch durch Gasblasen getrennt werden (siehe Abbildung 1).



Abbildung 1. Ein durch Luftblasen (dunkle Segmente) separiertes Array unterschiedlich gefärbter wässriger Proben in einer mit Fluorkohlenwasserstoff gefüllten Kapillare.

in Mikrofluidik-Systemen wegen der geringen Reynolds-Zahlen und der damit verbundenen laminaren Strömung problematisch, in homogenen Systemen werden hierfür spezielle Mikromischer verwendet.^[5]

Zheng und Ismagilov gelang es durch Ankopplung einer solchen Kapillare an einen Mikrofluidik-Chip, einfache chemische Reaktionen durchzuführen. Hierzu werden die vorbereiteten Probetröpfchen im Mikrofluidik-System im Durchfluss über eine T-Verbindung mit Reagentien versetzt (siehe Abbildung 2). In solchen Mikroreaktoren, die

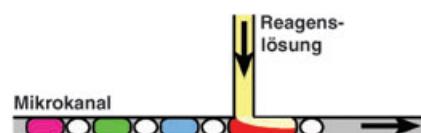


Abbildung 2. Schematische Darstellung der Mischung von Probezonen und einer Reagenslösung im Mikrofluidik-Chip.

Zheng und Ismagilov berichten, dass solche dreiphasigen Systeme deutlich robuster als zweiphasige Gas/Flüssig-^[2] oder Flüssig/Flüssig-Systeme^[3] sind. Die Koaleszenz und Verschleppung von Proben wird dadurch wirkungsvoller unterdrückt. Solche mit Proben beladenen Kapillaren sind sogar langzeitstabil und erscheinen als interessante Möglichkeit zur Lagerung von Proben im Nanoliterbereich.

Besonders attraktiv ist die Verwendung segmentierter Flüsse, bei denen Tropfen wässriger Reagentien in einer stark hydrophoben Flüssigkeit schwimmen, weil damit die effiziente Durchmischung von Reaktanten innerhalb eines Tropfens bei gleichzeitiger Unterdrückung der Probendispersion gelingt.^[4] Die Durchmischung von Substanzen ist

für zweiphasige Systeme bereits gut untersucht sind,^[6] verschmelzen die einzelnen Probetröpfchen mit der Reaktionslösung, ohne dass die Segmentierung gestört würde. Die Konzentrationen der Reaktanten können dabei leicht durch die Flussgeschwindigkeiten eingestellt werden.

Diese Technik wurde anhand zweier Beispiele illustriert. Zum einen wurden in einem Enzym-Assay mithilfe des fluorogenen Substrates Fluoresceindiphosphat unterschiedliche Proteine auf Phosphatase-Aktivität getestet. Hierzu wurde nach dem oben beschriebenen Prinzip das in einer Kapillare vorgelegte Array von Proteinproben ($\approx 15 \text{ nL}$) im Kreuzungspunkt des Mikroreaktors jeweils mit der Reagenslösung versetzt. Die Anwesenheit einer Phosphatase

[*] Dr. D. Belder

Max-Planck-Institut für Kohlenforschung
Kaiser-Wilhelm-Platz 1, 45470 Mülheim an
der Ruhr (Deutschland)
Fax: (+49) 208-306-2275
E-mail: belder@mpi-muelheim.mpg.de

[**] Abbildungen aus Lit. [1].

lässt sich nun anhand der Fluoreszenz des hydrolysierten Substrates nachweisen (siehe Abbildung 3).

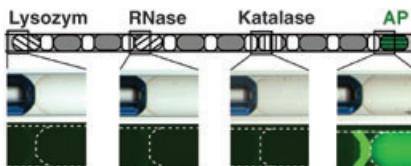


Abbildung 3. Schematische Darstellung und mikroskopische Aufnahmen eines Enzym-Assays auf Phosphatase-Aktivität mit einem fluorogenen Substrat.

Zum zweiten wurde die Technik zum Screening eines Proteins gegen unterschiedliche Kristallisationsreagentien verwendet. Hierzu wurde an den Reaktionschip neben der Probenkapillare zusätzlich eine Auslasskapillare gekoppelt, die die segmentierten Kristallisationslösungen aufnimmt. Solche Glaskapillaren sind für zeitaufwändige Kristallisationsversuche deutlich besser geeignet als die lösungsmittelpermeablen Mikrofluidik-Chips aus Polydimethylsiloxan.^[7]

Die aus Polydimethylsiloxan gefertigten Mikrofluidik-Chips erscheinen wegen ihrer Elastizität besonders geeig-

net zur Ankopplung von Kapillaren und Verbindungsstücken. Sehr attraktiv wäre eine Übertragung des Konzepts auf Chips aus Glas und Quarz, die wegen ihrer ausgezeichneten chemischen Resistenz und guten optischen Qualität als besonders geeignete Materialien für zukünftige komplexe Chip-Laboratorien angesehen werden.

In komplexeren Chip-Laboratorien wäre es für nachfolgende Operationen notwendig, die Segmentierung des Fluxes aufzuheben, um einen homogenen einphasigen Flüssigkeitsstrom zu erzeugen. In der klassischen Fließinjektionsanalyse werden dafür Blasenabscheider genutzt. Hibara et al.^[8] haben kürzlich ein entsprechendes Mikrofluidik-System zur Abscheidung von Gasblasen entwickelt, das auf Kanalsegmenten unterschiedlicher Hydrophobie basiert. Dabei werden die Gasblasen mittels hydrophober Kanäle abgetrennt, während die vereinigte wässrige Phase in einen hydrophilen Kanal strömt. Durch Anwendung dieses Ansatzes auf das von Zheng und Ismagilov beschriebene System könnte es gelingen, weitere Analyse schritte nachzuschalten (z.B. Elektrophorese), was einen wichtigen Schritt

hin zum Fernziel eines Labors auf einem Chip bedeuten würde.

Online veröffentlicht am 13. Mai 2005

- [1] B. Zheng, R. F. Ismagilov, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 2576–2579; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 2520–2523.
- [2] V. L. Linder, S. K. Sia, G. M. Whitesides, *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 64–71.
- [3] H. Song, R. F. Ismagilov, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 14613–14619.
- [4] a) H. Song, J. D. Tice, R. F. Ismagilov, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 792–796; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 768–772; b) A. Günther, S. A. Khan, M. Thalmann, F. Trachsel, K. F. Jensen, *Lab Chip* **2004**, *4*, 278–286.
- [5] J. M. Ottino, S. Wiggins, *Science* **2004**, *305*, 485–486.
- [6] a) B. Zheng, J. D. Tice, R. F. Ismagilov, *Anal. Chem.* **2004**, *76*, 4977–4982; b) L. S. Roach, H. Song, R. F. Ismagilov, *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 785–796; c) I. Shestopalov, J. D. Tice, R. F. Ismagilov, *Lab Chip* **2004**, *4*, 316–321; d) B. Zheng, L. S. Roach, R. F. Ismagilov, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11170–11171.
- [7] B. Zheng, J. D. Tice, L. S. Roach, R. F. Ismagilov, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 2562–2565; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2508–2511.
- [8] A. Hibara, S. Iwayama, S. Matsuoka, M. Ueno, Y. Kikutani, M. Tokeshi, T. Kitamori, *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 943–947.