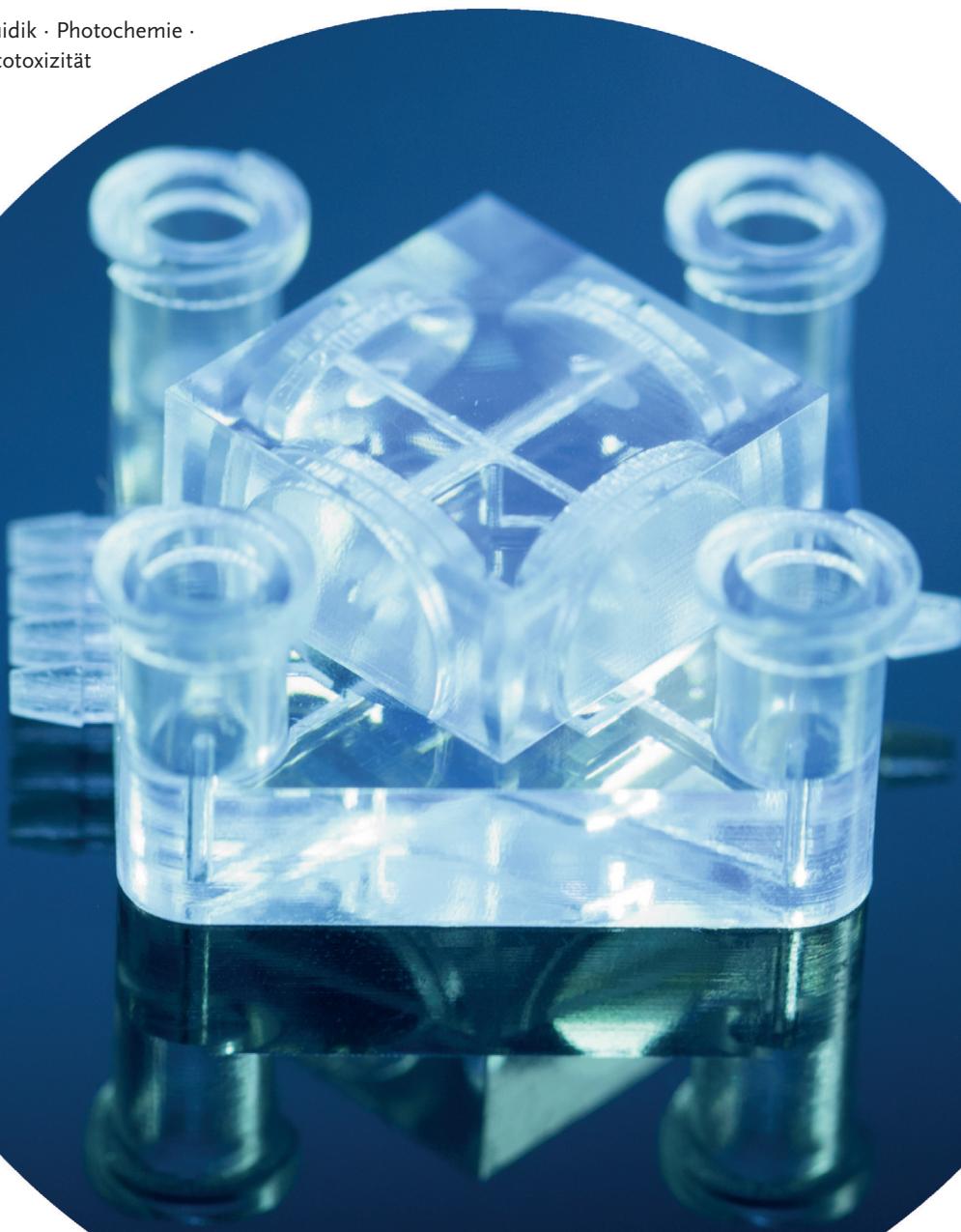


Mikrofluidik aus dem 3D-Drucker

Anthony K. Au,* Wilson Huynh, Lisa F. Horowitz und Albert Folch

Stichwörter:

3D-Druck · Mikrofluidik · Photochemie ·
Polymerisation · Zytotoxizität



Die Entwicklung der weichen Lithographie hat den Weg bereitet für große Fortschritte auf dem Gebiet der Mikrofluidik. Allerdings ist die Fertigung und der Betrieb von Mikrofluidiksystemen auf PDMS-Basis noch immer arbeitsaufwändig. Hinzu kommen sperrige Steuerungssysteme und unhandliche Benutzerschnittstellen, was insgesamt die Kommerzialisierung dieser Technologie erschwert. Mit dem 3D-Druck steht nun eine Technik zur Verfügung, die für die Entwicklung von Mikrofluidikelementen ideal geeignet scheint. Dabei verfährt man so, dass im Vorfeld des Fertigungsprozesses eine CAD-Datei entworfen wird, die später in den Drucker gespeist wird. Es besteht die Möglichkeit eines modularen Designs, das auf unterschiedliche Arbeitsteams aufgeteilt werden kann. Mechanisches Verhalten und Strömungsverhalten können vorab anhand von Computermodellen simuliert werden. Der Fertigungsprozess kommt ohne Ätz- oder Auflösungsprozesse aus und ist daher umweltschonend und wirtschaftlich. Wir prognostizieren, dass 3D-Druck in den kommenden Jahren die meisten PDMS- und Formgusstechniken im akademischen Bereich ersetzen wird.

1. Einführung

Mikrosysteme, vor allem in Form von mikroelektronischen Schaltkreisen und mikroelektromechanischen Systemen (MEMS), sind in riesiger Zahl in modernen Elektronikgeräten verbaut – von Smartphones, Spielzeugen und Haushaltsgeräten bis hin zu Laborinstrumenten und Autos. Diese Geräte verdanken ihren Erfolg mehreren Faktoren: Sie sind schnell, kompakt, billig und massentauglich; sie verbrauchen wenig Energie, und manche können sogar über drahtlose Netzwerke miteinander kommunizieren.

Mit einem anderen, neueren Typ von Mikrosystemen, den Mikrofluidikapparaturen, lassen sich winzige Mengen biomedizinischer Fluide prozessieren, bis hinab zu Pikolitern und einzelnen Zellen. Mikrofluidiksysteme haben die Gebiete der Genomsequenzierung, der Proteomik, der Zellbiologie und der medizinischen Diagnostik revolutioniert, wo sie die kostengünstige, individualisierbare und automatisierte Handhabung von Fluiden auf der Mikrometerskala ermöglichen.^[1] Mikrofluidiksysteme, die mehrere Funktionalitäten integrieren – z.B. Steuerelemente für die Zell- und Gewebeinkubation, enzymatische Prozessierung, biochemische Analyse, optoelektronische Anzeigen, computergesteuerte Mikropumpen und -ventile und drahtlose Mikrosteuerinstrumente –, werden als Chiplabor („Lab-on-a-Chip“) oder MicroTAS (auch µTAS; für „total analysis systems“) bezeichnet.^[2] Aufgrund ihrer niedrigen Kosten, der Miniaturisierung und ihrer Multifunktionalität – eine zuvor nicht bekannte Kombination von Merkmalen – geht man davon aus, dass diese integrierten Systeme bald eine ähnlich zentrale Rolle in der Biomedizin spielen werden, wie es die Mikroelektronik allgemein schon heute tut.^[3]

Die Materialien, aus denen Mikrofluidiksysteme gefertigt werden, sind unter Funktionalitätsgesichtspunkten zunehmend verbessert worden. Die ersten Mikrofluidiksysteme waren aus Glas und Silicium. Allerdings erfordert die Verar-

Aus dem Inhalt

1. Einführung	3927
2. 3D-Druckprozesse	3928
3. Mikrofluidiksysteme aus dem 3D-Drucker	3933
4. Vorteile der Stereolithographie gegenüber PDMS- und Kunststoffspritzguss	3936
5. Zusammenfassung und Ausblick	3943

beitung dieser Materialien komplexe Ätzprozesse und bleibt auf ebene, passive Apparaturen beschränkt. Die Einführung der weichen Lithographie^[4] – einer Klasse von Formguss-techniken mit dem Elastomer Poly(dimethylsiloxan) (PDMS) – ermöglichte die Herstellung von kostengünstigen Polymer-apparaturen sowie die Integration von Ventilen und Pumpen.^[5] Bis heute noch werden die meisten Mikrofluidik-systeme aus PDMS hergestellt.^[6] Tatsächlich ist PDMS ein preisgünstiges Material, das sich leicht in eine Form gießen lässt und dessen physikochemischen Eigenschaften gut ge-eignet sind für biomedizinische und physikalische Anwendungen.^[6,7] Für die Herstellung von Ventilen und Pumpen ist PDMS besser geeignet als Hartplastik, da der Young-Modul von PDMS (ca. 2 MPa^[8]) etwa 1000-mal kleiner ist als der von Hartplastik (damit können Ventile und Pumpen aus PDMS kleiner und schneller gebaut werden).

Allerdings ist der Einsatz von PDMS-Systemen mit einigen Hindernissen verbunden. Abbildung 1 veranschaulicht die drei Hauptschwierigkeiten. Erstens haben Mikrofluidik-systeme aus PDMS unhandliche Nutzerschnittstellen in Form hohler Metallstifte oder anderer nicht-standardisierter Ein-lasstöffnungen, die anfällig für Leckagen sind. Die Einführung von Industriestandards für Nutzerschnittstellen und leckfreie, intuitive Anschlüsse^[9] wäre eine Forderung an die Mikrofluidikentwickler. Zweitens erfordert die Automatisierung von PDMS-Systemen (Ventile, Pumpen) komplexe Software und pneumatische Schalter, die von hochqualifiziertem Personal bedient werden müssen. Abhilfe schafft derzeit die Entwicklung mikrofluidischer Schaltkreise aus mikrofluidi-schen Transistoren und Dioden, die einen automatisierten Betrieb der Chips ohne externe Steuerungssysteme erlaub-

[*] Dr. A. K. Au, W. Huynh, Dr. L. F. Horowitz, Dr. A. Folch
Department of Bioengineering, University of Washington
3720 15th Ave NE, Box 355061, Seattle, WA 98195 (USA)
E-Mail: antau@uw.edu

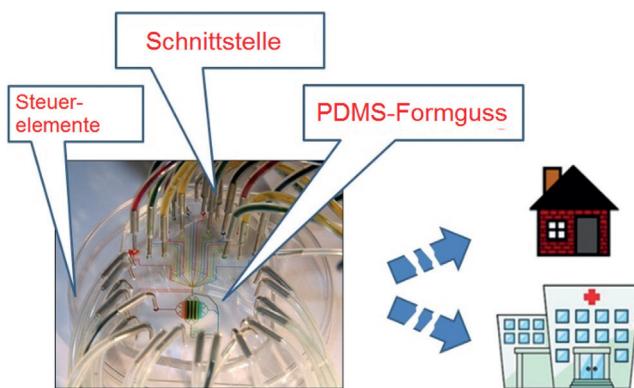


Abbildung 1. Wichtigste technische Hindernisse, die der Verbreitung von Mikrofluidikanwendungen im Wege stehen.

ben.^[10] Drittens ist der Formguss von PDMS ein sehr langer Prozess. In Anbetracht der Tatsache, dass Förderinstitutionen zum patientennahen Einsatz von Mikrofluidiksystemen drängen, erweist sich der Formguss von PDMS zunehmend als limitierender Faktor. Die offensichtlichen Alternativen – Hochdurchsatz-Gusstechniken wie Einspritzguss – sind sehr teuer und nicht gut geeignet für die Integration von Ventilen und Pumpen. Nicht zuletzt führen diese technischen Hindernisse auch zu einer gewissen Zurückhaltung seitens möglicher Investoren.

Dieser Aufsatz erklärt, wie 3D-Druck dazu beitragen kann, diese Hindernisse zu beseitigen. Tatsächlich steigt die Zahl an Veröffentlichungen mit den Stichwörtern „microfluidics“ und „3D printing“ im Web of Science exponentiell.^[11] Im Gegensatz zur weichen Lithographie bietet 3D-Druck eine leicht kommerzialisierbare Fertigungsweise für die Integration standardisierter Nutzerschnittstellen und

Steuerungssysteme in Polymermaterialien. Für kleine Produktionsläufe (von einem einzelnen Teil bis zu hunderten von Teilen) kann 3D-Druck wirtschaftlich und umweltschonend betrieben werden (kaum Abfall und Fertigungsmittel). Wichtig ist, dass 3D-Druck mit digitalem Design kompatibel ist: Teams an entfernt befindlichen Produktionsstätten können mittels CAD-Werkzeugen einzelne Module entwerfen, das Verhalten des Systems am Computer vorab simulieren und die Druckkosten präzise abschätzen^[12] – ein Fertigungsschema, das für komplexe PDMS-Systeme nicht routinemäßig verfügbar ist.

2. 3D-Druckprozesse

Der Begriff „3D-Druck“ umfasst eine Familie von additivbasierten Fertigungstechniken. Zu beachten ist, dass nicht alle 3D-Drucktechniken für die Mikrofluidik geeignet sind. Die am weitesten verbreiteten 3D-Drucktechniken im Bereich der Mikrofluidik sind: selektives Lasersintern (SLS) (Abbildung 2a), Schmelzschichtung (fused deposition modeling, FDM, auch bezeichnet als „thermoplastische Extrusion“) (Abbildung 2b), Tintenstrahldruck mit Photopolymeren (Abbildung 2c), das ebenfalls Tintenstrahl-basierte „Binder Jetting“ (Abbildung 2d), LOM-Verfahren (laminated object manufacturing) (Abbildung 2e) und Stereolithographie (SL) (Abbildung 2f). Die bisher einzigen 3D-Drucktechniken, die eine Routinefertigung geschlossener mikrofluidischer Kanäle erlauben, sind SL und LOM. Die übrigen Techniken können aber zumindest für die Herstellung von Mikrofluidikkomponenten Anwendung finden. Forschungen im Bereich Bioprinting werden hier ebenfalls besprochen, da Hydrogeldruck Potenzial für die Herstellung von Mikrofluidiksystmen hat.



Anthony Au studierte Biomedical Engineering an der Johns Hopkins University (B.S. 2008) und promovierte 2014 an der University of Washington bei Prof. Albert Folch. Er war Ingenieur in einem Biotech-Startup und forscht derzeit an der Entwicklung tragbarer Elektronik.



Lisa Horowitz promovierte 2000 in Neurowissenschaften an der Harvard Medical School bei Prof. Linda Buck. Sie absolvierte ein Postdoktorat bei Bertil Hille an der University of Washington (Ionenkanäle) und kehrte danach an das Fred Hutchinson Cancer Research Center in die Arbeitsgruppe von Linda Buck zurück. Ihre Forschungen liegen an der Schnittstelle von Mikrofluidik und Biologie, einschließlich Projekten aus den Neurowissenschaften, der Immun- und Krebstherapie.

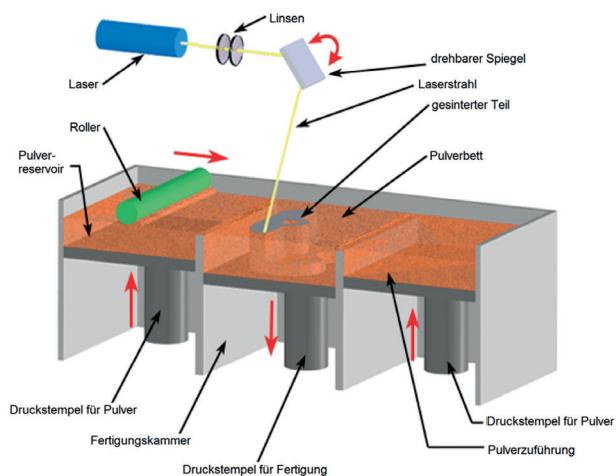


Wilson Huynh studierte Bioengineering an der University of Washington (B.S. 2014) unter der Anleitung von Prof. Albert Folch. Seine Forschungen galten der Entwicklung nutzefreundlicher Mikrofluidiksystme für Wirkstoffscreening und die personalisierte Krebstherapie. Derzeit ist er klinischer Assistent an einem Krebsforschungszentrum in Seattle, Washington, wo er die Auswirkungen von Krebsbehandlungen auf Patienten studiert.

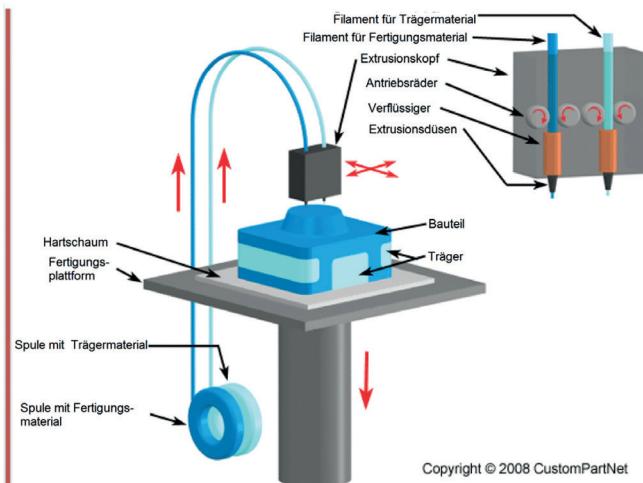


Albert Folch promovierte 1994 in Nanotechnologie an der Universität Barcelona. Er war Postdoktorand am MIT bei Martin Schmidt und Mark Wrighton sowie in Harvard bei Mehmet Toner. Seit dem Jahr 2000 ist er Associate Professor an der University of Washington (Bioengineering). Seine Forschungen liegen an der Schnittstelle zwischen Mikrofluidik, Neurobiologie und Krebsforschung. Seit 2007 betreibt seine Arbeitsgruppe ein Kunstprojekt namens BAIT (Bringing Art Into Technology).

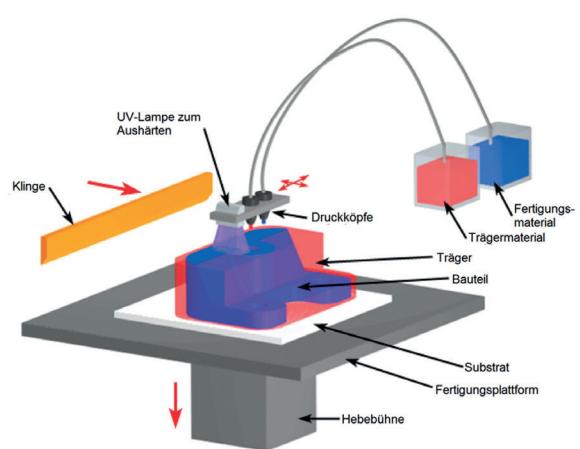
a) Selektives Lasersintern



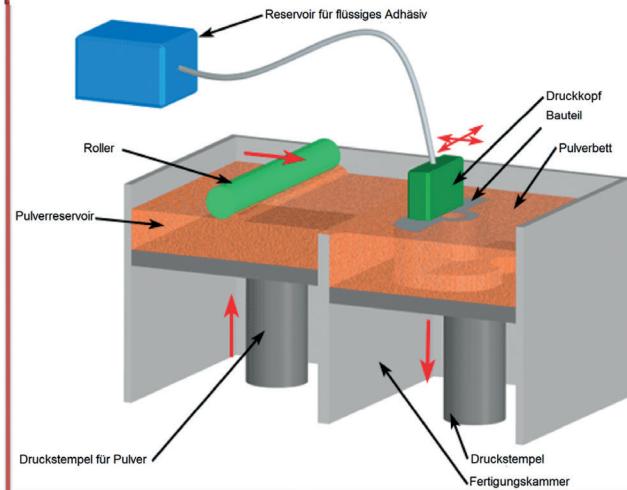
b) Fusionierte Abscheidung



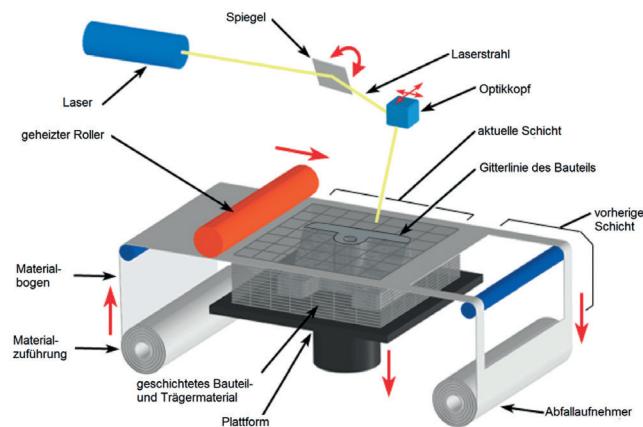
c) Tintenstrahldruck



d) 3D-Druck



e) LOM



f) Stereolithographie

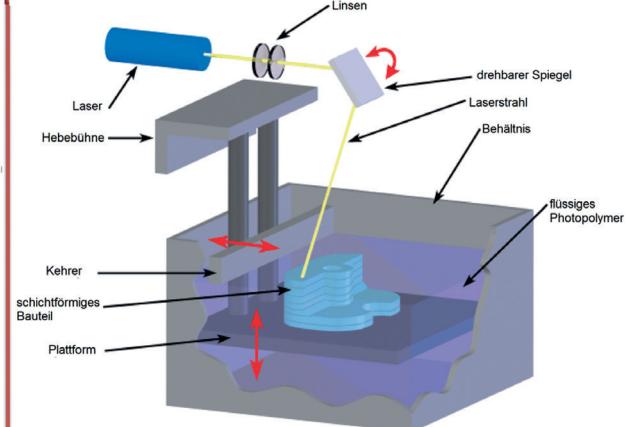


Abbildung 2. Verschiedene 3D-Drucktechniken. a) Selektives Lasersintern (SLS); b) Schmelzschichtung (FDM = fused deposition modeling, auch bezeichnet als „thermoplastische Extrusion“); c) Tintenstrahldruck von Photopolymeren; d) Binder Jetting, auch unter der Marktbezeichnung 3DP bekannt; e) LOM-Verfahren (laminated object manufacturing); f) Stereolithographie (SL). Abdruck mit Genehmigung von CustomPartNet.com.

2.1. Selektives Laserschmelzen und -sintern

Beim selektiven Lasersintern (SLS) wird, wie bei den meisten 3D-Drucktechniken, das zu druckende Objekt digital in Schichten zerlegt. Das als „Tinte“ eingesetzte Material ist ein Pulver, das von einem fokussierten Laserstrahl aufgeheizt wird. Der Laserstrahl wird dabei über die Konstruktionszone des Druckers bewegt und erzeugt Schicht für Schicht das Objekt. Nachdem eine Schicht dem Laserstrahl ausgesetzt war, wird die Konstruktionsplatine tiefer in das Pulver gesenkt, und ein Roller streicht nun die nächste dünne Schicht Pulver über das Objekt (Abbildung 2b). Am Schluss muss das Objekt aus der Pulvermasse herausgelöst werden, und das verbliebene Pulver wird mit Druckluft weggeblasen. Handelt es sich um eine reine Metalllegierung, bezeichnet man die Technik als selektives Laserschmelzen (SLM). SLM kann zur Herstellung von reinen Metallteilen verwendet werden. Werden Polymere als Pulver eingesetzt, bewirkt der Laserstrahl lediglich eine thermische Behandlung (Sintern), und die Materialien werden nicht vollständig geschmolzen. Diese Technik nennt man selektives Lasersintern (SLS). Energie kann außerdem mithilfe eines Elektronenstrahls geliefert werden (Elektronenstrahlschmelzen, EBM).^[13]

SLS hat zahlreiche Anwendungen in der Biomedizin gefunden. Anatomisch korrekte Gerüststrukturen für die Reparatur von Knochengewebe oder die Knochengewebezüchtung (z.B. individuell angepasste Kiefer- oder Schädel-implantate) wurden aus abbaubaren und nicht-abbaubaren Biopolymeren, Keramiken und Kompositen hergestellt. Auch personalisierte Systeme für den Wirkstofftransport oder chirurgische Modelle spezifischer Organe auf der Basis medizinischer Bildgebungsdaten (z.B. MRI oder CT) wurden mittels SLS entwickelt (siehe Übersichtsartikel in Lit. [14]). Ein Luftröhrenimplantat aus Polycaprolacton wurde kürzlich mittels SLS-Druck erzeugt und erfolgreich einem Neugeborenen implantiert.^[15] Biokompatible Metalle wie Titan sind von größter Bedeutung für die Herstellung von Implantaten, wegen der Härte des Materials ist ihre Bearbeitung allerdings extrem teuer. Dienstleister für SLS-Druck (z.B. Renishaw)^[16] bieten mittlerweile personalisierte Implantate an (z.B. Zahnbrücken, Knochenrekonstruktionen usw.).

Die Popularität von SLS erklärt sich durch mehrere Faktoren. Der Vorteil dieser Technik gegenüber anderen 3D-Drucktechniken ist, dass die aus den Pulvern erzeugten Materialien nach dem Sintern hohe Reinheiten aufweisen und auch sonst ähnlich gute Eigenschaften wie Materialien aus traditionellen Fertigungsprozessen haben. Die Maschinen können unterschiedliche Pulver verarbeiten, was den Druck von Objekten aus mehreren Materialien ermöglicht. SLS kann auch verwendet werden, um Metallmuster auf Polymere wie PDMS zu drucken,^[17] eine Eigenschaft, die für die Herstellung von Biosensoren genutzt werden könnte. SLS ist derzeit die Methode der Wahl zur Produktion von High-End-Prototypen in der Industrie, z.B. beim Automobilbau, der Spielzeugindustrie, für Sportbekleidung, Küchengeräte usw.

2.2. Tintenstrahldruck mit Photopolymeren

Tintenstrahldruck mit Photopolymeren ist eine einfache Technik, die auf dem Verbrauchermarkt jüngst breite Popularität errungen hat. Das Konzept der Verwendung von Tintenstrahldruckern zum Aufbau von 3D-Strukturen mit härtenden Polymeren wurde erstmals 1999 von der Firma Objet (mittlerweile von Stratasys akquiriert) patentiert (U.S. Patent 6259962). Tintenstrahldruck mit Photopolymeren ist auch unter den Bezeichnungen PolyJet oder MultiJet Modeling (MJM) bekannt (Abbildung 2c). Eine große Spannbreite an Materialien kann mit der PolyJet-Technologie gedruckt werden (weiche und harte sowie vielfarbige Kunststoffe und Elastomere),^[18] allerdings sind die Materialformulierungen patentgeschützt, was den Anwender zum Kauf kostspieliger Bestände zwingt. Studien zur Bio- und Zellkompatibilität fehlen bislang. Mittels PolyJet gedruckte, anatomisch korrekte Modelle wurden zur besseren Planung medizinischer Eingriffe, wie z.B. orthopädischen,^[19] kardialen^[20] und intrakranialen^[21] Operationen, genutzt. Eine ähnliche, als „Binder Jetting“ bezeichnete Technik (vermarktet als 3DP) (Abbildung 2d) verwendet Pulver und ein wasserbasiertes Bindemittel zur Herstellung von 3D-Strukturen und kommt ohne teure Tinten aus. 3D-Systems vertreibt mehrfarbige 3DP-Maschinen. PolyJet- und 3DP-Maschinen können große Objekte aus vielen verschiedenen Materialien drucken (ca. $20 \times 20 \times 20 \text{ cm}^3$), darunter sogar mechanische Komponenten (z.B. Zahnräder; das Pulver selbst wird als „Opfermaterial“ verwendet und am Ende des Prozesses weggeblasen) und Schaltkreise aus Metall (z.B. Feldeffekttransistoren).^[22] Die fertigen Objekte können metallisiert oder als Gussformen für Metallgießen verwendet werden.

2.3. Schmelzschichtung

Bei der Schmelzschichtung (fused deposition modeling, FDM) wird ein aufgeheiztes thermoplastisches Material aus einer positionierbaren Düse extrudiert, entsprechend wird die Technik auch als thermoplastische Extrusion bezeichnet (Abbildung 2e). Das ursprüngliche FDM-Patent (U.S. Patent 5121329) wurde 1992 Scott Crump, dem Gründer von Stratasys, erteilt. FDM ermöglicht den Druck biokompatibler und kostengünstiger Polymere, z.B. Acrylonitrilbutadienstyrol (ABS, das Material der Legosteine), Polymilchsäure (PLA, ein biologisch abbaubares Polymer), Polycarbonat, Polyamid und Polystyrol. Seit Ablauf des ursprünglichen Patents sind zahlreiche Hardware-Entwickler für FDM-Maschinen auf den Plan getreten (z.B. MakerBot), die zunehmend preiswerte Modelle auf den Markt gebracht haben, sodass die Technik mittlerweile breit verfügbar und populär ist.

Das in schichtförmigen Filamenten abgeschiedene Material besitzt eine andere Struktur als das normale Festkörpermaterial, das z.B. durch Einspritzguss erzeugt wird. Mit FDM gedruckte Blöcke sind weniger dicht und anfälliger gegen Bruchschäden als gegossene Objekte, da zwischen den Filamenten keine gut Verbindung besteht. Mit teuren High-End-Maschinen, in denen das gedruckte Teil in einem geheizten

Gehäuse aufgebaut wird, lassen sich diese Defekte verringern (aber nicht gänzlich ausschalten).^[23] FDM-Druck erzeugt geringe Rauchbelastungen beim Aufheizen des Kunststoffs. Dieser Rauch stellt eine potenzielle Gesundheitsgefährdung dar und würde bei einem Routinebetrieb mehrerer dieser Geräte zusätzliche Entlüftungsanlagen erfordern.

In einer Variante von FDM wird flüssiges Ausgangsmaterial ohne Heizen durch eine Düse gepresst. Eine Bandbreite von Materialien kann damit verarbeitet werden, darunter metallische Lösungen, Hydrogele und zellbasierte Lösungen (siehe Abschnitt 2.6). Mehrere Arbeitsgruppen berichteten über die Fertigung von elektronischen Komponenten wie LEDs,^[24] Batterien,^[25] biegsamen Substraten,^[26] Antennen auf 3D-Oberflächen,^[27] Verschaltungen^[28] und Elektroden in biologischem Gewebe.^[29] Die Extrusion flüssiger Materialien könnte eine kostengünstige Methode für die Einbindung von Sensoren und Aktuatoren in Mikrofluidiksysteme werden.

2.4. LOM-Verfahren

Beim kostengünstigen LOM-Verfahren (laminated object manufacturing) werden Kunststoffe, Metalle und keramische Laminate mit einem Laser geschnitten und schichtweise zu Objekten zusammengefügt. Leim oder chemische Bindungen werden genutzt, um die Schichten zusammenzuhalten. Die Assemblierung und Stapelung der Schichten kann manuell oder mithilfe spezieller Maschinen erfolgen (Abbildung 2 f). Erfolgt der Laminatschnitt mittels der Spitze eines physikalischen Plotters, spricht man von „Xurographie“.^[30] In den meisten LOM-Anwendungen wurden Metalle^[31] oder keramische Laminate^[31b] verwendet, die mit anderen Methoden schwierig zu verarbeiten sind. Obwohl LOM keine vollständig additive Technik ist (es erfordert Ätzvorgänge und die Assemblierung jeder Schicht), kann der Fertigungsprozess, wie bei jedem anderen 3D-Druckprozess, digital vollständig spezifiziert werden.

2.5. Stereolithographie

Bei der Stereolithographie (SL), die in ihrer ursprünglichen Form 1986 von Charles W. Hull erfunden wurde (U.S. Patent 4575330),^[32] wird ein Laser auf ein mit flüssigem Photopolymerharz gefülltes Gefäß fokussiert, um durch schichtweise selektive Polymerisation 3D-Polymerstrukturen zu erzeugen (Abbildung 2 a).^[33] Hull beschrieb die Stereolithographie ursprünglich als einen Prozess mit UV-härtbaren Materialien, mit modernen Hochintensitätslasern und fokussierten LED-Lichtquellen kann jedoch mittels geeigneter Photoinitiatoren auch im sichtbaren Bereich polymerisiert werden.^[34] Im klassischen Stereolithographieprozess wird die Auflösung (die kleinste erreichbare Strukturgröße) hauptsächlich von der Größe des Laserspots und dem Harztyp bestimmt. Da Harze unterschiedliche Lichtabsorptionsspektren haben, ergeben sich auch unterschiedliche Eindringtiefen des Lasers. Die gleichen Belichtungsparameter können daher bei unterschiedlichen Harzen zu völlig verschiedenen

Strukturen führen. Während in der klassischen Stereolithographie der Laser sequenziell über jedes Strukturteil in einer Schicht Harz gefahren wird, nutzt man in einer Variante der Methode digitale Lichtprojektion (DLP), um eine komplette Schicht Harz auf einmal zu vernetzen. Diese Strategie wurde erstmals mit einem Flüssigkristalldisplay (LCD) demonstriert,^[35] heutzutage werden jedoch kostengünstige, kommerziell erhältliche Projektoren mit digitalem Mikrospiegeldisplay (DMD) eingesetzt.^[33b] Bei dieser Form der Stereolithographie wird die kleinste Strukturgröße von der Größe der projizierten Pixel bestimmt. Diese können deutlich kleiner sein als die in der konventionellen Stereolithographie eingesetzten Laserspots. In beiden Varianten der Stereolithographie kann nach der Bestrahlung im Gefäß verbliebenes Harz nochmals verwendet werden.

Bei der Stereolithographie wird das Objekt zunächst digital in Schichten zerlegt. Der Druck erfolgt dann, indem die Lichtquelle über die Flüssigkeitsoberfläche fokussiert wird. Es gibt zwei Strategien zur Anstrahlung des Harzes, bei denen die Photopolymerisation entweder von der oberen oder unteren Seite des Gefäßes stattfindet, sowie zwei Arten von Lichtquellen für den Druck: Laser und DLP. Bei den von 3D Systems entwickelten laserbasierten Stereolithographiemaschinen wird die metallische Konstruktionsscheibe nach Erzeugung einer Schicht weiter in das harzbefüllte Gefäß abgesenkt. Da die Photopolymerisation an der oberen, der Luft ausgesetzten Seite des Harzes stattfindet, bezeichnet man diese Konfiguration als Free-Surface-Technik (Abbildung 3 a). Bei den meisten anderen Laser- und DLP-basierten Stereolithographiemaschinen wird die Metallscheibe kopfüber aufgehängt, und die Photopolymerisation findet von der Unterseite des Harzgefäßes statt. Diese Konfiguration wird als Constrained-Surface-Technik bezeichnet (Abbildung 3 b) und ist auch unter dem Namen Fledermaus-Konfiguration bekannt.^[34] Bei der älteren Free-Surface-Technik wirken beim Übergang zur nächsten Schicht geringere mechanische Kräfte auf das Objekt ein, was zu einer besseren Strukturqualität führen kann. Allerdings bietet die Fledermaus-Konfiguration spezifische Vorteile:^[36] 1) Die Höhe des Objekts ist nicht durch die Tiefe des Gefäßes limitiert. 2) Die erreichbare Schichtdicke wird nur durch das Z-Inkrement bestimmt und ist unabhängig von der Viskosität des Harzes. 3) Da die Aushärtung weit entfernt von der Oberfläche des flüssigen Harzes erfolgt, ist eine etwaige Hemmung durch den Luftsauerstoff minimiert, und das Harz kann schneller aushärten. Allerdings muss der Drucker jeweils die zuletzt ausgehärtete Schicht mechanisch von der unteren Seite des Gefäßes separieren (das üblicherweise mit PDMS beschichtet ist) – ein langsamer Prozess, der fragile Strukturelemente zudem deformieren kann. Kürzlich wurde eine Modifikation der Fledermaus-Konfiguration eingeführt, welche die kontrollierte Sauerstoffhemmung der untersten Harzsicht ausnutzt. Bei diesem „kontinuierlichen Drucken“ ist die untere Scheibe sauerstoffdurchlässig, sodass die photopolymerisierten Regionen im Harz suspendiert verbleiben, statt am unteren Träger anzuhafte. Dadurch lässt sich die Separation der Schichten umgehen, und es wurde ein 100-fach schnelleres Drucktempo erzielt.^[37] Daneben wurden noch andere kontinuierliche Druckverfahren vorgestellt.^[38]

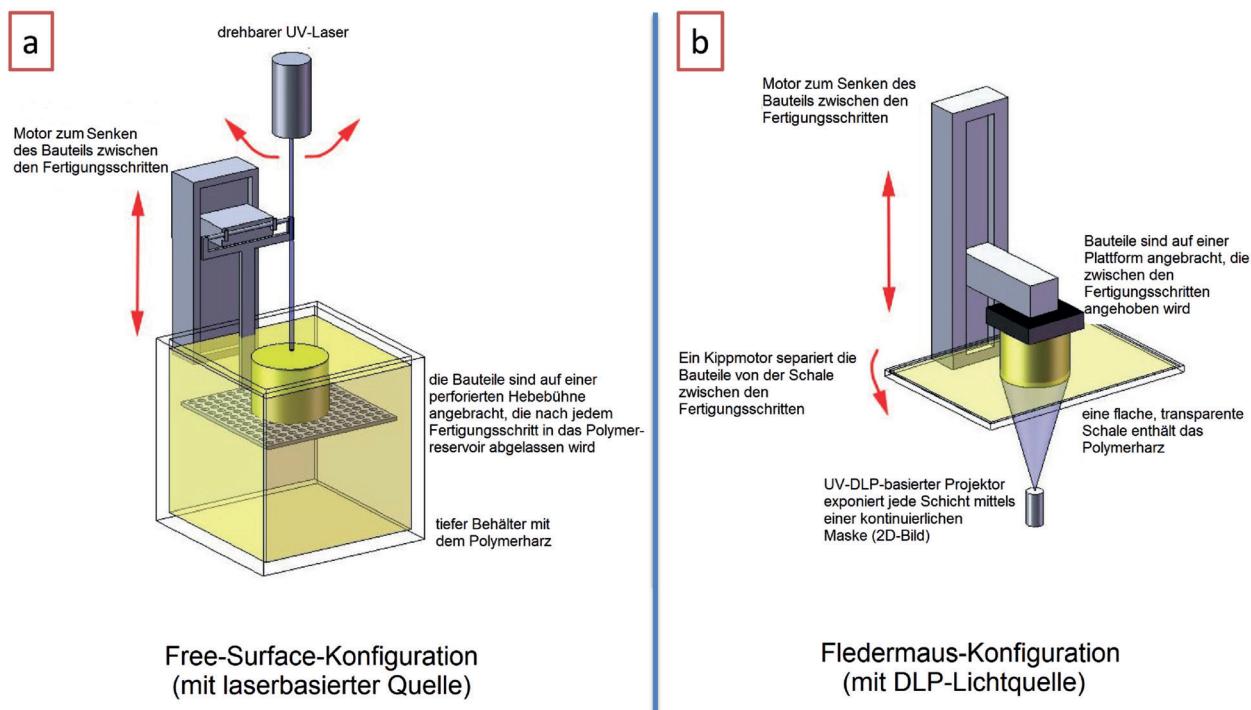


Abbildung 3. Zwei Konfigurationen für stereolithographisches Drucken. a) Laser-Scanning in der Free-Surface-Konfiguration. b) DLP in der Constrained-Surface- oder „Fledermaus“-Konfiguration. Aus Lit. [39] mit Genehmigung von IOP Publishing und David Dean.

Direct Laser Writing (DLW) ist eine ähnliche Technik, sollte aber nicht mit Stereolithographie verwechselt werden.^[40] (Leider wird der Begriff „Direct Laser Writing“ in der Literatur relativ großzügig benutzt.) Beim DLW-Verfahren wird eine Schicht Photoharz mit einem Laser bestrahlt, der in drei Raumrichtungen gelenkt werden kann. Wie bei der Stereolithographie können Mehrphotonenoptiken genutzt werden, um sehr hohe Auflösungen zu erzielen. Der grundlegende Unterschied zwischen Stereolithographie und DLW ist, dass bei der Stereolithographie eine Flüssigkeit bestrahlt wird (das Harz), während bei DLW die Bestrahlung einer festen Photoharzsicht erfolgt (nach dem Verdampfen des Lösungsmittels). Beim DLW-Verfahren muss daher das Photoharz nach Ende der Bestrahlung entwickelt werden. DLW gehört damit nicht zur Klasse der additiven Techniken – es ist, ähnlich wie Mikrobearbeitung und Photolithographie, eine „subtraktive“ Technik in dem Sinne, dass der Großteil des Grundmaterials (hier Photoharz) verschwendet wird. Um Mikrokanäle mittels DLW herzustellen, wird der Laser verwendet, um im Entwickler die Solubilität der Wände (oder des Kerns) zu verändern, allerdings muss nachfolgend eine selektive Auflösung des Mikrokanalkerns in der Entwicklerlösung vorgenommen werden. Der hohe Preis von DLW-Systemen (wie z.B. Nanoscribe)^[41] ist einer Verbreitung der Technik hinderlich. Der Einfachheit halber besprechen wir die wenigen Arbeiten über DLW-gefertigte Mikrofluidikanäle im Abschnitt über Stereolithographie.

2.6. Bioprinting

Bioprinting wurde definiert als „die Verwendung von Drucktechniken zur Abscheidung von lebenden Zellen, Bestandteilen der extrazellulären Matrix (ECM), biochemischen Faktoren, Proteinen, Wirkstoffen und Biomaterialien auf einem festen oder gelartigen Träger oder einem Flüssigkeitsreservoir“.^[42] Frühe Anwendungen nutzten Laser Writing, um Zellen abzuscheiden^[43] oder Zellen mittels Tintenstrahltechniken direkt zu drucken.^[44] Extrusionsstifte (FDM mit Raumtemperaturflüssigkeiten), Elektrospray und selektive Photopolymerisation wurden inzwischen dem Arsenal von Bioprintingtechniken zugefügt (siehe Übersichtsartikel Lit. [45]).

Während diese Techniken ein großes Potenzial für die Gewebezüchtung haben, ist ihre Anwendung in der Mikrofluidik noch Zukunftsmusik, da in den meisten Fällen der Transfer der biologischen Tinte auf ein weiches Substrat schwierig zu kontrollieren ist. Zu bemerken ist, dass Stereolithographiesysteme erfolgreich im Bioprinting eingesetzt wurden, um Zellen in Hydrogelen zu verkapseln (siehe Übersicht Lit. [47]).^[46] Stereolithographie erlaubt es dem Anwender, heterogene Grundgerüste^[48] von Komponenten der extrazellulären Matrix und anderen biokompatiblen Hydrogelen wie PEG-Diacrylat^[48,49] (Abbildung 4a–c), Gelatin-methacrylat^[50] (Abbildung 4d,e), Hyaluronsäure^[51] und PEGylierten/funktionalisierten Alginaten^[52] zu definieren. Im Prinzip sollte es möglich sein, komplexe Grundgerüste zu definieren, die als mikrofluidische Gefäßmimetika oder sogar „lebende zelluläre Maschinen“ dienen.^[53]

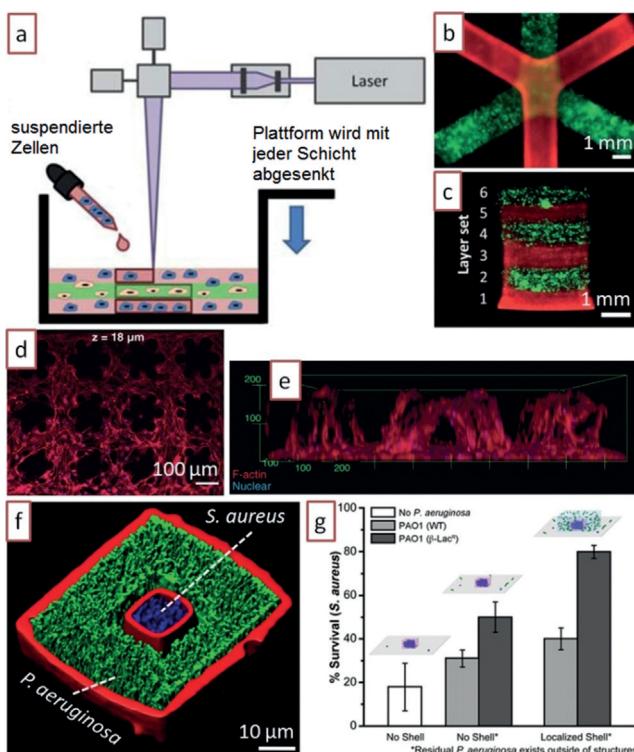


Abbildung 4. Bioprinting. a) Experimenteller Aufbau für die strukturierte Verkapselung von Zellen in PEG-basierten photovernetzbaren Hydrogelen durch Stereolithographie. b) Aufsicht auf ein mehrschichtiges Strukturelement, das mit dem Aufbau in (a) gedruckt wurde und mit CellTracker Green oder CellTracker Orange angefärbte 3T3-Fibroblasten enthält. c) Seitenansicht des Strukturelements in (b). d) Konfokaler Z-optischer Abschnitt einer 3D-zellulären Anordnung von 3T3-Fibroblasten, die mittels Stereolithographie in ein Gelatinemethacrylat-Gerüst gedruckt wurden. e) Seitenansicht des Strukturelements in (d). f) Mikrocluster von *S. aureus*-Bakterien, die in eine hochdichte Population von *P. aeruginosa* in BSA-Gelatin-Mikrocontainern hineingedruckt wurden. g) Die Überlebensrate der zu Mikroclustern gedruckten *S. aureus* in (f) ist deutlich erhöht. Teilbilder (a) bis (c) aus Lit. [49b] mit Genehmigung der Royal Society of Chemistry. Teilbilder (d) und (e) aus Lit. [50b] mit Genehmigung von John Wiley and Sons. Teilbilder (f) und (g) aus Lit. [55], Copyright 2013 National Academy of Sciences, USA.

Beim Bioprinting ist die Wahl des Photosensibilisators, der die Photovernetzung reaktion initiiert, entscheidend, da sich dies auf die Zellviabilität auswirkt. Shear und Mitarbeiter beschrieben die Photovernetzung von Gelatine und anderen Proteinen mit Methylenblau oder Bengalrosa als Photosensibilisatoren und umgingen damit die Verwendung von weniger biokompatiblen methacrylierten Polypeptiden (z.B. Ir-gacure 2959)^[54] als Vernetzungsreagentien. Mit einem DMD-basierten Mehrphotonensystem druckten sie dreidimensionale Gelatinekammern, die interagierende wechselwirkende bakterielle Ökosysteme verkapselten (Abbildung 4 f,g).^[55]

3. Mikrofluidiksysteme aus dem 3D-Drucker

3.1. Fertigung durch Stereolithographie

Beim Stereolithographieprozess werden die Mikrokanäle präzisiert, indem die Wandungen der Kanalkavitäten polymerisiert werden und anschließend nichtgehärtetes Vorstufenmaterial des Photopolymers ausgespült wird. Der minimal erreichbare Kanalquerschnitt hängt ab von der Viskosität des Vorstufenmaterials und der Art des Harzes – sowie auch der Erfahrung des Experimentators beim Ausspülen des Kanals.^[12] Renaud und Mitarbeiter entwickelten eine stereolithographische Konfiguration basierend auf einem dynamischen Strukturmustergenerator (Abbildung 5a), mit dem sie das erste mittels Stereolithographie gedruckte Bauelement fertigten – einen Mischer mit einer komplexen internen 3D-Architektur, die durch Formgussverfahren so nicht erzeugt werden kann (Abbildung 5b).^[56] Mit diesem effizienten

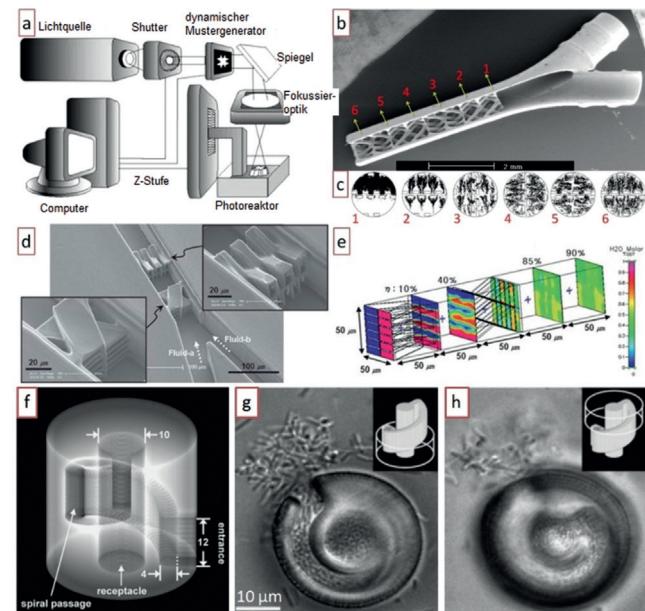


Abbildung 5. Stereolithographisch gedruckte Mikrofluidiksysteme.

a) Stereolithographischer Aufbau, mit dem das erste mikrofluidische Bauelement gedruckt wurde. b) SEM-Aufnahme eines Mikrokonnektors als Teil des ersten stereolithographisch gedruckten Mikrofluidiksystems. c) Numerische Simulationen des Bauelements in (b) an den markierten Positionen. d) SEM-Aufnahme eines Mikromischers, der durch Direct Laser Writing (DLW) in SU-8 gedruckt wurde. e) Numerische Simulation des Mischungsverhaltens des Mischers in (d); die in 5-fachem Abstand der Kanalweite gemessene Vermischungseffizienz η beträgt 90% für $Re=1$ und die Péclet-Zahl = 1000. f) Digitale Darstellung einer mikrofluidischen „Hummerfalle“ für Bakterien. Das Strukturelement wurde mithilfe einer Abfolge von 120 Masken hergestellt, die jeweils durch einen vertikalen Versatz von 0.3 µm bezüglich der Röhrelebene separiert waren. Die Herstellung erfolgte in Rinderserumalbumin innerhalb von etwa 2 min. g) Ansammlung einer *E. coli*-Kolonie auf dem Boden der Hummerfalle. h) Beim Inkubieren über Nacht wuchs die Kolonie in den oberen Bereich der Falle. Teilbild (a) aus Lit. [33b] mit Genehmigung der Autoren. Teilbilder (b) und (c) aus Lit. [56] mit Genehmigung der Royal Society of Chemistry. Teilbilder (d) und (e) aus Lit. [57] mit Genehmigung der Royal Society of Chemistry. Teilbilder (f) bis (h) aus Lit. [58] mit Genehmigung von John Wiley and Sons.

Mischer gelang die vollständige Durchmischung eines Fluids nach einer Strecke von 4 mm bei $Re = 12$ (Abbildung 5c).

Mehrphotonenoptiken können verwendet werden, um die Auflösung der angestrahlten Fläche zu erhöhen. Ein mikrofluidischer Mikromischer mit ca. $10 \mu\text{m}$ weiten Kanälen (Wanddicke ca. $1 \mu\text{m}$) wurde durch DLW in Photolack SU-8 hergestellt (Abbildung 5d,e).^[57] Shear und Mitarbeiter nutzten digitale Mikrospiegelapparaturen (DMDs) und Mehrphotonenoptiken, um hochauflöste 3D-Proteinstrukturen in Form von Stapeln 2D-tomographischer Scheiben herzustellen, die in Submikrometerauflösung mittels Methylenblau als Sensibilisator seriell gedruckt wurden.^[58] Einige der Strukturen enthielten fluidische Kavitäten, wie z.B. eine Mikrokammer zur Steuerung der bakteriellen Motilität (Abbildung 5 f–h).^[58,59]

3.2. Fertigung durch selektives Lasersintern

SLS eignet sich zur Fertigung von kleinen metallischen Teilen wie z.B. interdigitierten Superkondensatoren.^[60] In der Luftfahrt- und Automobilbranche denkt man über die Produktion (nicht nur Prototypenbau) von kleinen, komplexen Titanteilen mittels SLS nach. Der Hauptvorteil sind die niedrigeren Fertigungskosten mit SLS im Vergleich zu traditionellen Produktionsverfahren (in der Luftfahrt bedeuten 100 kg weniger Gewicht eine Treibstoffeinsparung von \$2.5 Millionen).^[61] Wegen der festen (nichtfließenden) Form des pulvriegen Vorstufenmaterials sind mikrofluidische Anwendungen jedoch eine Herausforderung. Strömungsapparaturen aus Titan und Edelstahl wurden kürzlich durch SLS hergestellt. Das pulvrige Vorstufenmaterial konnte aus 300 mm langen Röhren mit 3 mm Durchmesser evakuiert werden, längere Röhren verstopften jedoch (Abbildung 6).^[62]

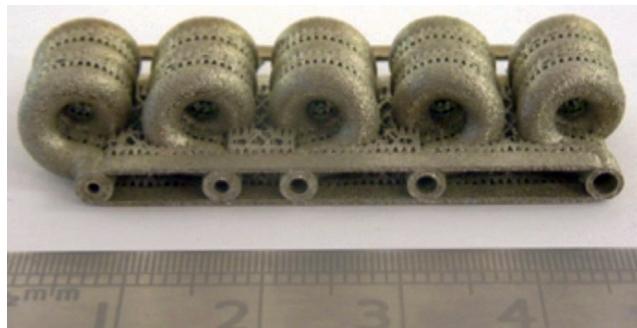


Abbildung 6. Strömungselement aus Edelstahl, gedruckt durch selektives Lasersintern (SLS). Aus Lit. [62] mit Genehmigung der Royal Society of Chemistry.

3.3. Fertigung durch Tintenstrahldruck von Photopolymeren

Hohe Auflösungen und die Fähigkeit zum Druck mehrerer Materialien macht Tintenstrahldruck von Photopolymeren, oder PolyJet, zu einer vielversprechenden Technologie. Lineare mikrofluidische Kanäle, die in VeroClear (einem durchsichtigen Acrylat-basierten Material der Firma Stratasys) gedruckt waren, wurden mittels Kapillaren (Ausscha-

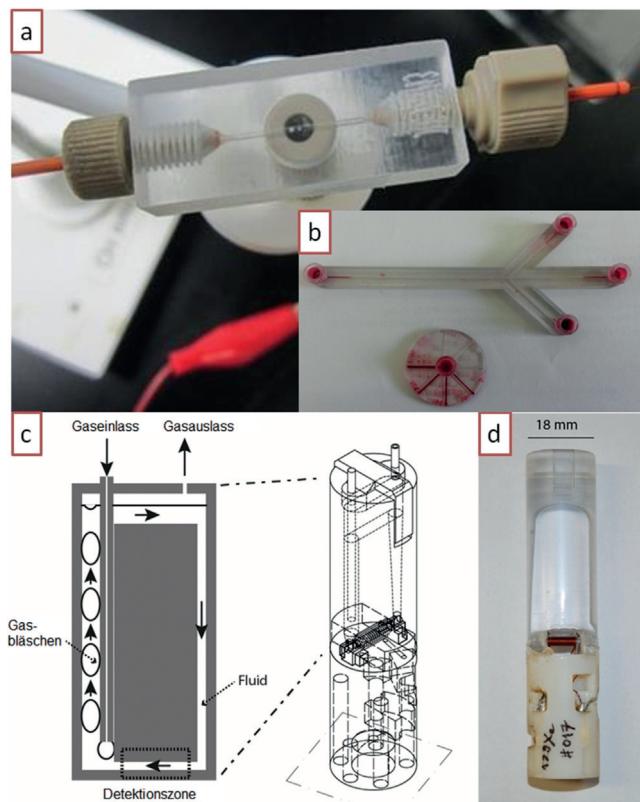


Abbildung 7. Mittels PolyJet gedruckte mikrofluidische Bauelemente. a) Der Kanal ist $500 \mu\text{m}$ weit und wurde mithilfe einer zylindrischen Sonde mechanisch gesäubert. b) Testdrucke zweier mikrofluidischer Bauelemente mittels PolyJet. Der Kern des Kanals wurde mit einem sakrifiellen Material definiert und mit NaOH aufgelöst. Die Einspeisung von rotem Farbstoff zeigt, dass kleine und sehr lange Kanäle nicht gänzlich von sakrifiellen Material gesäubert werden können. c) Schemabild und d) Photographie einer NMR-Blasenpumpe, gedruckt mittels PolyJet. Teilbild (a) aus Lit. [63] mit Genehmigung der Royal Society of Chemistry. Teilbild (b) mit Genehmigung von Rob Ameloot und Clement Achille. Teilbilder (c) und (d) aus Lit. [65] mit Genehmigung der Royal Society of Chemistry.

ben), Ultraschallbehandlung und Druckluft mechanisch gereinigt (Abbildung 7a).^[63] Kanäle mit Querschnitten unter $500 \mu\text{m}$ konnten nicht verlässlich gereinigt werden. Mikrofluidische Kanäle beliebiger Geometrien können bisher nicht mittels PolyJet in einem Schritt erzeugt werden, da Stratasys und/oder ZCorp (eine Tochter von 3D Systems) noch kein Material entwickelt haben, das als druckbares sakrifielles Material zum Drucken des Kanalvolumens genutzt werden könnte. Stratasys erforscht gegenwärtig ein mutmaßlich lösliches Trägermaterial, aber die erfolgreiche Entfernung dieses zweiten Materials (mit NaOH) aus Mikrokanälen ist eine Herausforderung, da der Entfernungsprozess diffusionsbegrenzt ist (Abbildung 7b). Eine aus zwei Materialien bestehende Kappe zur Druckregelung eines mikrofluidischen Systems wurde mittels Tintenstrahldruck hergestellt.^[64] Eine Blasenpumpe, die von vertikalen Kanälen durchzogen ist, wurde auf einfache Weise mit PolyJet hergestellt, allerdings konnte der Fluidkreislauf nur geschlossen werden, wenn die Kappe separat gefertigt wurde.^[65] Ein verbleibendes Problem ist, dass die gedruckten Harze nicht optimiert oder bezüglich

Zellkompatibilität charakterisiert wurden, außerdem hinterlassen diese Materialien einen ungeklärten Geruch, der auf die Anwesenheit von persistenten, möglicherweise nicht zellkompatiblen Verbindungen hinweist.

3.4. Fertigung durch Schmelzschichtung

FDM ist aus topologischen Gründen für die Herstellung mikrofluidischer Systeme nicht gut geeignet, da der Extrusionsprozess Filamente abscheidet, die an Kanalkreuzungen nicht beliebig zusammengefügt werden können (Bildung von Lecks ist wahrscheinlich) und die im Verhältnis zu den Mikrokanalabmessungen groß sind (Abbildung 8 a–c).^[66] Obwohl eine Suche nach „fluid“ in Thingiverse^[67] (Maker-Bots freier Website für den Austausch nicht-kommerzieller

3D-Designs) mehr als 200 FDM-druckbare, angeblich dichte Designs mit großen Strukturelementen liefert (z.B. ein fluidischer Vortex oder ein fluidischer Verstärker), sind die Daten sehr spärlich und qualitativ. Eine mittels FDM in ABS-Polymer erzeugte Strömungsapparatur mit 3 mm Kanaldurchmesser wurde kürzlich beschrieben.^[62] Allerdings leckten die 5 mm dicken Wandungen der Apparatur an mehreren Stellen, wenn ein Druck von 20 bar angelegt wurde. Die Fähigkeit der 3D-gedruckten Filamente, bei Extrusion miteinander zu versiegeln, hängt wahrscheinlich in komplexer Weise vom Material, den Extrusionsparametern, der Ausrüstung, dem Kanaldesign und den zur Befüllung des Kanals benutzten Fluiden ab. Mithilfe eines 3D-Druckers von 3DTouch (Abbildung 8d) druckten Cronin und Mitarbeiter 800 µm weite Polypropylenkanäle und demonstrierten die Strömung von wässrigen Farbstofflösungen (Abbildung 8e). In einer Variante dieses Aufbaus benutzten die Autoren einen individuell gefertigten Drucker zur Extrusion von Acetoxy-siliconpolymer und erzeugten „Reactionware“,^[68] welche die Fluide enthielt, wenn auch ohne Fluidkreislauf.

FDM wurde auch genutzt, um Kanalvolumen als sakrifizielles Material zu erzeugen. Das Kanalmaterial wird von einem zweiten Wandmaterial umgeben und dann entfernt. Lewis und Mitarbeiter stellten komplexe mikrofluidische Mischer mit diesem Ansatz her. Sie druckten komplexe 3D-Gerüste aus zylindrischen Fragmenten unter Verwendung einer organischen Tinte (Abbildung 8f), tränkten das Grundgerüst mit einem UV-härtbaren Epoxidharz und extrahierten die organische Tinte thermisch durch Erwärmen auf 60 °C (Abbildung 8g,h).^[69] In ähnlicher Weise druckte ein Team um Chen und Bhatia ein 3D-Gitter aus Kohlenhydraten, das anschließend mit ECM und lebenden Zellen getränkt wurde. Das Kohlenhydratgitter konnte mit Zellkulturmedien aufgelöst werden, und die freigelegten Leerräume wurden mit Endothelzellen geimpft, um vaskuläre Netzwerke zu erzeugen.^[70] In Anlehnung an diesen Ansatz extrudierten Bhargava und Mitarbeiter^[71] sakrificielle Gitter aus Isomalt, einem Zuckeralkohol mit einer Glasübergangstemperatur von 55 °C (Abbildung 8i). Bringt man das Gitter in eine Agarosegussform (Abbildung 8j), löst sich der Zucker innerhalb weniger Minuten in dem Hydrogel auf und lässt ein Netzwerk zurück, das mit einem Farbstoff aufgefüllt werden kann (Abbildung 8k). Diese Technik ist sehr intuitiv, beschränkt sich aber auf Kanäle mit kreisförmigen Querschnitten (ohne Funktionselemente innerhalb des Kanals) und einen sehr speziellen Typ von Kanalkreuzungen (orthogonale Überkreuzungen), die für bestimmte Schlüsselanwendungen (z.B. Zelltrennungen oder Zellreaktoren) nicht geeignet sein dürften.

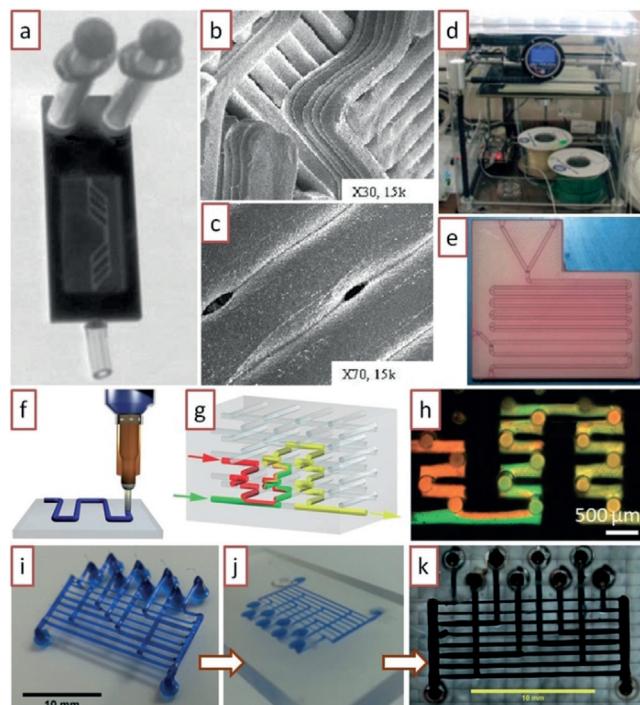


Abbildung 8. Mikrofluidische Bauelemente, die durch Abguss von mittels Schmelzsieden (FDM) gedruckten Strukturelementen hergestellt wurden. a) Mikroskopische Aufnahmen eines mikrofluidischen Bauelements, das durch FDM gedruckt wurde. b,c) REM-Bilder des Bauelements in (a), die zeigen, dass die Wandungen durch Verschmelzen extrudierter Strukturen gebildet werden (b), die für Porenbildung anfällig sind (c). d) Der 3D-Drucker 3DTouch. e) Mikrofluidisches Bauelement, das durch FDM mit dem 3DTouch-Drucker in Polypropylen gedruckt wurde. f) Prinzip der Polymerextrusion. g) Schema eines 3D-mikrofluidischen Mischers nach Entfernen des sakrificiellen Polymers. h) Mikroskopieaufnahme eines komplexen 3D-mikrofluidischen Mischers im laufenden Betrieb i) Durch FDM gedrucktes, sakrificielles Gitterelement. j) Einbettung des in (i) gezeigten Gitterelements in Agarose; das Kohlenhydrat löst sich rasch in dem Agarosehydrogel auf. k) Befüllung des Gitterabgusses mit schwarzem Farbstoff. Teilbilder (a) bis (c) aus Lit. [66] mit Genehmigung der Autoren. Teilbilder (d) bis (e) aus Lit. [72] mit Genehmigung der Royal Society of Chemistry. Teilbilder (f) bis (h) aus Lit. [69] mit Genehmigung von Macmillan Publishers Ltd: Nature Materials, Copyright 2003. Teilbilder (i) bis (k) aus Lit. [71] mit Genehmigung der Royal Society of Chemistry.

3.5. Fertigung durch LOM

Vor der Einführung der Papier-basierten Mikrofluidik^[73] war LOM eine attraktive Möglichkeit für die schnelle Prototypfertigung kostengünstiger diagnostischer Funktionseinheiten. Zum Beispiel stellten Yager und Mitarbeiter eine Reihe von Bauelementen aus Mylar her, z.B. zur Anreicherung und Trennung von Proteinen mittels isoelektrischer

Fokussierung,^[74] für schnelle Immunassays,^[75] für die Elektrophorese,^[76] für die Zellyse und Proteinextraktion^[77] und zur Rekonstitution funktioneller Proteine aus einem wasserfreien Depot.^[78] LOM ermöglichte auch die Prototypfertigung hoch komplexer mikrofluidischer 3D-Bauelemente. Neils und Folch fertigten einen 9-schichtigen Laminatstapel aus Mylar bestehend aus sechs Fluidschichten, die als kombinatorischer Mischer funktionierten (Abbildung 9a). Ein

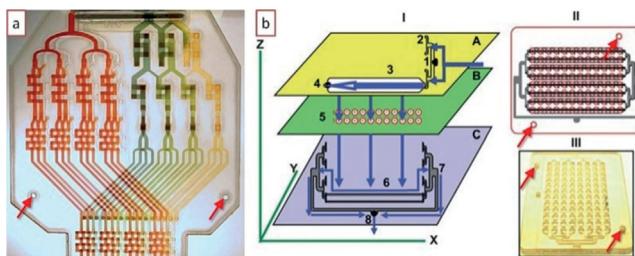


Abbildung 9. Mikrofluidische Bauelemente, die mit dem LOM-Verfahren hergestellt wurden. a) Kombinatorischer Mischer, hergestellt aus neun Mylar-Laminaten. b) Ein 96er ELISA-Test, hergestellt aus einer PMMA-Schicht und fünf Polycarbonatschichten. In beiden Fällen wurden die verschiedenen Schichten durch Einfügen von Stiften in vorgefertigte Löcher (Pfeile) zusammengefügt. Teilbilder (a) und (b) aus Lit. [79] bzw. [80] mit Genehmigung der Royal Society of Chemistry.

Mikromischer in Serpentinenform wurde mittels Xurographe hergestellt.^[30] Rasooly und Mitarbeiter stapelten fünf Polycarbonatschichten und eine PMMA-Schicht, um eine miniaturisierte 96er ELISA-Testplatte herzustellen (Abbildung 9b).^[80] Trotz einer Reihe geschickter Verbesserungen^[81] leidet LOM nach wie vor unter spezifischen Nachteilen. So können keine beliebigen Kanaltopologien hergestellt werden, und durch das Schneiden mit dem Laser und/oder den Klebevorgang häufen sich Ablagerungen an, welche die Kanäle blockieren oder die Proben kontaminierten können. Ein europäisches Konsortium hat einen photolithographischen Prozess namens LABONFOIL entwickelt, um mehrlagige mikrofluidische Bauelemente in Photoharz (Polyimid oder SU-8) herzustellen,^[82] allerdings zu beträchtlichen Kosten von 2 € cm⁻².

3.6. Vergleich der Techniken

Die verschiedenen 3D-Drucktechniken erlauben unterschiedliche Grade an Auflösung und Automation, wie in Abbildung 10 dargestellt ist. In diesem Diagramm erscheinen die klassischen hochauflösenden Strukturierungsmethoden (DLW, Photolithographie, weiche Lithographie) in der linken oberen Ecke, da sie einen hohen Anteil an manueller Bedienung erfordern (mit der weichen Lithographie als der „manuellsten“ Technik). Hingegen erscheinen 3D-Drucktechniken in der rechten unteren Ecke, weil sie typischerweise nur geringe Auflösungen ermöglichen, dafür aber hoch automatisierbar sind. PolyJet und FDM erfordern gar keinen Nutzereingriff, während LOM ein beträchtliches Maß manuellen Aufbaus benötigt. In der Mitte liegen Stereolithographie und SLS, die ein gewisses Maß an nachgeschalteter

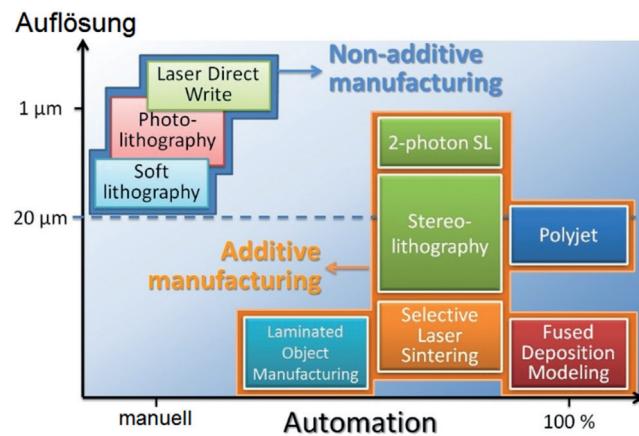


Abbildung 10. Kompromiss zwischen Auflösung und Automation beim Übergang von der nicht-additiven zur additiven Fertigung.

Prozessierung erfordern (Säubern des Harzes oder Pulvers). Was Auflösung betrifft, vermögen nur Stereolithographie und PolyJet die „magische Linie“ von 20 µm (die Größe mancher Zellen) zu unterschreiten, wo biologisch-mikrofluidische Strukturen besonders interessant werden. Für einen detaillierten Vergleich eines breiteren Spektrums von Techniken zur Fertigung mikrofluidischer Bauelemente verweisen wir auf Lit. [34].

4. Vorteile der Stereolithographie gegenüber PDMS- und Kunststoffspritzguss

Verglichen mit der weichen Lithographie wurde die Stereolithographie in der Vergangenheit häufig als unterlegen wahrgenommen (Abbildung 11), diese Meinung ändert sich aber derzeit rasch. Weiche Lithographie zeichnet sich durch die hohe Auflösung der photolithographisch hergestellten Gussformen und die hohe Biokompatibilität von PDMS aus, leidet aber unter geringen Durchsätzen und schwer reproduzierbaren Assemblierungs- und Verklebungsprozessen, die

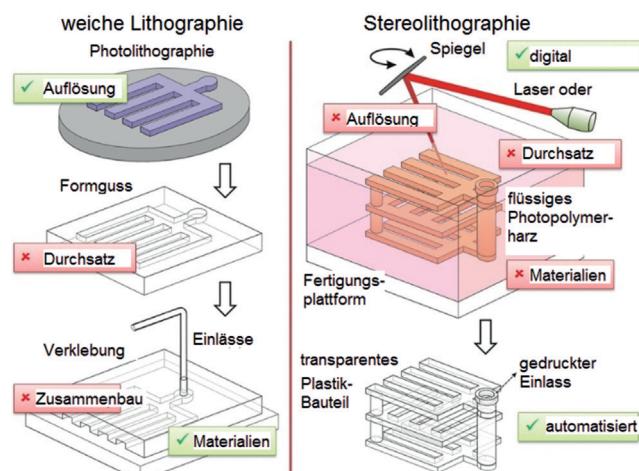


Abbildung 11. Konzeptioneller Überblick über die Vor- und Nachteile der weichen Lithographie und Stereolithographie entsprechend unserer traditionellen Wahrnehmung.

in schichtartigen Designs und geringer Nutzerfreundlichkeit resultieren. Stereolithographie verfügt über einen Satz von Merkmalen, die fast spiegelbildlich zum PDMS-Spritzguss sind: Stereolithographie profitiert von einem vollständig digitalen Design der 3D-Architekturen und einer automatisierbaren Fertigung (was die Herstellung durch Serviceanbieter ermöglicht), allerdings ist die Auflösung standardmäßiger Stereolithographiemaschinen geringer als beim PDMS-Spritzguss, und die meisten Stereolithographieharze sind nicht biokompatibel. Unsere Schätzung ergibt, dass die Kosten für die Bestellung eines einzelnen stereolithographisch gedruckten Bauelements bei einem Serviceanbieter in etwa den Herstellungskosten einer Mastergussform aus SU-8 entsprechen.^[12] Auf einer kommerziellen Stereolithographiemaschine können Bauelemente mit einer Fläche von 125×125 mm oder größer in unter 10 h gedruckt werden.

4.1. 3D-Fähigkeit

Mikrofluidische Bauelemente aus PDMS und gegossenem Kunststoff werden durch Stapelung von Schichten aufgebaut, die miteinander verbunden werden müssen (siehe z.B. Lit. [83]). Dieser Prozess bedeutet eine starke Einschränkung der Strukturen, der Konnektivität und der Funktionalität der herstellbaren Bauelemente. Stereolithographie ist im Wesentlichen eine assemblierungsfreie digitale Fertigungstechnik, daher sind Komplexität und Vielfalt in der Fertigung ohne Kosten zu haben. Die Funktionalität oder Konnektivität eines Bauteils unterliegt lediglich dimensionalen Einschränkungen (das Bauteil muss größer gebaut werden als die Auflösung der Maschine), wohingegen man bezüglich Topologie alle Freiheiten besitzt. (Man beachte, dass keine „fließenden Objekte“ gedruckt werden können, da das Objekt digital in Scheiben zerlegt werden muss und man unter Gravitation drückt – z.B. muss eine „schwebende“ Kugel angebunden werden.) In einigen Varianten der Stereolithographie ist es möglich, Teile aus mehr als einem Material aufzubauen^[84] (d.h. Teile aus zwei Materialien mit unterschiedlichen Materialeigenschaften; siehe Abschnitt 4.4), was das Spektrum an Designmöglichkeiten noch mehr erweitert.

4.2. Auflösung und Durchsatz

Der exzellenten 3D-Fähigkeit der Einphotonen-Stereolithographie steht eine niedrigere Auflösung im Vergleich zu PDMS- und Kunststoff-basierten Bauelementen gegenüber. Die hohen Kosten der Zweiphotonen-Lasergeräte stellen noch immer ein Hemmnis für die Marktverbreitung dar, sodass Mehrphotonensysteme weitgehend auf einen Einsatz in der akademischen Forschung beschränkt sind.^[57,58] Alle stereolithographischen Desktopsysteme verwenden Einphotonenoptiken (Laser oder LED-Lichtquelle). Eine rasche Prüfung der verfügbaren Stereolithographie-Serviceanbieter zeigt, dass diese (geschlossene) Mikrokanäle herstellen können, die typische Querschnitte von 500×500 µm oder größer aufweisen, obwohl die Maschinen kleinere offene

Strukturelemente fertigen können (z.B. offene Einschnitte). Mit anderen Worten röhrt die Einschränkung nicht von der Optik her. Also ist die hauptsächliche (berechtigte) Sorge von Mikrofluidikanwendern, dass die Auflösung der Stereolithographie niedriger ist als die Auflösung, mit der sie zu arbeiten gewöhnt sind. Ähnlich wie bei der weichen Lithographie wird die Stereolithographie dahingehend wahrgenommen, dass die Technik nur geringe Durchsätze ermöglicht. Jüngste Entwicklungen in der Stereolithographie haben jedoch zu entscheidenden Verbesserungen beim Drucktempo und der Auflösung geführt. Im Jahr 2014 sind die wesentlichen Stereolithographie-Patente ausgelaufen, und wir sehen zahlreiche Firmen, die sich um rasche Innovationen in diesem Sektor bemühen. Bereits Anfang 2015 kündigte Irios einen Drucker mit $25 \mu\text{m}$ XY-Auflösung an ($6 \mu\text{m}$ Z-Schichten), der vier Materialien drucken kann,^[85] Old World Labs stellte einen Drucker mit $<1 \mu\text{m}$ XYZ-Auflösung vor,^[86] und Carbon3D kündigte einen Drucker an, der mit $1 \mu\text{m}$ XYZ-Auflösung und in Minuten anstatt Stunden druckt (ca. 100-mal schneller).^[37] Höhere Auflösungen und Durchsätze sind das klare Ziel der Industrie. Systeme mit $<5 \mu\text{m}$ Auflösung für unter \$10000 sind in naher Zukunft schon zu erwarten. Allerdings gibt es nach wie vor Bedenken bezüglich der Biokompatibilität der Harze.

4.3. Drainage: Limitierungen bezüglich Auflösung und automatisierter Fertigung

Die Streuung des Laserlichts und die Diffusion der Polymervorstufen bedingen fundamentale Einschränkungen für die Auflösung in der Stereolithographie. In der Praxis hängt zudem die erreichbare Auflösung eines geschlossenen Kanals von der Drainage der flüssigen Polymervorstufen ab, die nach der Fertigstellung im Inneren des Bauelements verbleiben. Für lange Kanäle kann diese „hydrodynamische Limitierung“ wichtiger werden als die Einschränkungen durch die Photoreaktion. Leider wird dieser Sachverhalt von den meisten Druckserviceanbietern nicht genügend erkannt. Um die Auflösung zu verbessern und die Drainage geschlossener Bauelemente zu erleichtern, können Ableitungen eingebaut werden (z.B. Öffnungen, Kanäle und/oder temporär „bruchfähige“ Konnektoren), welche den hydrodynamischen Widerstand des Drainageweges des Harzes reduzieren. Ein Beispiel für Drainageöffnungen ist in Abbildung 12 gezeigt. Die neue Generation weniger viskoser Photopolymerharze erlaubt ebenfalls eine bessere Drainage.

Die Erfordernis einer Drainage der Mikrokanäle am Ende des Fertigungsprozesses hat eine weitere wichtige Auswirkung – es ist ein manueller Vorgang, der Vorbereitungsarbeiten benötigt und nur für ein gegebenes Zufluss-Layout automatisiert werden kann. Zusammengefasst ergeben sich drei Konsequenzen: 1) Die Anwendung der Stereolithographie zur Herstellung von Mikrofluidiksystemen sollte als ein quasi-automatisierter, quasi-additiver Fertigungsprozess beschrieben werden (Nachbehandlung und Säuberung von Harz sind erforderlich). 2) Drainage erfordert einen zusätzlichen Zeitaufwand, der nicht zu übersehen ist, insbesondere bei Bauelementen mit hohem Innenvolumen.

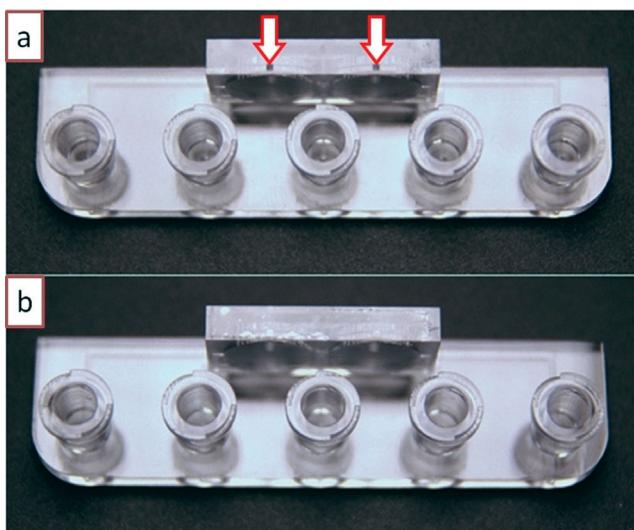


Abbildung 12. Implementierung von Ablauföffnungen zur Vereinfachung der Bauelementarchitektur. a) In diesem Bauelement sind die Kanäle mit quadratischen Auslassöffnungen von $635 \times 635 \mu\text{m}$ versehen (Pfeile), durch die das Harz leicht nach außen ablaufen kann. b) Die Ablauföffnungen können mit Klebeband oder Epoxid versiegelt werden. Aus Lit. [87] mit Genehmigung der Royal Society of Chemistry.

3) Drainage erfordert die Verwendung von (kleinen Mengen) Lösungsmittel, was zu den Entsorgungskosten beiträgt, sowie Equipment zum Antrieb der Fluide, was zusätzlichen Kapitalaufwand bedeutet.

4.4. Überlegungen bezüglich der Materialien

Verständlicherweise waren die meisten Mikrofluidikforscher – einschließlich unserer Arbeitsgruppe – lange Zeit dem „Fluch“ des PDMS erlegen. PDMS ist kostengünstig, optisch klar, elastisch, biokompatibel und kann auf einfache Weise zu einer Form gegossen werden. Harze für die Stereolithographie galten hingegen stets als kostspielig, bestenfalls gelbstichig und von fraglicher Biokompatibilität, die kaum erforscht ist. Es ist daher keine Überraschung, dass in der biomedizinischen Forschung kaum jemand diese Materialien verwenden wollte. Jedoch haben wir in den letzten Jahren eine Menge Innovationen in diesem Bereich erlebt.

4.4.1. Biokompatibilität

Für den Anwender steht eine Reihe biokompatibler Harze zur Auswahl. Eines der bemerkenswertesten Materialien ist ein UV-Harz, das von DSM (Heerlen, Niederlande) unter dem Markennamen Somos WaterShed XC 11122 vertrieben wird. Nach dem Druckvorgang wird ausgehärtetes WaterShed mit Isopropylalkohol nachgespült und UV-Strahlung ausgesetzt. Das fertig verarbeitete Material ist fast farblos und ähnelt in seiner Klarheit, Biegschärfe und Härte Polycarbonat oder Poly(methylmethacrylat). (Längere UV-Bestrahlung von WaterShed ergibt einen gelblichen Farbton.) Außerdem quillt es nicht in Wasser und erfüllt die Biokompatibilitätsstandards ISO 10993-5 (Zytotoxizität), ISO 10993-

10 (Sensibilisierung), ISO 10993-10 (Irritation) und USP Class VI. Wir haben die Zytokompatibilität von C2C12-Myoblastenzellkulturen auf Matrikel-beschichtetem WaterShed über 24 h untersucht und keinen auffallenden Unterschied im Vergleich zu Zellen gefunden, die auf Matrikel-beschichteter Gewebekultur aus Polystyrol kultiviert wurden (Abbildung 13 a,b). Langzeitstudien der Zytokompatibilität von WaterShed stehen noch aus.

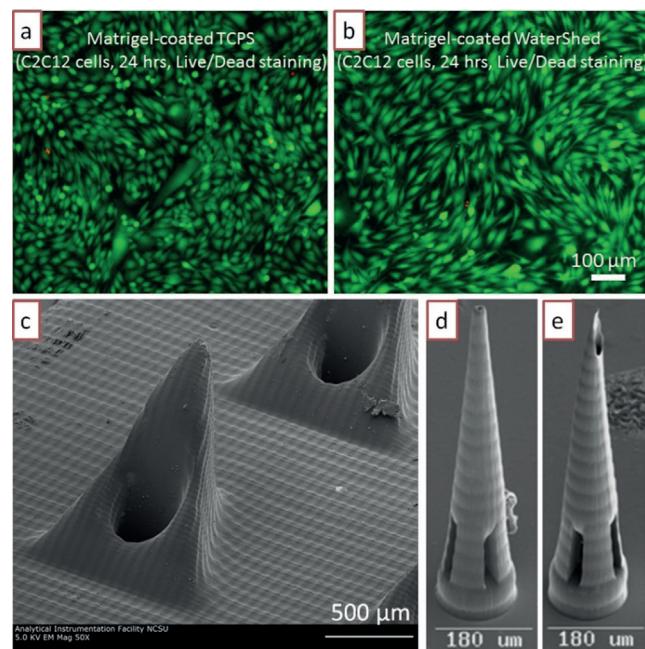


Abbildung 13. Biokompatibilität stereolithographischer Drucke.

a) C2C12-Zellen wurden auf Matrikel-beschichteter Gewebekultur aus Polystyrol (TCPS) kultiviert. Zur Untersuchung der Überlebensfähigkeit wurden die Zellen mit Live/Dead-Zellfarbmittel nach 1 Tag in Kultur angefärbt. b) C2C12-Zellen wurden mit der gleichen Methode wie in (a) auf Matrikel-bedeckten WaterShed-Oberflächen kultiviert. Die Überlebensfähigkeit der Zellen ist die gleiche wie auf TCPS. c) SEM-Aufnahme von hohlen Mikronadeln, erzeugt durch DLP-Stereolithographie in e-shell 200. d,e) SEM-Aufnahme von Mikronadeln, erzeugt durch DLW in Orcomer. Teilbilder (a) und (b) aus Lit. [87] mit Genehmigung der Royal Society of Chemistry. Teilbild (c) aus Lit. [88] mit Genehmigung. Copyright 2011, AIP Publishing LLC. Teilbilder (d) und (e) aus Lit. [89] mit Genehmigung von John Wiley and Sons.

Weitere Biokompatibilitätsdaten können in Wirkstofftransportstudien gefunden werden, wo man seit mehr als zehn Jahren die Anwendung der Stereolithographie zur Herstellung implantierbarer Mikronadeln erforscht. Matsuda und Mizutani erzeugten Mikronadeln aus einem Acrylatharz auf Polycaprolactonbasis.^[90] Beladen der Mikronadeln mit dem Entzündungshemmer Indomethacin unterdrückte die durch den Fremdkörper normalerweise hervorgerufene Entzündungsreaktion. Narayan und Mitarbeiter verwendeten die kommerziell erhältlichen Acrylatpolymere e-Shell 200 und e-Shell 300 zur Herstellung von Mikronadeln durch Stereolithographie^[88] und DLW^[91] (Abbildung 13 c). Diese Materialien, die zur Herstellung von Hörgeräten verwendet wurden, sind wasserfest und biokompatibel gemäß Class IIa. Die

gleiche Arbeitsgruppe entwickelte sehr scharfe keramikartige Spitzen aus Ormocer (Abbildung 13 d,e).^[89,92] Dieses Material wurde auch zur Herstellung hochaufgelöster Strukturen, einschließlich 50 µm weiter Kanäle, genutzt.^[93] Die Ormocer-Mikronadeln konnten ohne Fraktur in adipöses Totgewebe vom Schwein eingestochen werden, und Ormocer-Oberflächen unterstützten die Kultur humaner epidermaler Keratinozyten für 3 Tage ohne signifikante Reduktion der Viabilität im Vergleich zu Kontrolloberflächen.

Mit einigen stereolithographischen Systemen konnte die erfolgreiche Kombination von photovernetzbaren Hydrogelen und Zellen demonstriert werden. PEG-Diacrylat,^[48,49] Gelatinmethacrylat,^[50] Hyaluronsäure^[51] und PEGyierte/funktionalisierte Alginate^[52] – allesamt hoch biokompatible Matrizen – wurden verwendet, um in Hydrogel verkapselte Zellen zu drucken (siehe Abbildung 4), jeweils derivatisiert mit adhäsiiven ECM-Proteinen oder zelladhäsiven Peptidsequenzen. Fibroblasten,^[49a] Neuronen, Muskelzellen^[52] und humane mesenchymale Stammzellen^[94] wurden verwendet. Die Überlegungen gehen dahin, diese Hydrogele mit lebenden Zellen als Bestandteile für die Entwicklung von Bioaktuatoren und Biosensoren verwenden zu können.^[53] Stampf et al.^[93] verwendeten eine Reihe von Acrylat-basierten Monomeren in Verbindung mit Verdünnungsmitteln (Wasser oder PEG 400MW) und dem Photoinitiator Irgacure 819 zur Herstellung verschiedener Hydrogelharze mit einer Spanne mechanischer Eigenschaften (Young-Modul von 0.4 bis 8000 MPa) und verglichen diese mit den kommerziell erhältlichen Harzen Ormocer und Renshape. Wir erwarten, dass die gezielte Optimierung stereolithographischer Materialien für Anwendungen in der Biomedizin eine Bandbreite von biokompatiblen (sogar implantierbaren und/oder bioresorbierbaren), transparenten und gasdurchlässigen Harzen hervorbringen wird.

4.4.2. PEG-DA, der ideale Kandidat

Das Gebiet der Zellverkapselung liefert uns ein sehr gutes Beispiel eines photopolymerisierbaren, biokompatiblen Materials: PEG-Diacrylat (PEG-DA), das ausgiebig als Hydrogel zur Verkapselung von Zellen und zur Herstellung von Gewebekonstrukten genutzt wurde.^[48,49,95] Photopolymerisationsprozesse benötigen einen Photoinitiator, das ist eine chemische Verbindung, die unter Einwirkung von Licht in freie Radikale oder Kationen zerfällt. Photoinitiatoren unterscheiden sich in ihrer Zytotoxizität, ihrer Löslichkeit in Wasser und ihrer Stabilität. Große Anstrengungen wurden unternommen, um zellkompatible Photoinitiatoren zu entwickeln und zu bewerten.^[96] Der Photoinitiator Irgacure 2959 (Ciba) wird häufig eingesetzt (Anregung mit Licht der Wellenlänge 325 nm) und kann zur Verkapselung empfindlicher Zellen, wie Stammzellen, mit hoher Viabilität dienen.^[97] Die große Herausforderung war, einen biokompatiblen Photoinitiator zu finden, der mit Lichtquellen der neuen Generation von Stereolithographiesystemen funktioniert ($\lambda = 405$ nm, weniger zellschädigend). Für Licht der Wellenlänge 405 nm ist der Photoinitiator Irgacure 784 erhältlich, der aber unlöslich in Wasser ist (muss in DMSO gelöst werden). Eine Alternative ist Lithiumphenyl-2,4,6-trimethylbenzoylphos-

phinat (LAP, erst seit kurzem kommerziell erhältlich), das wasserlöslich und sehr zellkompatibel ist.^[98] LAP wurde kürzlich durch Anseth und Mitarbeiter als ein wasserlöslicher Photoinitiator Typ I wiederentdeckt, der einmalig aktiv im sichtbaren Bereich ist ($\lambda = 405$ nm und darüber).^[98,99] Dieser Initiator erwies sich als zellkompatibel und eignete sich für Zellverkapselungsstudien mit PEG-DA.^[98,100] Es ist wichtig anzumerken, dass der Aspekt der Zellkompatibilität für die Konstruktion von Mikrofluidiksystemen zwar weniger relevant ist als für die Verkapselung von Zellen, es aber trotzdem wünschenswert ist, dass Photoinitiormoleküle, die potenziell aus den Wandungen auslaugen können, möglichst zellkompatibel sind.

Es gibt zahlreiche Hinweise, dass PEG-DA ein sehr geeignetes Material für die Mikrofluidik ist. Khademhosseini und Suh erzeugten PEG-DA-Mikrokanäle (durch Photolithographie) und demonstrierten, dass Kanäle aus niedermolekularem, stark quervernetztem PEG-DA (MW = 258) über 2 Wochen keiner Quellung unterlagen und wasserdicht blieben, während höhermolekulares PEG-DA (MW = 875) signifikantes Quellen zeigte, sodass die Kanäle binnen 5 h zerfielen.^[101] Woolley und Mitarbeiter erzeugten mikrofluidische Ventile aus PEG-DA (durch Formguss und Schichtung)^[102] und verglichen deren Verhalten mit Bauelementen aus Glas, PDMS und anderen Polymeren.^[103] Somit scheint PEG-DA ein ideales Harz für 3D-druckbare biomedizinische Bauelemente zu sein.

4.4.3. Lösungsmittelkompatibilität

PDMS ist eine sehr poröse Matrix, die in organischen Lösungsmitteln Quellung unterliegt. Dadurch dringt Lösungsmittel in die Mikrokanalwände ein, die Versiegelung zwischen den Kanälen und der Oberfläche löst sich ab und die Kanalgeometrien verändern sich.^[6] Aus diesem Grund wurden große Anstrengungen unternommen, um quellungsfreie Polymermatrizen herzustellen, insbesondere Mikroventile, deren Biegeelement aus Viton^[104] oder Teflon^[105] in einer chemisch widerstandsfähigen Mikrokanalpassung besteht.

Die Forschung über Stereolithographieharze hat eine Vielfalt von Harzen mit einer breiten Spanne von Eigenschaften hervorgebracht. Somos 9920 beispielweise, ein härtbares Harz mit Polypropylen-artigen Eigenschaften, ist chemisch hoch widerstandsfähig. (Polypropylen wird zur Aufbewahrung von Lösungsmitteln verwendet.) Somos 5530HT wird ebenfalls als lösungsmittel-, wasser- und temperaturresistent eingestuft. Somos 11120 („WaterShed“) ist hoch widerstandsfähig gegen Wasser (nicht aber gegen organische Lösungsmittel), transparent und mechanisch sehr stark.

4.4.4. Benetzbarkeit

Die Modulierung der Benetzungseigenschaften von Stereolithographieharzen ist von größter Bedeutung für die Mikrofluidik, da bei der Befüllung Blasen entstehen können, die schwer auszutreiben sind. Stereolithographisch gedruckte Kunststoffe verfügen nicht über die hohe Gaslöslichkeit von

PDMS (welches das Henrysche Gesetz befolgt, d.h. die Gleichgewichtskonzentration eines in PDMS gelösten Gases ist proportional zum Partialdruck des Gases in den PDMS-Kanälen)^[106] – die bequeme Methode, um Blasen aus PDMS-Systemen auszutreiben, nämlich Druck anzulegen und auf diese Weise die Blasen in den PDMS-Wänden verschwinden zu lassen, funktioniert daher nicht mit stereolithographisch gedruckten Bauelementen. Yang und Mitarbeiter fügten der Harzvorstufe (Acrylat-basierte Präpolymere) einen Vinyl-terminierten Initiator bei, um Poly(ethylenglycol)methacrylat (PEGMA), ein sehr hydrophiles und biokompatibles Polymer (das spontane Befüllung erlaubt; Kontaktwinkel ca. 40°) oder Perfluordecylmethacrylat (PFMA), ein sehr hydrophobes Polymer (Kontaktwinkel ca. 123°)^[107] herzustellen (Abbildung 14a,b). Hydrophobe Beschichtungen können genutzt werden, um wässrige Partitionen innerhalb der Kanalarchitektur zu erzeugen.

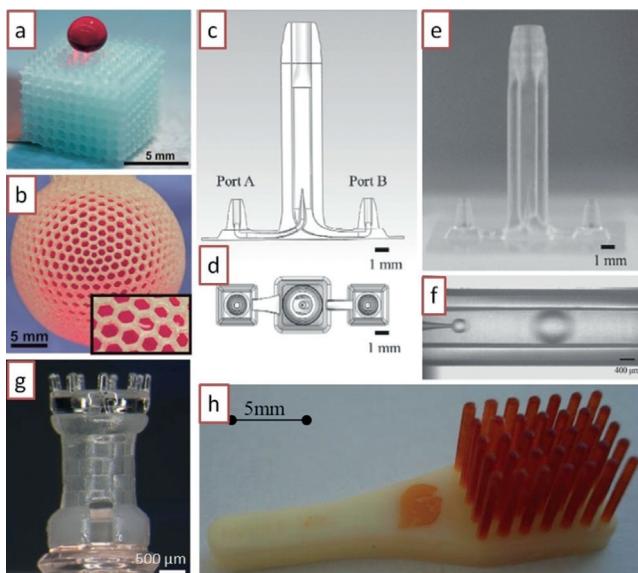


Abbildung 14. Stereolithographisches Drucken mehrerer Materialien.
a) Stereolithographisch gedruckter Würfel in einem superhydrophoben Harz; man beachte, dass ein Tropfen Farbstoff, der auf dem Würfel abgelegt wird, nicht in den Würfel eindringt. b) Stereolithographisch gedruckte Kugel in einem superhydrophoben Harz. Die Kugel ist mit Farbstoff gefüllt, der nicht durch die 1 mm großen hexagonalen Öffnungen ausleckt (siehe Einschub). c,d) Schematische Ansicht eines Tröpfchengenerators, seitlich bzw. von oben. e) Stereolithographischer Druck des Bauelements in (c). Der innere Kanal hat einen Innendurchmesser von 50 µm, und die Fertigungsgenauigkeit ist ca. 5 µm. f) Tröpfchenbildung in dem stereolithographisch gedruckten Bauelement in (e). g) Stereolithographischer 3D-Druck mit drei Materialien: Die Schachfigur hat eine innere Struktur. h) Stereolithographischer 3D-Druck mit zwei Materialien. Die Spitzen wurden aus einem elastomerischen Harz gedruckt. Teilbilder (a) und (b) aus Lit. [107] mit Genehmigung der Royal Society of Chemistry. Teilbilder (c) bis (f) aus Lit. [110] mit Genehmigung der Japan Oil Chemists' Society. Teilbild (g) aus Lit. [84a] mit Genehmigung von Springer Science and Business Media. Teilbild (h) aus Lit. [84b] mit Genehmigung der Autoren.

4.4.5. Oberflächenderivatisierung

Oberflächenderivatisierungen gedruckter Stereolithographieharze wurden mit kommerziell erhältlichen Silanen vorgenommen.^[108] Die Verbindung 3-Glycidoxypipropyltrimethoxsilan (GPTMS) wurde verwendet, um eine Siloxanschicht auf der Oberfläche eines Epoxidharzes unter sauren Bedingungen in der Gegenwart des Photosäurebildners Triarylsulfoniumhexafluoroantimonat (TASHFA) und unter Bestrahlung mit UV-Licht zu erzeugen. Die Siloxangruppen wurden verwendet, um PDMS-Plättchen an das stereolithographisch gedruckte Harz zu binden. Epoxid-scheibchen wurden eingesetzt, um Proteinoberflächengradienten über Aminepoxyd-Linker für Chemotaxisexperimente zu immobilisieren^[109] – im Prinzip könnten also stereolithographische Epoxidharze zum Drucken von chemotaxischen Bauelementen genutzt werden. Eine andere Option ist die Derivatisierung der Kanalwandungen mit einer Silicatschicht, was eine Oberfläche ergibt, die konventioneller Silanchemie unterzogen werden kann. Ohtani et al.^[110] injizierten eine hydrolysierte Ethylsilicatlösung (N-103X, Colcoat Co.) in den Kanal (Teil eines Tröpfchengenerators,^[111] siehe Abbildung 14c–e), heizten das Bauelement für 30 min auf 120°C, um das Lösungsmittel zu verdampfen, und härteten schließlich die Beschichtung auf den Wandungen aus. Nach der hydrophilen Behandlung wurde die Silicatoberfläche mit einer Fluorsilanverbindung derivatisiert, um sie hydrophob zu machen. Mit dem so behandelten Mikrofluidikelement konnten monodisperse invertierte Wasser-in-Öl-Emulsionen erzeugt werden (Abbildung 14f). Die Derivatisierung mit Silan könnte die Herstellung von Silicat-artigen Beschichtungen aus Allyhydridopolycarbosilan ermöglichen, die Polymeroberflächen elektrophoretische Mobilität sowie eine glasartige Widerstandsfähigkeit gegen Lösungsmittel verleihen können.^[112] Wir fanden, dass WaterShed XC 11122 an mit O₂-Plasma aktivierte Oberflächen wie Glas, Polystyrol oder PDMS bindet, vorausgesetzt, dass die Oberflächen nicht über die Glasübergangstemperatur des Harzes (42.5 °C) erhitzt werden.^[113] Diese einfache Prozedur umgeht die oben beschriebenen Schritte der Behandlung mit TASHFA und der UV-Bestrahlung.

4.4.6. Stereolithographisches Drucken mehrerer Materialien

Obwohl Stereolithographie traditionell eine Technik zum Drucken einzelner Polymermaterialien ist, erlauben jüngste Entwicklungen bei Harzen und stereolithographischen Druckern nun auch das Drucken mehrerer Materialien (Abbildung 14g),^[84] einschließlich Elastomeren^[84b] (Abbildung 14h) und Keramiken.^[114] Cho und Mitarbeiter fügten Kupfer-Mikropartikel einem Photoharz bei und erhielten nach dem Sinterprozess leitfähige Mikrostrukturen (ca. 10-facher Widerstand im Vergleich zu reinem Kupfer) mit einer Schrumpfung von 22–28%.^[115] In Aussicht steht die Entwicklung von Sensoren und Aktuatoren, die flexible und/oder metallische Teile enthalten.^[116] Eine neue Generation von Mehrmetalldruckern^[85] könnte die Herstellung von Polymergradienten mit neuen, interessanten Eigenschaften sowie

den Druck von Sensoren und Aktuatoren aus mehreren Materialien ermöglichen.

4.5. Digitale Inspektion und Modellierung

Einer der größten Vorteile der Stereolithographie (und des 3D-Druckens im Allgemeinen) ist, dass man die Eigenschaften eines Bauelements durch Modellierung am Computer festlegen kann. Das Entwicklerteam kann das Design per E-Mail an andere Teams versenden, die es digital inspirieren und Rückmeldung geben, eventuell mit Änderungen an der CAD-Datei. Die Inspektion muss nicht auf die Visualisierung und Korrektur der Bauteilarchitektur beschränkt sein. Ein Forscher kann Simulationsprogramme einsetzen, um das mechanische Verhalten, wie z.B. Biegeeigenschaften oder die Resonanzfrequenz einer kritischen Komponente, oder das Verhalten einer Mischerkomponente zu testen. Funktioniert das Design im Simulator, kann gedruckt werden. Wir prognostizieren, dass in naher Zukunft dieser rationale CAD-Ansatz in der Mikrofluidik einen enormen Zeitgewinn und hohe Kostensparnis einbringen wird.

4.6. Nutzerfreundliche Mikrofluidik durch 3D-Druck

4.6.1. Von unhandlichen PDMS-Zuläufen zu intuitiven 3D-gedruckten modularen Architekturen mit standardisierten Nutzerschnittstellen

Obwohl die Mikrofluidik heute ein ausgereiftes Gebiet ist,^[1] hat es die Lithographieindustrie in 30 Jahren nicht vermocht, sich auf einfache Standards für Schlauchverbindungen und Zulauf-/Ablaufstutzen zu einigen. Ein Bauelement mit 16 Zulauf- und 20 pneumatischen Steuerleitungen, wie in Abbildung 1 gezeigt,^[83a] kann extrem schwierig anzusteuern sein. Ein Teil des Problems ist ökonomischer Natur und durch unsere Art zu forschen bedingt: Wir werden für Konzeptstudien belohnt, nicht für schnittige Bauelemente; Zuläufe in PDMS bohren hat bislang gut funktioniert. Je mehr allerdings Förderinstitutionen zur tatsächlichen Umsetzung von Forschungsergebnissen in Produkte drängen, beginnt Nutzerfreundlichkeit plötzlich eine wichtige Rolle zu spielen. Wir glauben, dass 3D-Druck dazu führen wird, dass sich auch in der akademischen Forschung einheitliche Steckverbindungen und Zulaufmodule durchsetzen, wie sie bereits als Industriestandards existieren.

Modulares Design ist ein zentraler Aspekt von 3D-Druckverfahren. Beim 3D-Druck hat der Mikrofluidikdesigner gar keine andere Wahl, als vor dem Druckvorgang Schnittstelle, Steckverbindungen usw. in einer CAD-Software vollständig zu spezifizieren. Stereolithographisch gedruckte Kunststoffschaltkreise mit konfektionierten Kupplungssystemen können in Modulform konstruiert werden und sind trivial zu bedienen (Abbildung 15 a,b).^[117] Auch ein robuster, verlässlicher Mischer konnte durch Assemblierung verschiedener Module aufgebaut werden,^[117c] was das verbreitete Vorurteil zerstreut, solche modularen Systeme würden die Strömung stören, Bedienfehler provozieren und das Totvolumen erhöhen. Man könnte argumentieren, dass der Zu-

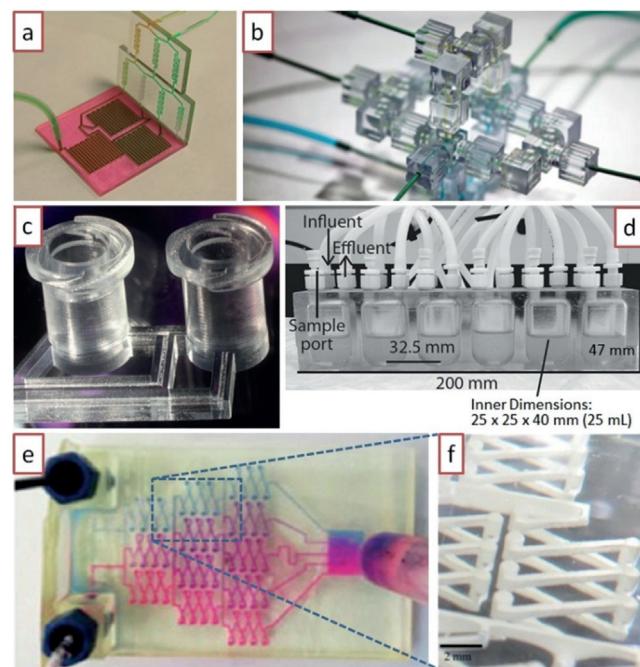


Abbildung 15. Modulare Mikrofluidik. a) Ein stereolithographisch gedruckter modularer Mischer. b) Ein stereolithographisch gedruckter modularer Tröpfchengenerator. c) Beispiel für nutzerfreundliche Konnektivität (hier eine Luer-Lock-Kupplung, gedruckt mittels Stereolithographie). d) Ein stereolithographisch gedruckter komplexer Bioreaktor. e,f) Ein komplexer Mischer, gedruckt mit einem kommerziellen Desktop-Stereolithographiesystem. Teilbild (a) aus Lit. [117b] mit Genehmigung der Royal Society of Chemistry. Teilbild (b) aus Lit. [117c] Copyright 2014 National Academy of Sciences, USA. Teilbild (c) aus Lit. [12] mit Genehmigung der Royal Society of Chemistry. Teilbild (d) aus Lit. [119] mit Genehmigung der American Society for Microbiology. Teilbilder (e) und (f) aus Lit. [120] mit Genehmigung. Copyright 2014 American Chemical Society.

sammenbau der Module nach erfolgter Fertigung keine effektive Strategie ist, weil diese Arbeitsweise nicht die volle Kapazität der Stereolithographie ausnutzt (nämlich eine assemblierungsfreie Fertigungstechnik zu sein); tatsächlich kann in manchen Fällen der Zusammenbau der Module die Verwendung von Metallstiften oder O-Ringen erfordern, um Leckagen zu verhindern.^[117d] In jedem Fall kann das Konzept des „modularen Designs“ auch auf die Kupplung digitaler Module erweitert werden. Modularität könnte eine wichtige Rolle auf dem Gebiet des Tröpfchen-Engineerings spielen.^[118] Medizinisch verwendungsfähige Steckverbindungen wie Luer-Lock- oder Barb-Kupplungen können einer frei verfügbaren Datenbank entnommen und in das CAD-Design importiert werden (Abbildung 15c),^[12] was in Bauelementen resultiert, die nutzerfreundlicher als PDMS- oder Kunststoffelemente sind. Bedeutsam ist, dass digitale Designs von anderen Arbeitsgruppen inspiriert und verbessert werden können. Bioreaktoren für die Bakterienkultur^[119] (Abbildung 15d) und mikrofluidische Mischer, die mit einem Desktop-Drucker hergestellt wurden (Abbildung 15e,f),^[120] sind lediglich zwei Beispiele für zukünftige Entwicklungen. Während die meisten PDMS- und Kunststoffchips als einfache flache Gebinde für die Fluidikarchitektur dienen (was die

Probenzuführung problematisch macht), kann mittels 3D-Druck die Probenzuführung intuitiver gefertigt werden, etwa mit Behältnissen oder Klappen, die über Scharniere, Riegel, Federn und Zahniemen geöffnet und geschlossen werden können. Zum Beispiel könnten Speichel- oder Blutproben zur Analyse einfach auf ein Stück Papier appliziert werden, das der Anwender nur noch in ein verschließbares Behältnis legen muss.

Wir erwarten für die Zukunft, dass mikrofluidische Designs online verfügbar sind und mit anderen Bauelementen, Modulen oder Gebinden kombiniert werden können. Es dürfte somit auch naheliegen, dass diese stereolithographisch gedruckten Module sehr schnell nutzerfreundliche Schnittstellen bekommen werden, zu denen auch die existierenden Standardkupplungssysteme gehören. Wir glauben daher, dass wichtigste Anwendung der 3D-Drucktechnologie gar nicht so sehr die Konstruktion von 3D-Leitungssystemen sein wird, sondern dass sie vielmehr die Einführung modularer, austauschbarer Designmuster revolutionieren wird.

4.6.2. Von mehrlagigen PDMS-Ventilen zu 3D-druckbaren Ventilen

Die Handhabung von Fluiden ist eine häufige und oftmals mühsame Operation in der Biomedizin und reicht vom Umgang mit Zellkulturmedien bis hin zur klinischen Diagnostik von Körperflüssigkeiten. Der Transfer von Fluiden erfolgt meistens durch teure robotisierte Systeme oder mittels Pipettierhilfen, die von Menschen bedient werden (eine mühsame und kostspielige Arbeitsweise, die zudem fehleranfällig ist). Ventile und Pumpen sind zentrale Elemente für eine automatisierte Handhabung von Fluiden; Automation verringert Personalkosten, beschleunigt Arbeitsgänge und ermöglicht parallelisierte Prozesse. So revolutionierte die Entwicklung von Mikroventilen und Mikropumpen aus PDMS^[5a,c] das Gebiet der Mikrofluidik und erlaubte die Miniaturisierung und Automation einer großen Vielzahl biomedizinischer Tests.^[121] Auch Mikroventile rein aus Kunststoff (bessere Verträglichkeit mit Lösungsmitteln als PDMS) wurden entwickelt.^[104,105,122] Allerdings ist die Herstellung von Ventilen und Pumpen kostspielig, da eine Reihe von Fertigungsschritten erforderlich sind, wie Formgießen, maschinelle Bearbeitung, Verklebung und/oder der Zusammenbau kleiner Teile.

Folch und Mitarbeiter entwickelten Diaphragmaventile und peristaltische Pumpen, die stereolithographisch gedruckt werden können (Abbildung 16).^[113] Ein in Betrieb befindliches Ventil ist in Abbildung 16b,c gezeigt. Das Diaphragma ist eine 100 µm dicke Kunststoffmembran von 10 mm Durchmesser. Es wird im Innern einer Kammer gedruckt und kann durch Druckbeaufschlagung der Steuerleitung pneumatisch ausgelenkt werden (Abbildung 16d,e). Druckbare Ventile und Pumpen können als digitale Objekte aus dem Internet geladen und in modularer Weise mit anderen Bauelementen gekoppelt werden. Zwei Ventile können zu einem Schalter kombiniert werden (Abbildung 16f), und drei seriell angeordnete Ventile bilden eine peristaltische Pumpe (Abbildung 16g). Bei geschlossenem Ventil wurde keine nennenswerte Leckage gemessen, auch wenn die Membran nicht

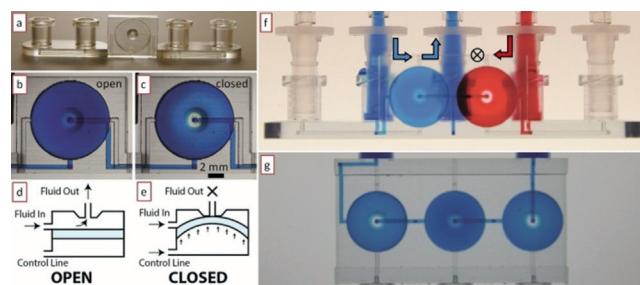


Abbildung 16. Durch 3D-Druck hergestellte Ventile, Schalter und Pumpen. a) Photographie eines Bauelements mit einem einzelnen Ventil, gedruckt in WaterShed XC 11122. b,c) Mikroskopische Aufnahmen des farbstoffbefüllten Ventils im offenen (b) und geschlossenen (c) Zustand. d,e) Seitenansichten des Ventils im offenen (d) und geschlossenen (e) Zustand. f) Photographie eines Schalters, der die Fluidströmung durch das Ventil auf der linken Seite reguliert. g) Eine peristaltische Pumpe während der Aktuationsphase, in welcher nur das mittlere Ventil offen ist. Teilbilder (a) bis (g) aus Lit. [87] mit Genehmigung der Royal Society of Chemistry.

aus einem selbstabdichtenden Material (wie z.B. PDMS) besteht. Die Ventilschließdrücke waren über viele Schließzyklen reproduzierbar. Der Fluidwiderstand des Ventils spricht in einer sigmoidalen Kurve auf den Steuerdruck an; dieses mehrstufige Ventilverhalten könnte für mikrofluidische Multiplexer,^[123] Strömungsregulatoren^[124] und fluidische Verstärker^[125] Anwendung finden.

4.6.3. Von sperrigen Steuerungssystemen zu autonomer Mikrofluidik durch Integration gedruckter Steuerelemente

Die oben illustrierten Mikrofluidikelemente werden noch durch sperrige Steuerungssysteme angesteuert, die Computer und elektrische Signale benötigen. Seit jüngster Zeit wird jedoch an der Integration automatisierter Steuerungen gearbeitet. Ismagilov und Mitarbeiter entwickelten eine gedruckte „Pumpenklappe“, die den Zulauf eines Mikrofluidiksystems unter Druck oder Vakuum setzt (Abbildung 17).^[64] Die Klappe besteht aus zwei Materialien und wurde durch Tintenstrahldruck eines Photopolymers hergestellt. Ein elastomerer Dichtungsring sorgt dafür, dass die Klappe auf dem Zulauf dicht abschließt. Dieses einfache System erfordert keine externe Kraft zum Antrieb der mikrofluidischen Strömung.

Gedruckte Ventile könnten auch die Fertigung mikrofluidischer Logikelemente erleichtern, wie z.B. Addierer,^[10a] Speicherzellen,^[10b] Schieberegister,^[10c] autonome Pumpen^[10d] und Oszillatoren.^[10e,f] Wir prognostizieren die Entwicklung autonomer mikrofluidischer Maschinen mit integrierter Steuerung (angetrieben durch Strömung oder ein manuell erzeugtes Druckdifferential), die programmierte biochemische und zellbasierte Assays ohne Pneumatik, Elektrizität oder Verschlauchung ausführen können.

4.6.4. Designs können über das Internet verbreitet und verkauft werden

3D-Druck macht mikrofluidische Bauelemente einfacher zugänglich. Die meisten mikrofluidischen Bauelemente

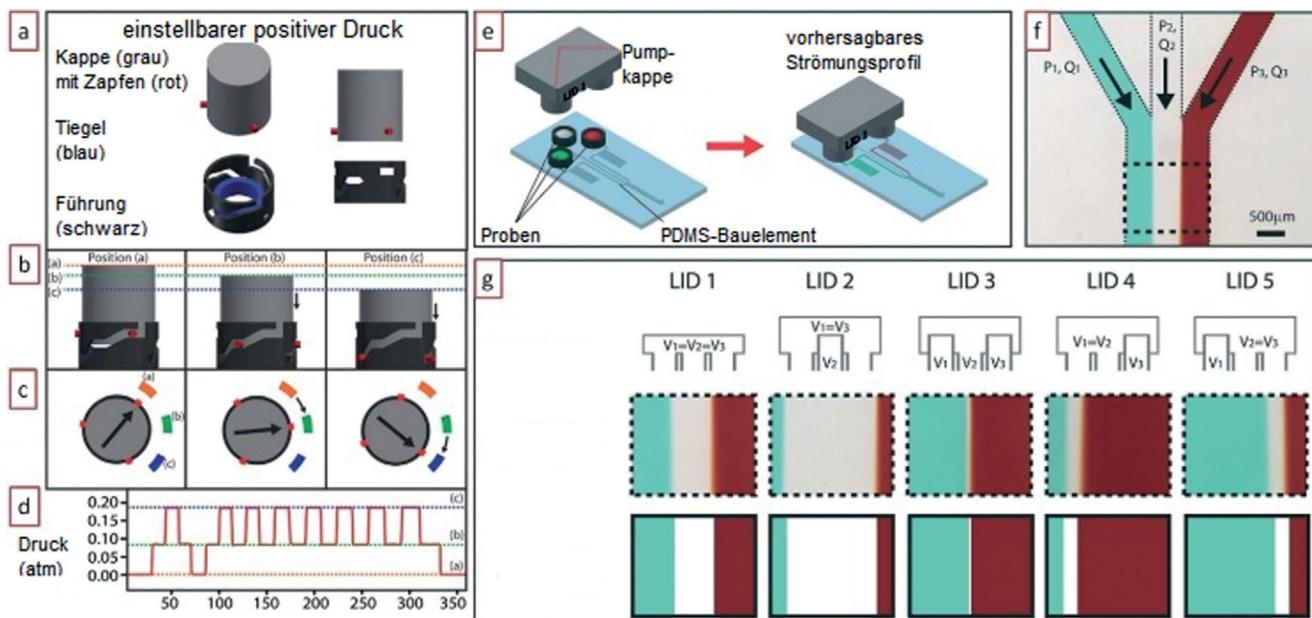


Abbildung 17. Gedruckte „Pumpenklappe“. a) Die „Pumpenklappe“ (grau) erzeugt einen positiven Druck beim Aufpressen auf eine weiche elastische Tiegelform. b,c) Die Klappe kann in verschiedenen Stellungen geschlossen werden (angezeigt durch gepunktete Linien oder Rechtecke), die jeweils unterschiedliche Drücke erzeugen. d) Experimentell gemessenes Druckprofil entsprechend der Bewegung der Klappe in die drei Stellungen. Ein ähnliches Design kann auch negative Drücke erzeugen. e) Prinzip einer Pumpenklappe mit drei Tiegeln zur Erzeugung dreier unterschiedlicher Drücke im selben Bauelement. f) Zusammenfluss dreier Kanäle zu einer heterogenen laminaren Strömung. g) Unterschiedlich aufgebaute Klappen (obere Reihe) können zur Erzeugung unterschiedlicher Strömungsprofile (mittlere Reihe) genutzt werden, die sehr gut mit den berechneten Strömungsprofilen (untere Reihe) übereinstimmen; die Rechnungen basierten auf dem von der Klappe erzeugten Druck und der Gerätegeometrie. Aus Lit [64] mit Genehmigung der Royal Society of Chemistry.

werden durch Formguss von PDMS oder Glasätzung hergestellt, da beide Techniken kostengünstig sind und auch in akademischen Labors bequem eingesetzt werden können. Leider sind weder PDMS-Formguss noch Glasätzung für die großskalige Herstellung geeignet und für viele Formen daher finanziell wenig lukrativ.

Ingenieure sind Designer, bisher hatten sie aber nicht die Werkzeuge zur Verfügung, um die Produkte ihrer Forschung in ausreichendem Maße zu monetarisieren. MakerBot pflegt eine sehr gut frequentierte Website für den Austausch von CAD-Designs („Thingiverse“),^[67] erlaubt allerdings nur Entwürfe mit nichtkommerziellen Lizzenzen (Creative Commons). Man beachte, dass nach dem traditionellen Modell der Bauelementvermarktung Ingenieure mehrere Prototypiterationen entwerfen, bis ein finaler Prototyp für die Markteinführung bereit ist. Im akademischen Bereich haben die verschiedenen Iterationen einen Geldwert für andere Designer, die auf einem ähnlichen Gebiet arbeiten. Basierend auf diesem einfachen Prinzip wird die Firma 3DSkema baldig einen Online-Marktplatz starten, auf dem Designer ihre lizenzierten Entwürfe einreichen und zum Verkauf (oder zum Tausch gegen eine nichtkommerzielle Lizenz) anbieten können. Dieses Modell weicht in radikaler Weise von früheren Vemarktungsmustern ab, insofern es Erfindern gestattet, ihre verschiedenen Prototypen ohne den kostspieligen Gang durch die Patentanmeldung zu monetarisieren.

5. Zusammenfassung und Ausblick

Es wurde argumentiert, dass die Mikrofluidik sehr wenige „Killer-Anwendungen“ hervorbringt,^[1,126] in dem Sinne, dass es die Mikrofluidik schwer hat, im Verbrauchermarkt Fuß zu fassen. Wir wollen hier anmerken, dass es keineswegs an „Killer-Apps“ fehlt – es ist vielmehr die Vermarktungsschiene, die versperrt ist. Hierfür gibt es drei Ursachen: 1) Nutzernchnittstellen sind nicht ausreichend standardisiert, 2) Mikrofluidiksysteme sind noch immer auf komplexe Steuerungssysteme angewiesen, und 3) PDMS-Formgussprozesse sind nicht leicht kommerzialisierbar. 3D-Druck scheint eine geeignete Technik zu sein, um diese Hindernisse zu überwinden. Die Anwendung von 3D-Druck (und insbesondere der Stereolithographie) in der Mikrofluidik befindet sich noch in den Anfängen. Historisch gesehen hat damals die weiche Lithographie die Bearbeitung von Silicium und Glas abgelöst, weil mittels PDMS-Formguss hergestellte Prototypen billig herstellbar, transparent und biokompatibel waren und Mikroventile und Mikropumpen integriert werden konnten – und all dies trotz offensichtlicher Verluste bezüglich der erreichbaren Auflösungen. Allerdings können PDMS-Mikrokanäle nicht in beliebigen Aspektverhältnissen hergestellt werden, und die Biegsamkeit von PDMS kann ein ernstes Problem darstellen, wenn mehrere Schichten angeordnet werden sollen. Der Übergang von der weichen Lithographie zum 3D-Druck geht mit einer Reihe ähnlicher Randbedingungen einher, die andererseits jedoch neue Chancen eröffnen können:

- 1) Kosten kontra Auflösung: DLW- und Zweiphotonen-SL-Maschinen, die aufgrund ihres außerordentlich hohen Preises kaum Einsatz finden, sind in der Lage, 10 µm weite Kanäle und Oberflächenstrukturmerkmale mit ca. 1 µm Auflösung zu drucken. Mehrere SL-Patente sind 2014 ausgelaufen; in der Folge kam es zur vermehrten Markteinführung neuer kommerzieller Desktop-SL-Drucker, deren Preise auf unter \$5000 gesunken sind. Diese erschwinglichen Desktop-Einphotonen-SL-Maschinen können Strukturmerkmale von nur 25 µm erzeugen,^[85] und mit neueren Maschinen und weniger viskosen Harzen werden noch kleinere Strukturmerkmale in der Größenordnung 1 µm erwartet.^[37,86] Ein mikrofluidisches Bauelement, das man sich von einem Servicedienstleister drucken lässt, ist summa summarum (Materialien, Arbeitsleistung, Zeitbedarf) jetzt schon billiger als ein entsprechendes PDMS-Bauelement. In 5 Jahren werden mittels 3D-Druck hergestellte Bauelemente deutlich billiger und architektonisch komplexer sein als heute gefertigte PDMS-Elemente.
- 2) Materialentwicklung: Viele Ingenieure sind noch zögerlich, Stereolithographie und andere 3D-Drucktechniken zu verwenden, da es Bedenken bezüglich der Biokompatibilität der Harze gibt. Man muss allerdings verstehen, dass Hersteller von Stereolithographieharzen aus kommerziellen Gründen künstliche Anreize für die Verwendung ihrer Produkte schaffen. Für kommerzielle Entwickler sind einige der aus biomedizinischer Sicht vielversprechendsten Harze (z.B. PEG-DA) wenig interessant, da sie billig und patentfrei sind. Diese Harze wurden zum Teil schon vor vielen Jahren als Biomaterialien (photovernetzbare Hydrogele) für die Zellverkapselung eingeführt. Während PDMS nicht in der Lage ist, Zellen am Leben zu erhalten, und auch die Diffusion großer Moleküle innerhalb einer PDMS-Matrix nicht möglich ist, kann erwartet werden, dass Forscher in den kommenden Jahren optimierte Materialien für die biomikrofluidische Fertigung entwickeln werden, einschließlich bioresorbierbarer und gasdurchlässiger Matrizen. Neue Entwicklungen beim automatisierten Drucken mit mehreren Materialien werden ebenfalls einen großen Einfluss auf die Herstellung von Sensoren und Aktuatoren haben.
- 3) Computergestütztes Design (CAD): Im Bereich 3D-Druck ist das Design von Bauelementen inhärent computergestützt, anders als etwa bei der weichen Lithographie. Dies ermöglicht nutzerfreundliche Architekturen, den Einsatz von Simulationswerkzeugen und den elektronischen Vertrieb der Designs. Dieser Aspekt allein kann das Feld der Mikrofluidik revolutionieren.
- 4) Fluidautomation: Wir und andere haben 3D-druckbare Bauelemente erfunden, die für eine automatisierte Bedienung essenziell sind, wie z.B. Mikroventile und -pumpen. 3D-druckbare Ventile und Pumpen können als digitale Objekte online heruntergeladen und als Module mit anderen Bauelementen kombiniert werden. Sie können von jedem Computer aus überall auf der Welt kostengünstig in transparente biokompatible Kunststoffe gedruckt werden.

Zusammengefasst repräsentieren additive Fertigungs-techniken eine „Revolution im 3D-Druck“, da sie wirtschaftlich extrem effizient sind: Sie ermöglichen modulares und teambasiertes Arbeiten, erfordern weder Fertigungsmittel noch Montage, erzeugen minimalen Abfall und haben minimale Vertriebskosten. Fall – und nur falls – ein hinreichend hoher Kapitaleinsatz sicher getätigter werden kann, um eine genügend große Produktion zu gewährleisten, kann eine Hochdurchsatztechnik wie Spritzguss kosteneffizient betrieben werden. Für die Produktion kleiner Stückzahlen sind hingegen 3D-Drucktechniken gegenüber Hochdurchsatz-Gusstechniken wirtschaftlicher. Tatsächlich hat die Möglichkeit, einen physikalischen Prototyp in nur wenigen Stunden herzustellen, den Bereich Produktdesign schon jetzt revolutioniert. In der Biomedizin sollte die Verkürzung der Zeit vom Prototypen zum Produkt die Herstellung personalisierter Instrumente und Behandlungen ermöglichen, Forschung und Entwicklung beschleunigen und die Kosten klinischer Tests sowie des Gesundheitswesens insgesamt reduzieren.

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 3862–3881
Angew. Chem. **2016**, *128*, 3926–3946

- [1] G. M. Whitesides, *Nature* **2006**, *442*, 368.
- [2] a) P. S. Dittrich, A. Manz, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2006**, *5*, 210; b) J. El-Ali, P. K. Sorger, K. F. Jensen, *Nature* **2006**, *442*, 403.
- [3] E. K. Sackmann, A. L. Fulton, D. J. Beebe, *Nature* **2014**, *507*, 181.
- [4] Y. N. Xia, G. M. Whitesides, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 550; *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 568.
- [5] a) M. A. Unger, H. P. Chou, T. Thorsen, A. Scherer, S. R. Quake, *Science* **2000**, *288*, 113; b) K. Hosokawa, R. Maeda, *J. Micromech. Microeng.* **2000**, *10*, 415; c) T. Thorsen, S. J. Maerkl, S. R. Quake, *Science* **2002**, *298*, 580.
- [6] A. Folch, *Introduction to BioMEMS*, CRC, Boca Raton, **2013**.
- [7] S. K. Sia, G. M. Whitesides, *Electrophoresis* **2003**, *24*, 3563.
- [8] D. Fuard, T. Tzvetkova-Chevolleau, S. Decossas, P. Tracqui, P. Schiavone, *Microelectron. Eng.* **2008**, *85*, 1289.
- [9] a) C. J. Choi, B. T. Cunningham, *Lab Chip* **2007**, *7*, 550; b) T. C. Chang, A. M. Mikheev, W. Huynh, R. J. Monnat, R. C. Rostomily, A. Folch, *Lab Chip* **2014**, *14*, 4540.
- [10] a) E. C. Jensen, W. H. Grover, R. A. Mathies, *J. Microelectromech. Syst.* **2007**, *16*, 1378; b) J. A. Weaver, J. Melin, D. Stark, S. R. Quake, M. A. Horowitz, *Nat. Phys.* **2010**, *6*, 218; c) M. Rhee, M. A. Burns, *Lab Chip* **2009**, *9*, 3131; d) N. S. G. K. Devaraju, M. A. Unger, *Lab Chip* **2012**, *12*, 4809; e) B. Mosadegh, C.-H. Kuo, Y.-C. Tung, Y.-s. Torisawa, T. Bersano-Begey, H. Tavana, S. Takayama, *Nat. Phys.* **2010**, *6*, 433; f) P. N. Duncan, T. V. Nguyen, E. E. Hui, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2013**, *110*, 18104.
- [11] C. M. Ho, S. H. Ng, K. H. Li, Y. J. Yoon, *Lab Chip* **2015**, *15*, 3627.
- [12] A. K. Au, W. Lee, A. Folch, *Lab Chip* **2014**, *14*, 1294.
- [13] a) L. Murr, E. Esquivel, S. Quinones, S. Gaytan, M. Lopez, E. Martinez, F. Medina, D. Hernandez, E. Martinez, J. Martinez, S. Stafford, D. Brown, T. Hoppe, W. Meyers, U. Lindhe, R. Wicker, *Mater. Charact.* **2009**, *60*, 96; b) C. A. Terrazas, S. M. Gaytan, E. Rodriguez, D. Espalin, L. E. Murr, F. Medina, R. B. Wicker, *Int. J. Adv. Manuf. Technol.* **2014**, *71*, 33.
- [14] a) A. Mazzoli, *Med. Biol. Eng. Comput.* **2013**, *51*, 245; b) B. Duan, M. Wang, *MRS Bull.* **2011**, *36*, 998.
- [15] D. A. Zopf, S. J. Hollister, M. E. Nelson, R. G. Ohye, G. E. Green, *New Engl. J. Med.* **2013**, *368*, 2043.

- [16] <http://www.renishaw.com/>.
- [17] M. T. Lee, D. Lee, A. Sherry, C. P. Grigoropoulos, *J. Micromech. Microeng.* **2011**, *21*, 095018.
- [18] A. Pilipović, P. Raos, M. Šerčer, *Int. J. Adv. Manuf. Technol.* **2009**, *40*, 105.
- [19] D. G. Ahn, J. Y. Lee, D. Y. Yang, *J. Mech. Sci. Technol.* **2006**, *20*, 19.
- [20] Y. L. Cheng, S. J. Chen in *Progress on Advanced Manufacture for Micro/Nano Technology 2005, Pt. 1 and 2, Vol. 505–507* (Hrsg.: W. Jywe, C. L. Chen, K. C. Fan, R. F. Fung, S. G. Hanson, W. H. Hsieh, C. L. Hsu, Y. M. Huang, Y. L. Hwang, G. Jager, Y. R. Jeng, W. Li, Y. S. Liao, C. C. Lin, Z. C. Lin, C. K. Sung, C. H. Tzeng), **2006**, S. 1063.
- [21] B. O. Erbano, A. C. Opolski, M. Olandoski, J. A. Foggiatto, L. F. Kubrusly, U. A. Dietz, C. Zini, M. M. Makita Arantes Marinho, A. G. Leal, R. Ramina, *Acta Cir. Bras.* **2013**, *28*, 756.
- [22] S. G. Bucella, G. Nava, K. C. Vishunubhatla, M. Caironi, *Org. Electron.* **2013**, *14*, 2249.
- [23] <http://www.stratasys.com/3d-printers/production-series/fortus-900mc>.
- [24] Y. L. Kong, I. A. Tamargo, H. Kim, B. N. Johnson, M. K. Gupta, T.-W. Koh, H.-A. Chin, D. A. Steingart, B. P. Rand, M. C. McAlpine, *Nano Lett.* **2014**, *14*, 7017.
- [25] K. Sun, T.-S. Wei, B. Y. Ahn, J. Y. Seo, S. J. Dillon, J. A. Lewis, *Adv. Mater.* **2013**, *25*, 4539.
- [26] J. T. Muth, D. M. Vogt, R. L. Truby, Y. Mengüç, D. B. Kolesky, R. J. Wood, J. A. Lewis, *Adv. Mater.* **2014**, *26*, 6307.
- [27] J. J. Adams, E. B. Duoss, T. F. Malkowski, M. J. Motala, B. Y. Ahn, R. G. Nuzzo, J. T. Bernhard, J. A. Lewis, *Adv. Mater.* **2011**, *23*, 1335.
- [28] A. Joe Lopes, E. MacDonald, R. B. Wicker, *Rapid Prototyping J.* **2012**, *18*, 129.
- [29] M. S. Mannoor, Z. Jiang, T. James, Y. L. Kong, K. A. Malatesta, W. O. Soboyejo, N. Verma, D. H. Gracias, M. C. McAlpine, *Nano Lett.* **2013**, *13*, 2634.
- [30] D. A. Bartholomeusz, R. W. Boutte, J. D. Andrade, *J. Microelectromech. Syst.* **2005**, *14*, 1364.
- [31] a) T. Himmer, T. Nakagawa, M. Anzai, *Comput. Ind.* **1999**, *39*, 27; b) T. Obikawa, M. Yoshino, J. Shinozuka, *J. Mater. Process. Technol.* **1999**, *89–90*, 171.
- [32] C. Hull, *Mod. Cast.* **1988**, *78*, 38.
- [33] a) T. Nakamoto, K. Yamaguchi, P. A. Abraha, K. Mishima, *J. Micromech. Microeng.* **1996**, *6*, 240; b) A. Bertsch, P. Bernhard, C. Vogt, P. Renaud, *Rapid Prototyping J.* **2000**, *6*, 259.
- [34] A. Waldbaur, H. Rapp, K. Lange, B. E. Rapp, *Anal. Methods* **2011**, *3*, 2681.
- [35] A. Bertsch, S. Zissi, J. Y. Jezequel, S. Corbel, J. C. Andre, *Microsyst. Technol.* **1997**, *3*, 42.
- [36] Y. Y. Pan, C. Zhou, Y. Chen, *J. Manuf. Sci. Eng. Trans. ASME* **2012**, *134*, 051011.
- [37] J. R. Tumbleston, D. Shirvanyants, N. Ermoshkin, R. Januszewicz, A. R. Johnson, D. Kelly, K. Chen, R. Pischmidt, J. P. Rolland, A. Ermoshkin, E. T. Samulski, J. M. DeSimone, *Science* **2015**, *347*, 1349.
- [38] a) <http://www.gizmo3dprinters.com.au/>; b) <http://www.prismlab.com/>.
- [39] W. Jonathan, O. W. Martha, T. Paul, B. Mallory, B. Vajayantee, M. Nicole, K. Kyobum, P. F. John, S. Ali, X. Yueshuo, F. W. Jean, P. L. Donald, S. Jiayang, I. C. Arnold, D. David, *Biofabrication* **2014**, *6*, 015003.
- [40] S. Kawata, H.-B. Sun, T. Tanaka, K. Takada, *Nature* **2001**, *412*, 697.
- [41] <http://www.nanoscribe.de/en/>.
- [42] S. Tasoglu, U. Demirci, *Trends Biotechnol.* **2013**, *31*, 10.
- [43] J. A. Barrona, B. R. Ringesena, H. Kimb, B. J. Spargo, D. B. Chrisey, *Thin Solid Films* **2004**, *453–454*, 383.
- [44] a) N. E. Sanjana, S. B. Fuller, *J. Neurosci. Methods* **2004**, *136*, 151; b) E. A. Roth, T. Xu, M. Das, C. Gregory, J. J. Hickman, T. Boland, *Biomaterials* **2004**, *25*, 3707; c) T. Boland, T. Xu, B. Damon, X. Cui, *Biotechnol. J.* **2006**, *1*, 910; d) V. Mironov, T. Boland, T. Trusk, G. Forgacs, R. R. Markwald, *Trends Biotechnol.* **2003**, *21*, 157.
- [45] B. R. Ringesena, R. K. Pirlo, P. K. Wu, T. Boland, Y. Huang, W. Sun, Q. Hamid, D. B. Chrisey, *MRS Bull.* **2013**, *38*, 834.
- [46] Y. Lu, G. Mapili, G. Suhali, S. C. Chen, K. Roy, *J. Biomed. Mater. Res. Part A* **2006**, *77*, 396.
- [47] K. C. Hribar, P. Soman, J. Warner, P. Chung, S. C. Chen, *Lab Chip* **2014**, *14*, 268.
- [48] L.-H. Han, S. Suri, C. E. Schmidt, S. Chen, *Biomed. Microdevices* **2010**, *12*, 721.
- [49] a) V. Chan, J. H. Jeong, P. Bajaj, M. Collens, T. Saif, H. Kong, R. Bashir, *Lab Chip* **2012**, *12*, 88; b) V. Chan, P. Zorlutuna, J. H. Jeong, H. Kong, R. Bashir, *Lab Chip* **2010**, *10*, 2062; c) L. H. Han, G. Mapili, S. Chen, K. Roy, *J. Manuf. Sci. Eng. Trans. ASME* **2008**, *130*, 021005.
- [50] a) S. P. Grogan, P. H. Chung, P. Soman, P. Chen, M. K. Lotz, S. Chen, D. D. D'Lima, *Acta Biomater.* **2013**, *9*, 7218; b) P. Soman, P. H. Chung, A. P. Zhang, S. C. Chen, *Biotechnol. Bioeng.* **2013**, *110*, 3038; c) P. Soman, B. T. D. Tobe, J. W. Lee, A. M. Winquist, I. Singec, K. S. Vecchio, E. Y. Snyder, S. Chen, *Biomed. Microdevices* **2012**, *14*, 829.
- [51] S. Suri, L.-H. Han, W. Zhang, A. Singh, S. Chen, C. E. Schmidt, *Biomed. Microdevices* **2011**, *13*, 983.
- [52] P. Zorlutuna, J. H. Jeong, H. Kong, R. Bashir, *Adv. Funct. Mater.* **2011**, *21*, 3642.
- [53] R. D. Kamm, R. Bashir, *Ann. Biomed. Eng.* **2014**, *42*, 445.
- [54] a) A. Ovsianikov, A. Deiwick, S. Van Vlierberghe, P. Dubrule, L. Moller, G. Dräger, B. Chichkov, *Biomacromolecules* **2011**, *12*, 851; b) A. Ovsianikov, A. Deiwick, S. Van Vlierberghe, M. Pflaum, M. Wilhelm, P. Dubrule, B. Chichkov, *Materials* **2011**, *4*, 288; c) E. Sascha, H. Eva, B. Kirsten, M. Wolfdrück, K. Hartmut, E. M. T. Günter, G. Arnold, *Biofabrication* **2011**, *3*, 025003.
- [55] J. L. Connell, E. T. Ritschdorff, M. Whiteley, J. B. Shear, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2013**, *110*, 18380.
- [56] A. Bertsch, S. Heimgartner, P. Cousseau, P. Renaud, *Lab Chip* **2001**, *1*, 56.
- [57] T. W. Lim, Y. Son, Y. J. Jeong, D. Y. Yang, H. J. Kong, K. S. Lee, D. P. Kim, *Lab Chip* **2011**, *11*, 100.
- [58] R. Nielson, B. Kaehr, J. B. Shear, *Small* **2009**, *5*, 120.
- [59] B. Kaehr, J. B. Shear, *Lab Chip* **2009**, *9*, 2632.
- [60] C. Zhao, C. Wang, R. Gorkin Iii, S. Beirne, K. Shu, G. G. Wallace, *Electrochem. Commun.* **2014**, *41*, 20.
- [61] <http://www.theengineer.co.uk/awards/the-atkins-project/1006253.article>.
- [62] A. J. Capel, S. Edmondson, S. D. R. Christie, R. D. Goodridge, R. J. Bibb, M. Thurstans, *Lab Chip* **2013**, *13*, 4583.
- [63] J. L. Erkal, A. Selimovic, B. C. Gross, S. Y. Lockwood, E. Walton, S. McNamara, R. S. Martin, D. Spence, *Lab Chip* **2014**, *14*, 2023.
- [64] S. Begolo, D. V. Zhukov, D. A. Selck, L. Li, R. F. Ismagilov, *Lab Chip* **2014**, *14*, 4616.
- [65] A. Causier, G. Carret, C. Boutin, T. Berthelot, P. Berthault, *Lab Chip*, **2015**, *15*, 2049.
- [66] „International Society for Optics and Photonics“: H. Wang, S. Masood, P. Iovenitti, E. C. Harvey, *International Symposium on Microelectronics and MEMS*, **2001**, S. 213.
- [67] <http://www.makerbot.com/>.
- [68] M. D. Symes, P. J. Kitson, J. Yan, C. J. Richmond, G. J. T. Cooper, R. W. Bowman, T. Vilbrandt, L. Cronin, *Nat. Chem.* **2012**, *4*, 349.
- [69] D. Therriault, S. R. White, J. A. Lewis, *Nat. Mater.* **2003**, *2*, 265.

- [70] J. S. Miller, K. R. Stevens, M. T. Yang, B. M. Baker, D.-H. T. Nguyen, D. M. Cohen, E. Toro, A. A. Chen, P. A. Galie, X. Yu, R. Chaturvedi, S. N. Bhatia, C. S. Chen, *Nat. Mater.* **2012**, *11*, 768.
- [71] M. K. Gelber, R. Bhargava, *Lab Chip*, **2015**, *15*, 1736.
- [72] P. J. Kitson, M. H. Rosnes, V. Sans, V. Dragone, L. Cronin, *Lab Chip* **2012**, *12*, 3267.
- [73] A. W. Martinez, S. T. Phillips, G. M. Whitesides, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 19606.
- [74] a) K. Macounová, C. R. Cabrera, M. R. Holl, P. Yager, *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 3745; b) K. Macounová, C. R. Cabrera, P. Yager, *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 1627.
- [75] A. Hatch, A. E. Kamholz, K. R. Hawkins, M. S. Munson, E. A. Schilling, B. H. Weigl, P. Yager, *Nat. Biotechnol.* **2001**, *19*, 461.
- [76] M. S. Munson, C. R. Cabrera, P. Yager, *Electrophoresis* **2002**, *23*, 2642.
- [77] E. A. Schilling, A. E. Kamholz, P. Yager, *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 1798.
- [78] E. Garcia, J. R. Kirkham, A. V. Hatch, K. R. Hawkins, P. Yager, *Lab Chip* **2004**, *4*, 78.
- [79] C. Neils, Z. Tyree, B. Finlayson, A. Folch, *Lab Chip* **2004**, *4*, 342.
- [80] S. Sun, M. H. Yang, Y. Kostov, A. Rasooly, *Lab Chip* **2010**, *10*, 2093.
- [81] I. Cho, K. Lee, W. Choi, Y. A. Song, *Int. J. Mach. Tools Manuf.* **2000**, *40*, 1813.
- [82] J. M. Ruano-López, M. Agirregabiria, G. Olabarria, D. Verdoy, D. D. Bang, M. Q. Bu, A. Wolff, A. Voigt, J. A. Dziuban, R. Walczak, J. Berganzo, *Lab Chip* **2009**, *9*, 1495.
- [83] a) G. A. Cooksey, C. G. Sip, A. Folch, *Lab Chip* **2009**, *9*, 417; b) M. Agirregabiria, F. J. Blanco, J. Berganzo, M. T. Arroyo, A. Fullaondo, K. Mayora, J. M. Ruano-López, *Lab Chip* **2005**, *5*, 545; c) M. Zhang, J. Wu, L. Wang, K. Xiao, W. Wen, *Lab Chip* **2010**, *10*, 1199.
- [84] a) J. W. Choi, E. MacDonald, R. Wicker, *Int. J. Adv. Manuf. Technol.* **2010**, *49*, 543; b) C. Zhou, Y. Chen, Z. Yang, B. Khoshnevis, in *Annual Solid Freeform Fabrication Symposium*, Austin, TX., 2011; c) C. Zhou, Y. Chen, Z. G. Yang, B. Khoshnevis, *Rapid Prototyping J.* **2013**, *19*, 153.
- [85] <http://ilios3d.com/en/>.
- [86] <http://www.oldworldlabs.com/>.
- [87] A. K. Au, N. Bhattacharjee, L. F. Horowitz, T. C. Chang, A. Folch, *Lab Chip* **2015**, *15*, 1934.
- [88] P. R. Miller, S. D. Gittard, T. L. Edwards, D. M. Lopez, X. Y. Xiao, D. R. Wheeler, N. A. Monteiro-Riviere, S. M. Brozik, R. Polksky, R. J. Narayan, *Biomicrofluidics* **2011**, *5*, 013415.
- [89] A. Ovsianikov, B. Chichkov, P. Mente, N. A. Monteiro-Riviere, A. Doraiswamy, R. J. Narayan, *Int. J. Appl. Ceram. Technol.* **2007**, *4*, 22.
- [90] T. Matsuda, M. Mizutani, *J. Biomed. Mater. Res.* **2002**, *62*, 395.
- [91] S. D. Gittard, P. R. Miller, R. D. Boehm, A. Ovsianikov, B. N. Chichkov, J. Heiser, J. Gordon, N. A. Monteiro-Riviere, R. J. Narayan, *Faraday Discuss.* **2011**, *149*, 171.
- [92] A. Doraiswamy, C. Jin, R. J. Narayan, P. Mageswaran, P. Mente, R. Modi, R. Auyueung, D. B. Chrisey, A. Ovsianikov, B. Chichkov, *Acta Biomater.* **2006**, *2*, 267.
- [93] J. Stampfl, S. Baudis, C. Heller, R. Liska, A. Neumeister, R. Kling, A. Ostendorf, M. Spitzbart, *J. Micromech. Microeng.* **2008**, *18*, 125014.
- [94] S. J. Leigh, H. T. J. Gilbert, I. A. Barker, J. M. Becker, S. M. Richardson, J. A. Hoyland, J. A. Covington, A. P. Dove, *Biomacromolecules* **2013**, *14*, 186.
- [95] Y. Du, E. Lo, S. Ali, A. Khademhosseini, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 9522.
- [96] a) C. G. Williams, A. N. Malik, T. K. Kim, P. N. Manson, J. H. Elisseeff, *Biomaterials* **2005**, *26*, 1211; b) K. T. Nguyen, J. L. West, *Biomaterials* **2002**, *23*, 4307.
- [97] N. E. Fedorovich, M. H. Oudshoorn, D. van Geemen, W. E. Hennink, J. Alblas, W. J. A. Dhert, *Biomaterials* **2009**, *30*, 344.
- [98] B. D. Fairbanks, M. P. Schwartz, C. N. Bowman, K. S. Anseth, *Biomaterials* **2009**, *30*, 6702.
- [99] T. Majima, W. Schnabel, W. Weber, *Macromol. Chem. Phys.* **1991**, *192*, 2307.
- [100] a) D. D. McKinnon, A. M. Kloxin, K. S. Anseth, *Biomater. Sci.* **2013**, *1*, 460; b) L. A. Sawicki, A. M. Kloxin, *Biomater. Sci.* **2014**, *2*, 1612; c) C.-C. Lin, K. S. Anseth, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2011**, *108*, 6380.
- [101] P. Kim, H. E. Jeong, A. Khademhosseini, K. Y. Suh, *Lab Chip* **2006**, *6*, 1432.
- [102] C. I. Rogers, J. B. Oxborrow, R. R. Anderson, L.-F. Tsai, G. P. Nordin, A. T. Woolley, *Sens. Actuators B* **2014**, *191*, 438.
- [103] P. N. Nge, C. I. Rogers, A. T. Woolley, *Chem. Rev.* **2013**, *113*, 2550.
- [104] I. R. G. Ogilvie, V. J. Sieben, B. Cortese, M. C. Mowlem, H. Morgan, *Lab Chip* **2011**, *11*, 2455.
- [105] W. H. Grover, M. G. von Muhlen, S. R. Manalis, *Lab Chip* **2008**, *8*, 913.
- [106] a) T. C. Merkel, V. I. Bondar, K. Nagai, B. D. Freeman, I. Pinna, *J. Polym. Sci. Part B* **2000**, *38*, 415; b) K. Hosokawa, K. Sato, N. Ichikawa, M. Maeda, *Lab Chip* **2004**, *4*, 181.
- [107] X. L. Wang, X. B. Cai, Q. Q. Guo, T. Y. Zhang, B. Kobe, J. Yang, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 10064.
- [108] E. Wilhelm, C. Neumann, K. Sachsenheimer, T. Schmitt, K. Lange, B. E. Rapp, *Lab Chip* **2013**, *13*, 2268.
- [109] J. Mai, L. Fok, H. F. Gao, X. Zhang, M. M. Poo, *J. Neurosci.* **2009**, *29*, 7450.
- [110] K. Ohtani, M. Tsuchiya, H. Sugiyama, T. Katakura, M. Hayakawa, T. Kanai, *J. Oleo Sci.* **2014**, *63*, 93.
- [111] T. Kanai, K. Ohtani, M. Fukuyama, T. Katakura, M. Hayakawa, *Polym. J.* **2011**, *43*, 987.
- [112] M. Li, D. P. Kim, *Lab Chip* **2011**, *11*, 1126.
- [113] A. K. Au, N. Bhattacharjee, L. F. Horowitz, T. C. Chang, A. Folch, *Lab Chip* **2015**, *15*, 1934.
- [114] X. Zhang, X. N. Jiang, C. Sun, *Sens. Actuators A* **1999**, *77*, 149.
- [115] J. W. Lee, I. H. Lee, D.-W. Cho, *Microelectron. Eng.* **2006**, *83*, 1253.
- [116] P. Amend, O. Hentschel, C. Scheitler, M. Baum, J. Heberle, S. Roth, M. Schmidt, *J. Laser Micro/Nanoeng.* **2013**, *8*, 276.
- [117] a) P. K. Yuen, *Lab Chip* **2008**, *8*, 1374; b) P. K. Yuen, J. T. Bliss, C. C. Thompson, R. C. Peterson, *Lab Chip* **2009**, *9*, 3303; c) K. C. Bhargava, B. Thompson, N. Malmstadt, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2014**, *111*, 15013; d) K. G. Lee, K. J. Park, S. Seok, S. Shin, D. H. Kim, J. Y. Park, Y. S. Heo, S. J. Lee, T. J. Lee, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 32876.
- [118] B. Kintses, L. D. van Vliet, S. R. A. Devenish, F. Hollfelder, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2010**, *14*, 548.
- [119] C. D. Robinson, J. M. Auchtung, J. Collins, R. Britton, *Infect. Immun.* **2014**, *82*, 2815.
- [120] A. I. Shallan, P. Smejkal, M. Corban, R. M. Guijt, M. C. Breadmore, *Anal. Chem.* **2014**, *86*, 3124.
- [121] a) J. W. Hong, Y. Chen, W. F. Anderson, S. R. Quake, *J. Phys. Condens. Matter* **2006**, *18*, S691; b) J. Melin, S. R. Quake, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **2007**, *36*, 213.
- [122] P. Gu, T. Nishida, Z. H. Fan, *Electrophoresis* **2014**, *35*, 289.
- [123] D. W. Lee, Y.-H. Cho, *Lab Chip* **2009**, *9*, 1681.
- [124] E. W. Lam, G. A. Cooksey, B. A. Finlayson, A. Folch, *Appl. Phys. Lett.* **2006**, *89*, 164105.
- [125] R. Furlan, J. N. Zemel, *Sens. Actuators A* **1995**, *51*, 239.
- [126] a) P. Gould, *Mater. Today* **2004**, *7*, 48; b) A. P. Lee, *Highlights Chem. Technol.* **2009**, *5*.

Eingegangen am 14. Mai 2015

Online veröffentlicht am 8. Februar 2016