

Abschlußbericht - Sachbericht 2013

Verbundprojekt: Miniaturisierte Multisensor-Plattform für schnellen Label-freien optischen Molekülnachweis (MINIMUM)



Teilprojekt E: Assay Entwicklung auf neuartigen Sensorelementen

Projektlaufzeit: 01.09.2010 – 31.05.2013

Projektverantwortlich: Dr. Eva Ehrentreich-Förster
Fraunhofer-Institut für Biomedizinische Technik (IBMT)
Abteilung Molekulare Bioanalytik & Bioelektronik
Am Mühlberg 13
14476 Potsdam

e-mail: eva.ehrentreich@ibmt.fhg.de

Tel.: 0331-58187203

*Das diesem Bericht zugrunde liegende Vorhaben wurde mit den Mitteln des Ministeriums für
Wirtschaft und Europaangelegenheiten des Landes Brandenburg und der EU gefördert. Die
Verantwortung für den Inhalt der Veröffentlichung liegt beim Autor.*



Eine kurze Darstellung der durchgeführten Maßnahmen und der Abweichungen von den dem Zuwendungsbescheid zugrunde liegenden Planungen wird gezeigt.

1. Zielstellung

In diesem Teilprojekt wurden die Möglichkeiten getestet, die Ringstrukturen als Sensorelemente für die biochemische Analytik zu nutzen. Dazu werden sowohl ELISA-Komponenten wie auch Zell(-bestandteile) in die Untersuchung mit eingeschlossen.

5. Aktive biomedizinische Assays (IBMT, in Zusammenarbeit mit ILBC)

5.1 Test der Strukturen auf Sensoreigenschaften mittels IgG Assay

5.2 Auswahl antimikrobieller Peptide als geeignete Fängermoleküle für Noxen in Luft (IBMT, in Zusammenarbeit mit ILBC)

5.4 Test der Sensorplattform mit Körperflüssigkeiten

6. Physikochemische Änderungen unter Verwendung von Desinfektionsmitteln (ILBC, in Zusammenarbeit mit IBMT)

6.2 Einfluss verschiedener Puffersysteme

9. Erste Evaluierung der miniaturisierten Multisensor-Plattform und Dokumentation

9.4 Dokumentation (alle Partner)

2. Erreichter Stand

Es wurden im Projektverlauf IgG basierte Assays eingesetzt:

- CRP als Entzündungsmarker
- Protein A als ein Protein (40-60 kDa), das ursprünglich aus der Zellwand des Bakteriums *Staphylococcus aureus* stammt. Es wird in der biochemischen Forschung häufig genutzt wegen seiner Fähigkeit, Immunglobuline zu binden.

Die Assays wurden auf Si- und Si₃N₄-Oberflächen als die zunächst vorhandenen Substrate der Projektpartner HHI und TU Berlin etabliert. Die Oberflächen wurden durch entweder nativ verwendet oder durch Plasmabehandlung bzw. Silanisierung modifiziert. Es lassen sich diese Assays auf allen Oberflächen im Bereich des jeweils medizinisch relevanten Bereiches durchführen. Die Fluoreszenzintensitäten der Assays auf den Chips, welche in unserem Projektteil als Nachweis dient, waren

denen der klassischen Glasträger vergleichbar, so daß wir von einer Übertragbarkeit der Assays auf neue Materialien ausgehen können.

Die Messung des Prot. A –Terms aus dem *Staphylococcus aureus* erfolgte dann auf den 1 Kristall- Silizium-Wafern des IHP als Endstufe der Substrate mit Serum. Auch hier zeigte sich die Vergleichbarkeit zu den etablierten Analysen auf Glasslides sowohl in der Signalintensität als auch in der Höhe der Hintergrundsignale.

Um die Messungen für die 3 Berliner Partner insofern zu vereinfachen, daß sie die im Meßgerät eingebauten Chips durch Regenerierung mehrfach nutzen können, wurden einige der Si-Chips auch mit Oligonucleotiden beschichtet. Hier zeigte sich, daß die nach 5 Regenerierungen eher die Chipoberfläche beschädigt war als die Oligonucleotide abgelöst. Außerdem zeigte sich das Konzentrationsoptimum für die Spottinglösung bei 0,5µM bis 0,25µM. Eine höhere Konzentration zeigt einen stärkeren Auswascheffekt, so daß effektiv wieder nur die Optimalkonzentration zur Verfügung steht.

Zur Desinfektion muß der eingesetzte biologische Puffer des Projektpartners ILBC die Keime vernichten, in unserem Fall war von Interesse, ob der Puffer nicht auch die immobilisierten Assaypartner inaktiviert oder anderweitig stört. Experimente dazu zeigten, daß dies nicht der Fall ist. Die Assays liefen nach dem Spülen mit ebenso wie unter Zugabe des biologischen Puffers ab.

Zusätzlich zum vorgesehenen Projektinhalt wurde die Entwicklung und Herstellung von Fließzellen in die Arbeiten aufgenommen. Sowohl die TU Berlin als auch das HHI benötigten die Zellen, um das mehrfache Ein- und Ausbauen der Chips während der Inkubationen zu sparen. Somit konnte der Chip nach Messung des Grundzustandes im Gerät bleiben und wurde mit den Analysenkomponenten überströmt, was eine Echtzeitdetektion des Bindungsverlaufs ermöglichte.

Fachliche Abweichungen vom Plan

Nach Prüfung der Verfügbarkeit an Material und der Möglichkeit des Umganges mit MRSA wurden die Versuche gemäß des Änderungsantrages nur an *Staphylococcus aureus* durchgeführt.

Über die geplanten Arbeiten hinaus wurde eine Fluidik für die Si-basierte Chipanalytik entwickelt und gebaut.