

# Entwicklung einer Mikrochip navigierten Zellsortieranlage

S. Kahnert<sup>1</sup>, A. Goehlich<sup>1</sup>, D. Greifendorf<sup>1</sup>, H. Vogt<sup>1</sup>, K. Lennartz<sup>2</sup>, U. Kirstein<sup>2</sup>, B. Goellner<sup>3</sup>, U. Michelsen<sup>3</sup>, F. Bartels<sup>3</sup>, F. Schreiber<sup>4</sup>, A. Rennings<sup>4</sup>, D. Erni<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Fraunhofer IMS, Finkenstraße 61, 47057 Duisburg, stefan.kahnert@ims.fraunhofer.de

<sup>2</sup>Universitätsklinikum Essen, Institut für Zellbiologie

<sup>3</sup>Bartels Mikrotechnik GmbH, Konrad Adenauer Allee 11, 44263 Dortmund

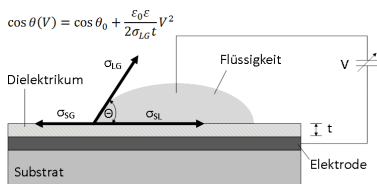
<sup>4</sup>Universität Duisburg-Essen, Allgemeine und Theoretische Elektrotechnik (ATE)



## Kurzfassung

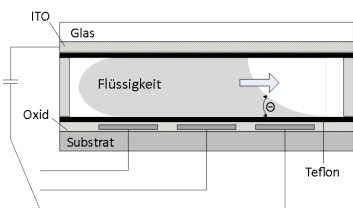
Die Zellsortierung findet eine breite Anwendung in der Untersuchung von Stammzellen und der Entwicklung von Therapien gegen neurodegenerative Krankheiten sowie Krebs. Weiterhin leistet die Technologie einen Beitrag zur Diagnose von Krankheiten wie z.B. HIV-Infektionen oder Malaria. Derzeit werden hauptsächlich Durchflusszytometer für die Zellsortierung eingesetzt, die eine serielle Analyse der Zellen als grundlegendes Konzept aufweisen. Die Mikrochip navigierte Zellsortierung verspricht dem gegenüber eine prinzipiell erhöhte Sortiergeschwindigkeit durch parallelisierte Sortiervorgänge, eine schonendere Zellbehandlung und eine Vermeidung biologischer Kontaminationen in der Umgebung des Gerätes durch den Einsatz eines geschlossenen mikrofluidischen Systems. Innerhalb der geplanten Sortieranlage sollen Flüssigkeitstropfen mit unterschiedlich fluoreszenzmarkierten Zellen durch das Prinzip des Electrowettings auf einem Mikrochip sortiert werden. Dabei findet die Trennung der Zellspezies durch Teilungen der Flüssigkeitstropfen statt, während ihre Diskriminierung mit Hilfe von Fluoreszenzmessungen erfolgt. In diesem Beitrag werden fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen an einem digitalen mikrofluidischen System vorgestellt, welche erste Teilungsoperationen mit unterschiedlich fluoreszenzmarkierten „Beads“ (Latex-Kugeln, Ø 10µm) demonstrieren. Des Weiteren wird der Aufbau des Mikrochips und ein Prozess zur Strukturierung des Spacers vorgestellt. Ferner wurden Kontaktwinkelmessungen auf der hydrophobisierten Chipoberfläche durchgeführt.

## Einleitung



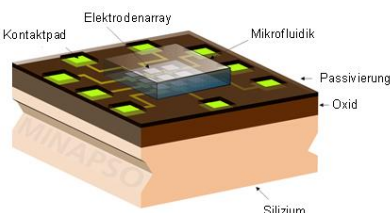
Cho et al.: Creating, Transporting, Cutting, and Merging Liquid Droplets by Electrowetting-Based Actuation for Digital Microfluidic Circuits, Journal of Microelectromechanical Systems 2003

- Prinzip des electrowettings auf einer dielektrischen Schicht. Durch Anlegen einer Spannung ( $V$ ) kann der Kontaktwinkel ( $\theta$ ) und das Benetzungsverhalten eines Flüssigkeitstropfen gesteuert werden.



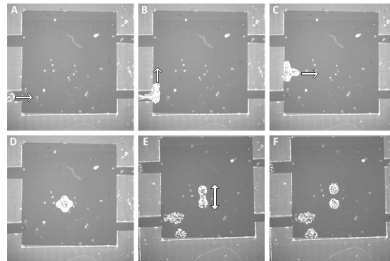
Cho et al.: Creating, Transporting, Cutting, and Merging Liquid Droplets by Electrowetting-Based Actuation for Digital Microfluidic Circuits, Journal of Microelectromechanical Systems 2003

- Eine asymmetrische Änderung der Oberflächenspannung erzeugt eine Druckänderung innerhalb des Tropfens und sorgt für die Bewegung der Flüssigkeit.

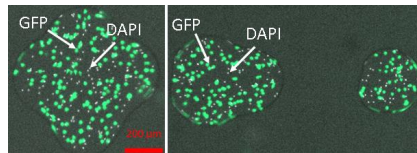


- Konzept eines mikrofluidischen Chips. Die separat ansteuerbaren Elektroden sind mit einem mikrofluidischen Kanal gekoppelt.

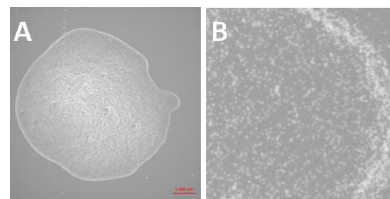
## Fluoreszenzmessungen an einer Mikrofluidik und an biologischen Zellen



- Nachweis der Fluidoperationen Generieren, Transportieren und Teilen an einem Bead-haltigen Flüssigkeitstropfen.

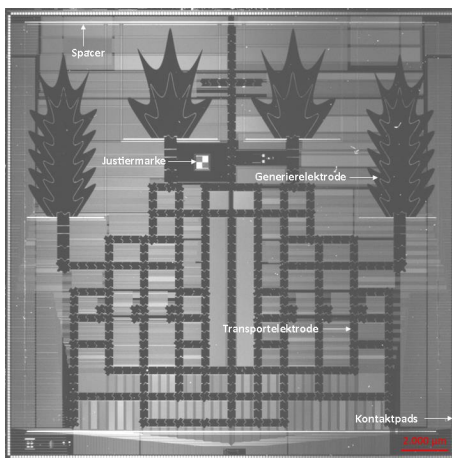


- Fluoreszenz-Nachweise unterschiedlicher Bead-Spezies vor und nach einer Tropfenteilung.



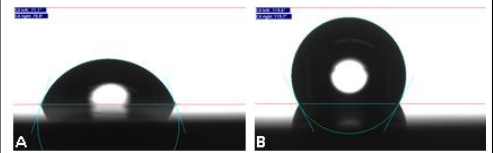
- Nachweis einzelner fluoreszierender PBMC's (Peripheral Blood Mononuclear Cell's) auf einer Fläche, die dem gesamten Mikrochip entspricht.

## Aufbau einer Mikrochip basierten Sortierplattform



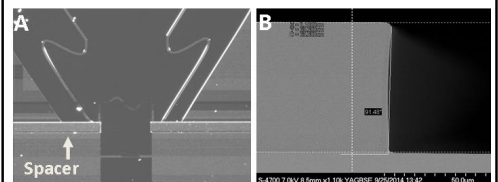
- Ein Elektrodenarray wurde nach Vorgabe eines Sortieralgorithmus (Uni Duisburg-Essen, Fb. Allgemeine und Theoretische Elektrotechnik) auf einem Silizium-Wafer im Reinraum des Fraunhofer IMS strukturiert. Im oberen Bereich befinden sich Fingerelektroden, die der Tropfengenerierung dienen, während im weiteren Verlauf die Transportelektroden zur Zellsortierung genutzt werden. Als Spacer-Material zum Aufbau der Mikrofluidik wurde der negativ Lack SU-8 verwendet.

## Kontaktwinkelmessungen auf einem hydrophobisierten Chip



- A) Der Kontaktwinkel von desitiertem Wasser auf einem unbeschichteten Chip beträgt ca. 70°, während der Kontaktwinkel auf einem Teflon beschichteten Chip ca. 120° beträgt (B).

## Entwicklung eines Prozesses zur Spacer-Strukturierung



- Als Material zur Herstellung des Spacers wurde ein Prozess zur Verarbeitung des negativ Lacks SU-8 etabliert. (A) Mikroskopische Aufnahme eines Reservoirs des Mikrochips, welches durch den ausgehärteten Lack geformt wird. (B) REM-Analyse einer Spacer-Wand. Die Spacer-Höhe beträgt ca. 60 µm, während der Winkel der Flanke eine Größe von ca. 91° aufweist. Für die REM-Aufnahme wurde, der Lack mit Gold besputtert, um Aufladungen zu verhindern.

## Zusammenfassung

- Alle relevanten Fluidoperationen sowie die Quantifizierung unterschiedlicher Bead-Spezies konnten anhand eines digitalen mikrofluidischen Systems gezeigt werden.
- Fluoreszenzmarkierte Zellen konnten auf einer Fläche, die dem gesamten Mikrochip entspricht nachgewiesen werden.
- Ein Elektroden-Array wurde auf einem Silizium Wafer strukturiert. Zudem wurde auf der Chip-Oberfläche eine Ta<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-Schicht und eine PTFE-Schicht abgeschieden. Ferner konnte ein Spacer aus SU-8 Lack aufgebracht werden.

## Projektpartner



## Förderung

Die Förderung des MINAPSO Forschungsprojektes durch das Ziel-2-Programm des Ministeriums für Wirtschaft, Energie, Industrie, Mittelstand und Handwerk des Landes Nordrhein-Westfalen im Rahmen des Innovationswettbewerbs NanoMikro+Werkstoffe.NRW wird dankbar anerkannt..

