

## 2. BIOSENSOR SYMPOSIUM

TÜBINGEN 2001

<http://barolo.ipc.uni-tuebingen.de/biosensor2001>

### **Multifunktions-BioMEMS zum Stoffwechsel-Monitoring und für die Labordiagnostik**

Dr. Isabella Moser, Gerhard Jobst, Barbara Enderle  
Institut f. Mikrosystemtechnik, Georges Köhler Allee 103 D-79110 Freiburg  
Tel. 0761-203 7263  
[Moser@imtek.de](mailto:Moser@imtek.de) [www.imtek.de](http://www.imtek.de)  
Registriernummer der Online-Anmeldung: 194

#### **Vortrag**

---

#### ***EINLEITUNG***

Schnelles, kontinuierliches Messen von klinisch relevanten Parametern mit minimalem Probenverbrauch ist die Voraussetzung für erfolgreiches Stoffwechselmonitoring. Einerseits können durch das Erfassen schneller Konzentrationsänderungen wichtige Erkenntnisse für die Stoffwechselforschung gewonnen werden, andererseits zeichnet sich mit dem in naher Zukunft geplanten Einsatz von Blutzucker-Monitoring-Geräten im Heimgebrauch für das Vermeiden von Hypoglykämien bei Diabetikern eine neue Ära der klinischen Diagnostik ab.

Neben dem geringen Probenverbrauch ist eine einfache Handhabung (im besten Fall reagenzienfrei) des Gerätes, das kostengünstig in Anschaffung und Betrieb sein muss, Voraussetzung.

Bioanalytische Mikrosysteme, gekoppelt mit Probennahmesonden wie z. B. Mikrodialysekatheter können die oben genannten Anforderungen erfüllen. Das präsentierte Gerät ist ein hybrides modulares Mikrosystem (HYMOS), dessen Biosensorarray in Dünnschichttechnologie hergestellt ist, während der Printplattenteil die elektrischen Kontakte und durch auflaminierte photostrukturierbare Polymer-folienschichten die Mikrofluidik mit Messzelle und Mischern enthält.

#### ***ERGEBNISSE***

Das Biosensorarray besteht aus Glukose-, Laktat-, Glutamin- und Glutamat-Biosensoren. Ein reagenzloser Pyruvatsensor aus einer rekombinanten Pyruvatoxidase wird derzeit in das Array integriert. Für die Biosensoren werden die jeweiligen Oxidasen verwendet. Der Glutaminsensor ist ein

Bienzymsensor mit einer Glutaminase mit pH-Maximum im neutralen Bereich. Eine zusätzliche Katalaseschicht verhindert das Diffundieren von Wasserstoffperoxid, das bei der Oxidation der jeweiligen Analyten entsteht und dessen anodische Oxidation das Sensorsignal liefert, von einer Elektrode zur anderen. Dadurch ist erst die Voraussetzung zur Integration der Biosensoren gegeben. Die Enzyme sind in einer photovernetzten pHEMA-Hydrogelmembran immobilisiert, die in trockenem Zustand durchschnittlich 7 µm dick ist. Das Sensorarray umfaßt neben den vier Biosensoren noch eine Silber/ Silberchlorid- Referenzelektrode. Die Platinelektroden werden mittels Dünnschichttechnologie auf 0,3 mm dicke Glaswafer aufgebracht. Das Mikrosystem zur Bestimmung der Analyten und Enzymaktivitäten besteht aus dem Dünnschicht-Biosensorarray, der mit dem Mikrofluidikteil assembliert wird. Der Mikrofluidikteil befindet sich auf einer Leiterplatte, die die Funktionen Herstellung des elektrischen Kontaktes zum Biosensorarray und Fluidik übernimmt. Diese Integration von Probenvorbereitung und Sensorfunktion in einem miniaturisiertem Gerät minimiert nicht nur das erforderliche Probenvolumen, sondern erhöht auch die Zuverlässigkeit der vorgenommenen Analysen.

Der Zusammenbau des Dünnschichtsensorteils mit einer Leiterplatte, die sowohl elektrische als auch Fluidikfunktionen übernimmt, ergibt das analytische Mikrosystem. Die Leiterplatte umfaßt eine Mischsäule mit Möbius-Mischern mit 6µl internem Volumen und bildet mit dem Biosensorarray eine Flußzelle von 330 nl internem Volumen.

Die Mischer am Chip ermöglichen ein Mischen der Probe mit Reagentien, wobei spezielle Mischstrategien wie die der Möbiusmischer nötig sind, weil die Fluide in den beschriebenen Kanälen laminar strömen. Ergebnisse zur Zuverlässigkeit der Mischer werden präsentiert.

Handelt es sich bei den zugemischten Reagentien um Substrate von Enzymen, können Enzymaktivitäten wie Lebertransaminasen- oder Glutamatdehydrogenase- Aktivitäten bestimmt werden.

Eine Erweiterung über die fünf Analyten des Biosensorarrays hinaus, wird mit Assays möglich, die auf das bioanalytische Mikrosystemsystem optimiert werden, und deren Ergebnis elektrochemisch mit einem Biosensor, meist dem Glutamatsensor ausgelesen werden.

In einer Weiterentwicklung werden zusätzlich zu Sensorarray und Mikrofluidik weitere funktionelle Einheiten wie Messelektronik und Interface modular integriert. Die verschiedenen funktionellen Einheiten sind aus verschiedenen Materialien so hergestellt, dass Teile mit kürzerer Lebensdauer wie z.B. das Sensorarray, leicht und kostengünstig ausgetauscht werden können (HYMOS-Prinzip). Das Biosensorarray ist zur Zeit mit vier verschiedenen Biosensoren für Glukose, Laktat, Glutamin und Glutamat ausgestattet. Mit dieser Konfiguration werden neben den Metaboliten auch Enzymaktivitätsassays für Lebertransaminasen, Glutamatdehydrogenase, Laktatdehydrogenase und ein Ammoniumassay mit sehr guter Korrelation zu klinischen Laborwerten durchgeführt.

Kombiniert mit einem Mikrodialysekatheder als Probennahmesystem wird das Mikrosystem zum Stoffwechselmonitoring an Probanden eingesetzt. Der Vergleich von Analytkonzentrationen im

Fettgewebe mit Blutwerten liefert einerseits Aufschluss über den Stoffwechsel des Fettgewebes und dient andererseits der Evaluierung der Methode für das Stoffwechsel-Monitoring von Patienten .

### **Literatur**

- [1] G. Jobst, P. Svasek, I. Moser, M. Varahram, Z. Trajanoski, P. Wach, P. Kotanko, F. Skrabal, G. Urban, 1997: Mass producible miniaturized flow through device with biosensor array. Sensors&Actuators B 43: 121-125.
- [2] Moser, G. Jobst, P. Svasek, E. Svasek, M. Varahram, G. Urban  
Rapid liver enzyme assay with miniaturized liquid handling system comprising thin film biosensor. Sensors&Actuators B (1997),44/1-3, 377-80.