Abschlussbericht

für das Verbundprojekt „Kristalloides P-Protein, - Prototyp bioanaloger Nanoaktuatoren“ Teilprojekt 3: Prototypische Anwendungen

Zuwendungsempfänger: **TU Ilmenau** **FG Mikromechanische Systeme** bisher FG Mikrosystemtechnik	Förderkennzeichen (FKZ): **0312014C**

Vorhabensbezeichnung	Nanobiotechnologie-Verbundprojekt: Kristalloides P-Protein, - Prototyp bioanaloger Nanoaktuatoren; **Teilprojekt 3: Prototypische Anwendungen**
Laufzeit des Vorhabens	**01.09.02 – 31.12.05**
Berichtszeitraum	**01.09.02 – 31.12.05**

Technische Universität Ilmenau (TU Ilmenau)
Institut für Mikro- und Nanotechnologien
Fachgebiet Mikromechanische Systeme
bisher Fachgebiet Mikrosystemtechnik
PF 100565, D-98684 Ilmenau

Projektverantwortlicher: em. Univ.-Prof. Dr.-Ing. habil. Dr. h.c. Helmut Wurmus
Univ.-Prof. Dr.-Ing. habil. Martin Hoffmann

Projektbearbeiter: Dr.-Ing. Arne Albrecht
Dipl.-Ing. Mike Stubenrauch
Dipl.-Ing. Jörg Burgold
Dipl.-Biol. Danja Voges
Dipl.-Chem. Karin Friedel

Gliederung

1. Einleitung 1

1.1 Aufgabenstellung.....1

1.2 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde 1

1.3 Planung und Ablauf des Vorhabens 1

1.4 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde.....2

1.5 Zusammenarbeit mit anderen Stellen. 2

2. Darstellung der Ergebnisse des Projektes 3

2.1 Wissenschaftlich-technische Ergebnisse 3

2.1.1 Entwicklung und Herstellung von mikrostrukturierten Testmodulen 3

2.1.2 Stufenweise Systemintegration von Funktionsmodulen.....4

2.1.3 Unterstützung der Partner bei der Planung und dem Aufbau von Testgeräten....9

2.1.4 Entwicklung von Prototypen für die Mikrofluidik 11

2.1.5 Tests zur Stabilität und Lebenszeit der Proteine.....15

2.1.6 Recherche nach Anwendungen und Partnern 16

2.1.7 Fabrikation und Test der Mikrofluidsysteme.....18

2.1.8 Zusammenfassung 22

2.2 Voraussichtlicher Nutzen und Verwertungsplan.....23

2.3 Ergebnisse Dritter im Zusammenhang mit dem Projekt 24

2.4. Veröffentlichungen der Ergebnisse 25

1. Einleitung

1.1 Aufgabenstellung

Das Projekt hatte zum Ziel, die Funktionsweise und Eigenschaften eines kontraktilen Proteins, des Forisoms (auch kristalloides P-Protein genannt) eingehender zu untersuchen, dessen Funktion als Ventilaktor in den Leitzellen höherer Pflanzen erst vor wenigen Jahren entdeckt wurde (siehe hierzu KNOBLAUCH et al. Nature Materials 2003). Es sollten Voraussetzungen für den technischen Einsatz geschaffen sowie potentielle Anwendungsfelder erschlossen werden.

Im Bereich biochemischer und bionischer Mikro- und Nanotechnologien spielt insbesondere die Zellbiologie eine große Rolle, wobei in Hinsicht auf nanomechanische Anwendungen dem Cytoskelett im weitesten Sinne ein hohes Modellpotential innewohnt. Allerdings machen die komplexen Regulationsmechanismen und die in bzw. an den Molekülen selbst stattfindenden chemischen Reaktionen der bekannten mechanisch aktiven Zellbestandteile eine direkte technische Anwendung schwierig, wenn nicht unmöglich. Forisome hingegen reagieren reversibel auf chemische (divalente Kationen, pH) und physikalische (elektrische Spannung) Reize, wobei sie charakteristische Konformationsänderungen durchlaufen, die unter anderem zu anisotropen Kontraktionen führen und sie hierdurch als Modellsystem für nanotechnologische Anwendungen prädestinieren. Im vorliegenden Projekt sollten die biologischen und molekularen Grundlagen weiter erörtert und erste prototypische Anwendungen, speziell im Bereich der Mikrofluidik entwickelt werden.

1.2 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Die Grundlage für eine erfolgreiche Durchführung des Projektes bildete der Zusammenschluss einer interdisziplinären Gruppe von 3 Institutionen, deren unterschiedliche Kompetenzen eine ideale Voraussetzung bildeten. Die TU Ilmenau brachte dabei Ihre umfangreichen Erfahrungen auf dem Gebiet der Mikrosytemtechnik, insbesondere der Mikrofluidik ein. Die neuartigen biologischen Aktuatoren sollten erstmals in künstlichen Umgebungen studiert und prototypisch eingesetzt werden.

1.3 Planung und Ablauf des Vorhabens

Folgende Schwerpunkte waren im Arbeitsprogramm der TU Ilmenau (Teilprojekt 3) vorgesehen:

- Entwicklung und Herstellung eines Testequipments (artifizielle Siebzellen) zur Aufklärung und Quantifizierung molekularer Mechanismen in Siebelementen.

- Stufenweise Integration einzelner Module (Heizungen, Mikropumpen, Drucksensoren, Elektroden etc.) zur Untersuchung einzelner Parameter die zur Stimulierung des Moleküls führen.
- Stufenweiser Einbau der Komponenten in ein kompaktes Gerät
- Unterstützung bei der Planung und dem Aufbau von Testgeräten
- Entwicklung von Prototypen für die Mikrofluidik.
- Tests zur Stabilität und Lebenszeit der Proteine.
- Recherche nach speziellen Anwendungen und Vertrieb von Geräten
- Test und Fabrikation

1.4 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Beim Phloem höherer Pflanzen handelt es sich um ein komplexes mikrofluidisches System (Röhrendurchmesser im µ-Bereich), welches zur Verteilung von Nährstoffen dient und sich durch hohen Innendruck (bis 20 bar), hohe, variable Fließgeschwindigkeiten (bis 3 cm/min), sowie wechselnde Viskosität und Zusammensetzung des Mediums auszeichnet. Das Verständnis der Regulation des Lösungsflusses unter natürlichen Bedingungen wurde vor Projektbeginn durch den Einsatz modernster mikroskopischer Verfahren in der Arbeitsgruppe von Prof. Aart van Bel (Universität Gießen) wesentlich erweitert (z.B. KNOBLAUCH et al., Plant Cell 10: 35-50, 1998). Die direkte Beobachtung der Funktion der kristallinen P-Proteine, die in Abhängigkeit bestimmter Stimuli die Röhren reversibel verschließen ("molekularer Absperrhahn"), stellte hierbei eine besonders faszinierende Entdeckung dar (KNOBLAUCH et al., Plant Cell 13: 1221-1230, 2001), aus der sich das hohe Anwendungspotential des Proteins in der Mikrofluidik unmittelbar ergab. Darüber hinaus war bereits die Isolierung einzelner Proteinkristalloide unter vollständiger Erhaltung der Funktionsfähigkeit gelungen und die Krafterzeugung durch Kontraktion des Proteins in quantifizierbarer Weise nachgewiesen. Vorversuche zur Isolierung des Proteins im großen Maßstab sowie zu seiner molekularbiologischen Charakterisierung hatten bereits stattgefunden.
Im Fachgebiet Mikromechanische Systeme der TU Ilmenau existierten bereits Erfahrungen im Entwurf und der technologischen Umsetzung mikrofluidischer Systeme, deren funktionelles Potential sie für diesen Einsatz als Bio-MEMS prädestinierten. Auf dieser Grundlage sollten die im Antrag aufgeführten Arbeiten durchgeführt werden.

1.5 Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Das Zentrum für Mikro- und Nanotechnologien, welches in der Zwischenzeit, auch durch Impulse der Arbeiten im Projekt, in ein Institut der TU Ilmenau überführt wurde, bot günstige

Voraussetzungen für eine interdisziplinäre Kooperation und gegenseitige Unterstützung. Während der gesamten Laufzeit des Projektes wurden im Rahmen institutsinterner Arbeitsbesprechungen die Probleme und Lösungsansätze bei der Integration biologischer Komponenten in Mikrostrukturen diskutiert. Insbesondere wurde in gemeinsamen Anstrengungen aller Erfahrungsträger der verschiedenen Fachgebiete im ZMN/IMN die technologische Kette mit Hinsicht auf Biokompatibilität, Handhabbarkeit und adaptierbarer Aufbau- und Verbindungstechnik überprüft und optimiert. Dabei wurden die in den jeweiligen Fachgebieten verfügbaren Anlagen (die gesamte technologische Strecke des ZMN) und Geräte wie zum Beispiel das Phasen-Kontrast-Mikroskop in Ergänzung der im Rahmen dieses Projekts beschafften Instrumente genutzt.

2. Darstellung der Ergebnisse des Projektes

2.1 Wissenschaftlich-technische Ergebnisse

Zu Beginn des Projektes wurden in Ilmenau die Grundlagen für das Arbeiten mit biologischen Objekten und organischen Substanzen geschaffen. Dazu waren einige Investitionen in Laborausrüstung und Messtechnik erforderlich. Des Weiteren wurde durch die Organisation eines Kick-off Workshops in Kochberg zur Projekteröffnung mit Beratung durch Experten aus Deutschland und Europa und fachübergreifender Diskussion die Grundlage für die ersten Arbeiten gelegt. Dabei war es besonders hilfreich, die Beziehungen zum Fachbereich Biomechatronik (Prof. H. Witte) an der TU Ilmenau zu intensivieren mit der Zielstellung von beratenden und unterstützenden Tätigkeiten durch Mitarbeiter dieses Bereichs im Rahmen des Projektes kristalloides P-Protein. Während der Projektlaufzeit sind durch diese enge Kooperation viele Lösungsvorschläge und weiterführende Projektideen entstanden.

2.1.1 Entwicklung und Herstellung von mikrostrukturierten Testmodulen

Es wurden verschiedene Mikrosysteme zur Evaluierung der Machbarkeit von mikrofluidischen Strukturen zur Anwendung mit biologischen Proben (Zellen, Zellbestandteilen) geplant, technologisch umgesetzt und getestet. Wie bereits bei Antragstellung beschrieben, wurden dazu die Anlagen und Geräte des Zentrums für Mikro- und Nanotechnologien der TU Ilmenau genutzt. Nach eingehenden wissenschaftlichen Diskussionen mit den Kollegen aus Giessen und Schmallenberg und gemeinsamen Projekttreffen auch mit anderen Wissenschaftlern auf dem Gebiet der Biomolekülforschung wurden mögliche Randbedingungen und Anforderungen (Maschenweite künstlicher Siebstrukturen, verwendbare Materialien, notwendige Querschnitte der Fluidführungen, messtechnische und gehäusebedingte Randbedingungen) erarbeitet.

Diese wurden mit den technologischen Möglichkeiten in Übereinstimmung gebracht und in Systemen umgesetzt. Nach einem ersten Maskendesign wurden die in Abbildung 1 dargestellten Strukturen erzeugt. Die fluidischen Strukturen bestehen aus einkristallinem Silizium. Sie sind mit einer Glasschicht gedeckelt und damit hermetisch von der Umgebung abgeschirmt.

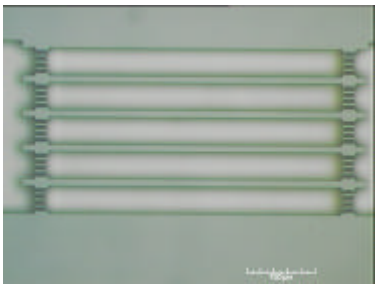

Abbildung 1 – Siebzell-Replikat

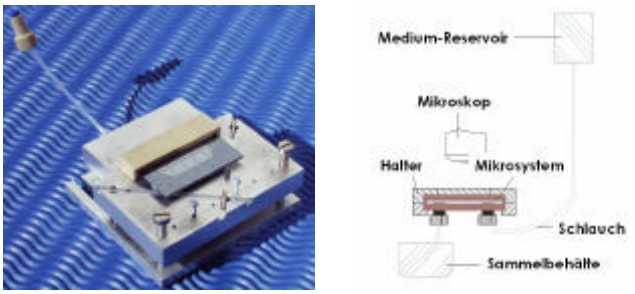

Abbildung 2 – Systemhalterung für die Mikroskopie

Um die Systeme zu testen und weitere Studien an den Forisomen machen zu können, wurde die im Fachgebiet entwickelte Anschlusstechnik für mikrofluidische Systeme an die Erfordernisse der Beobachtung im Mikroskop angepasst. Dazu wurde eine spezielle, an die Bauform des Objekttisches des Mikroskops mit sehr kleinem Objektabstand angepasste **Halterung** (**Konnektor**) für das System inklusive aller Zuleitungen und Verbindungselemente entworfen und hergestellt (siehe Abbildung 2). Die Herausforderung dabei bestand insbesondere darin, die nach unten aus der Ebene herausführenden Fluidanschlüsse mit möglichst geringer Bauhöhe (maximale Objektiv-Objekttisch-Distanz ca. 4 cm) mit der Peripherie zu verbinden. Bedingt durch die erschwerte Verfügbarkeit großer Mengen an Forisomen für die ersten Tests wurden Mikroorganismen eingesetzt, um die Biokompatibilität des mikrofluidischen Systems zu testen. Dazu wurden entsprechende Kulturen mit *Paramecium sp.* (Pantoffeltierchen) sowie verschiedenen anderen Protozoen und *Ciliaten* angelegt, gepflegt und auf ihre Verwendbarkeit geprüft. Die *Paramecien* erwiesen sich als sehr geeignet und wurden daher für die meisten Tests verwendet.

Einige der ersten mikrofluidischen Systeme wurden zusammen mit einer Mikroskophalterung und standardisierten Fluidkonnektoren für die Versuche mit Forisomen an die Kollegen des Projektpartners an der Universität Giessen übergeben. Dort wurden weitere Anpassungen der Systemhalterung an die jeweiligen Geräte bzw. Mikroskope vorgenommen.

2.1.2 stufenweise Systemintegration von Funktionsmodulen

Die Arbeitsschritte 2 und 3 waren technologisch eng miteinander und den anderen Arbeitspaketen verknüpft, so dass die Ergebnisse nur in ihrem Zusammenhang dargestellt werden können. Die Erfahrungen aus den ersten Versuchen wurden für weitere Anpassungen der Mikrofluidsysteme genutzt, indem gemeinsame Detailprobleme in der Einsatzroutine

identifiziert wurden. So enthielten die mit dem in Giessen entwickelten Verfahren aufgereinigten Forisom-Suspensionen noch andere Zellbestandteile und konnten nicht direkt für Tests mit den künstlichen Siebstrukturen verwendet werden. Schon nach einigen Sekunden waren die Siebelemente verstopft und damit unbrauchbar. Eine vorgeschaltete **Sortierstruktur** wurde in die neu entwickelten Strukturen integriert, die eine gezielte Separation der Forisome von anderen biogenen Bestandteilen bzw. Verunreinigungen ermöglichen sollte (siehe Abbildung 3). Ein zusätzlicher Anschluss am System wird dazu bis zu einer Abzweigung des Hauptstroms im System geführt. Kurze präzise Druckimpulse auf diesem Steuerkanal lenken die ausgewählten Partikel in den Seitenkanal. Der Hauptstrom kann dabei mehrfach an der Sortierkreuzung vorbeigeführt werden, um eine effektive iterative Aufreinigung zu gewährleisten. Dieses Verfahren arbeitet unabhängig von Größen- bzw. Dichteunterschieden der Objekte.

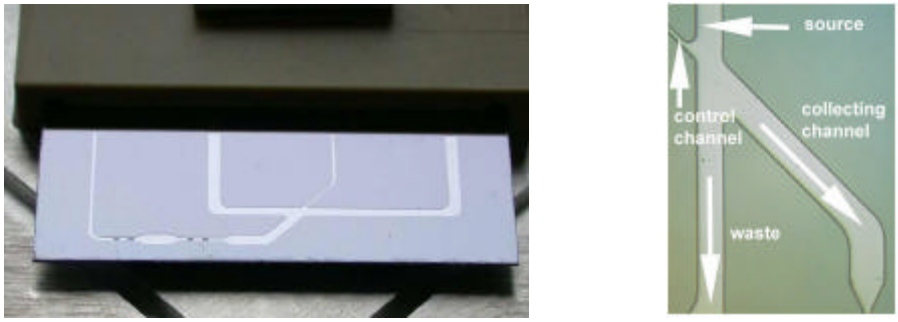

Abbildung 3 – System mit Sortierstruktur (links) und Funktionsprinzip (rechts)

Diese Mikrosysteme konnten im Lichtmikroskop erfolgreich getestet werden. Es wurden wiederum *Paramecien* als Modellobjekte verwendet (siehe Abbildung 4) weil anfangs noch große Schwierigkeiten beim Einbringen der Forisome in die Siebelemente bestanden.

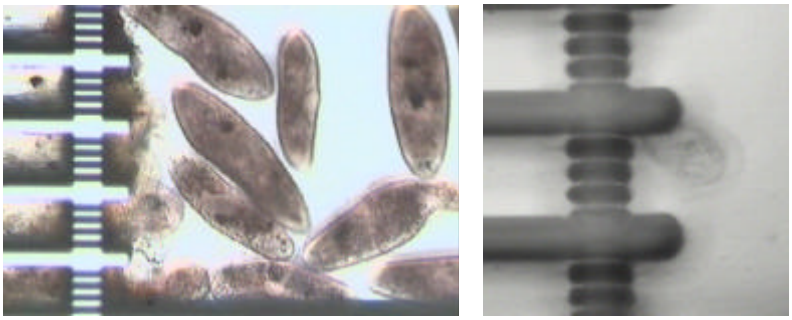

Abbildung 4 – Einzeller vor Siebelementen

Diese Erfahrung offenbart ein grundsätzliches Problem der Integration biogener Komponenten in Mikrosystemen. Einerseits erschwert zum Beispiel die Adhäsivität der biogenen Substanzen deren nachträgliche Infundierung über größere Wegstrecken (große Wandungsoberflächen). Andererseits ist die chemische und physikalische Stabilität von Biomaterialien nicht hinreichend, um im Vorlauf eines abschliessenden Aufbau- bzw.

Verbindungsschrittes (AVT) eingebracht zu werden (Prozessinkompatibilität zu Bonden, Kleben usw.).

Eine erste Lösung des Problems konnte mit Hilfe von seitlichen Zuführungen in der Nähe der Siebelemente erreicht werden (siehe Abbildung 5).

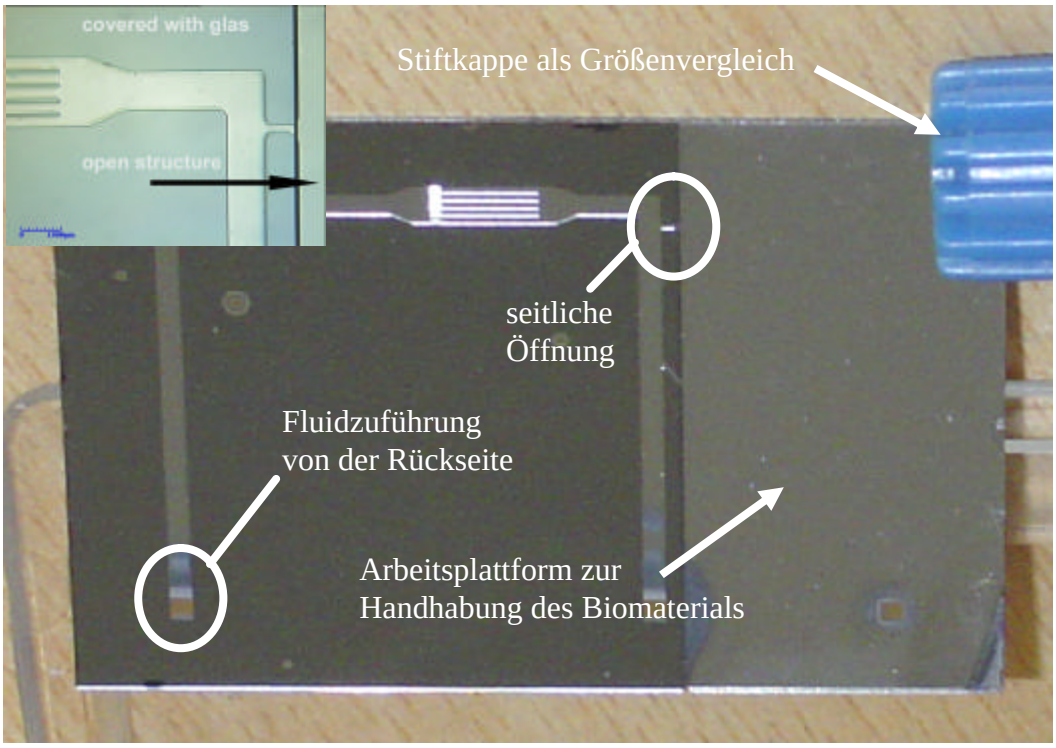

Abbildung 5 – Fluidsystem mit Siebstrukturen und seitlicher Befüllöffnung mit Arbeitsplattform

Durch diese Beschickungsöffnung konnten nun auch Forisome durch Zuhilfenahme von Mikromanipulatoren mit Kapillaren bzw. ähnlichen Instrumenten zugeführt werden (siehe Abbildung 6). Nach der Befüllung und dem Einbringen der Forisome bzw. Einzeller wurde der Zuführkanal mit einer biokompatiblen Verschlussmasse (Histofluid® bzw. medizintauglichem Silikon) abgedichtet.

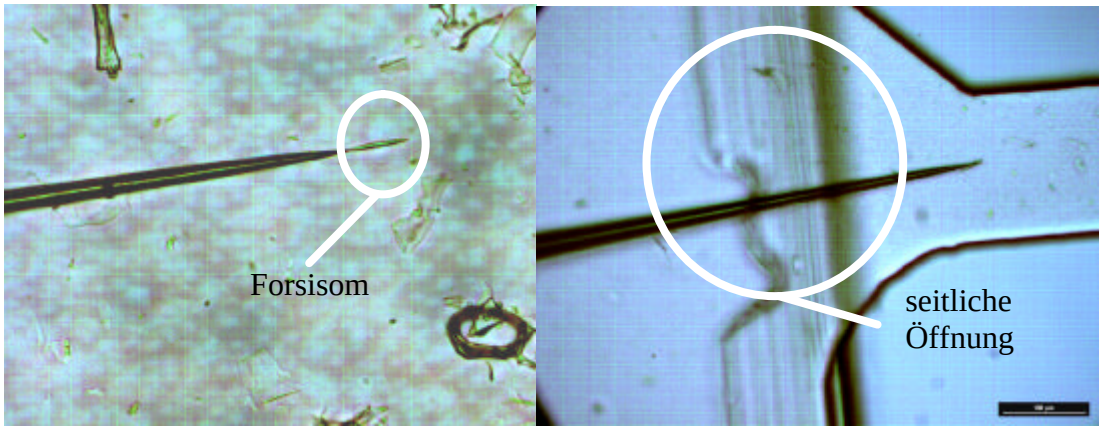

Abbildung 6 – Forisom an einer Manipulatorspitze im Auflichtmikroskop (links) und bei der Einbringung in eine Seitenöffnung eines Mikrofluidsystems

Die so hergestellten Elemente funktionierten sehr gut und wurden im Rahmen einer Diplomarbeit zur Lebenserhaltung von Rädertierchen (*Rotatoria*) über 24 h in einem Dauerversuch eingesetzt (siehe Abbildung 7). Deren physiologischer Zustand kann besonders gut anhand der Aktivität des „Räderorgans“ visuell ermittelt werden. Dazu wurden spezielle periphere Aufbauten hergestellt und aus Standard-Laborkomponenten zusammengestellt um die dauerhafte unterbrechungsfreie Medienversorgung zu gewährleisten.

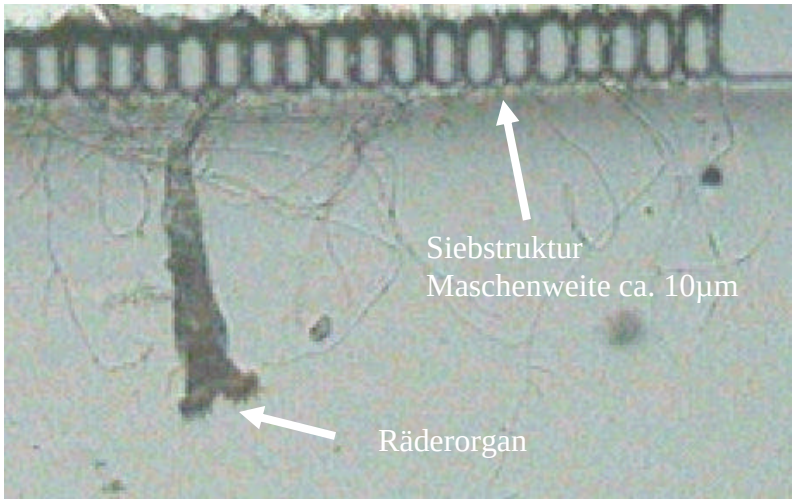

Abbildung 7 – Rädertierchen (vor einer Siebstruktur im Dauerversuch)

Zur Unterstützung der Kollegen der Partnerinstitute wurden weiterhin fluidische Strukturen mit Elektroden ausgestattet, um reproduzierbare Messbedingungen für die Beeinflussung der Forisome durch elektrische Felder zu erhalten. Der Betrieb von **Dünnschichtelektroden** birgt wiederum experimentelle Herausforderungen. Bei Elektrodenpotentialen über der Zersetzungsspannung von Wasser (über 1 Volt) kommt es zu einer Depolarisation der Elektroden in Folge einer inhibierenden Wasserstoffschicht bzw. bei der Verwendung unedlerer Metalle zu deren anodischer Zersetzung. Unter Berücksichtigung dieser Randbedingungen wurde eine Kombination aus einer ca. 20 nm dicken Chromschicht als Haftvermittler zum Siliziumsubstrat mit einer Auflage von ca. 200 – 300 nm Gold als eigentliches Elektrodenmaterial verwendet (siehe Abbildung 8).

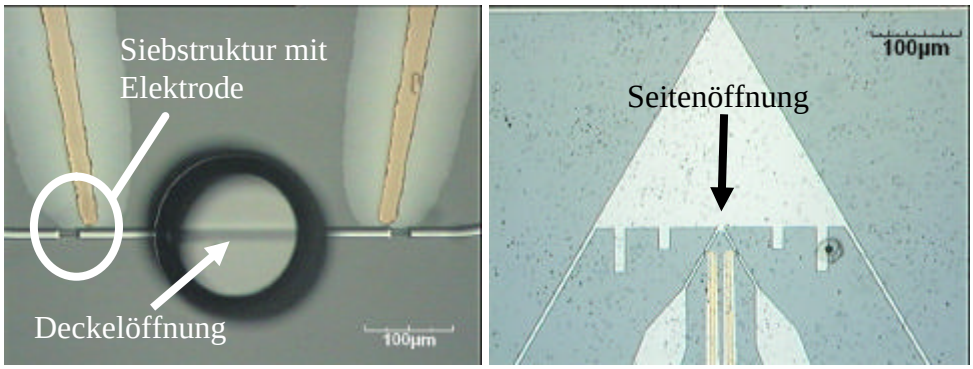

Abbildung 8 – Verschiedene Varianten der Elektroden für den unmittelbaren Kontakt mit dem Fluid

Die Systeme wurden im Labor in verschiedenen Situationen vermessen (trocken, direkt nach der Herstellung im Reinraum, trocken nach der Drahtbondung und im befülltem Zustand). Dabei konnte die Funktionsweise der Elektroden zweifelsfrei nachgewiesen werden. Zwar schwanken die Werte im trockenen Zustand, bedingt durch den Einfluss des anodischen Bondprozesses (siehe auch Abschnitt 2.1.7) auf die Metallisierung lokal über den Wafer verteilt (zwischen 2 und 30 kOhm), es kann in allen Fällen ein deutlicher Widerstandsabfall nach der Befüllung und damit ein direkter galvanischer Kontakt zwischen den Elektroden und dem Testmedium nachgewiesen werden. Es zeigte sich jedoch, dass die Systeme jeweils einzeln vor dem Einsatz vermessen werden müssen, um referenzierbare Ergebnisse in Experimenten mit Forisomen zu erlangen.

Ein weiteres funktionelles Modul ist die fein inkrementierte Zuführung der als Steuersignal wirkenden Me^{2+}-Ionen. Verfügbare Mikropumpen bzw. in der Entwicklung befindliche Förderprinzipien, die generell auf einer Volumenänderung einer Vorratskammer beruhen, sind für diesen Zwecke ungeeignet. Bezug nehmend auf das biologische Vorbild der Pflanzenzelle, die ihr inneres Milieu über den osmotischen Gradienten an der Zellwand einstellt, wurde nach Möglichkeiten gesucht, entsprechende Analoga zu schaffen. Standardverfahren zur Herstellung feinstporiger Trennwände (Elektronenstrahl-Strukturierung, Verwendung von Glasfritten, herkömmliche ionenpermittive Membranen usw.) sind prozess- bzw. systeminkompatibel. Eine Kombination aus nasschemischem Ätzen einer Membran in Silizium und selbstmaskierendem Trockenätzen der verbliebenen Membran schafft hinreichend feine Strukturen zum Einsatz als **Diffusor**.

Das in einem hinter der Membran befindlichen Fluidkanal geführte Trägermedium mit wechselnder Ionenkonzentration imitiert in erster Näherung die aktive Ioneneinschleusung in einer natürlichen Siebzelle. Obwohl diese Komponente noch nicht in ein funktionierendes Gesamtsystem integriert werden konnte, hat dieses monolithische Verfahren ein hohes Potential zur weiteren Komplettierung der künstlichen Siebzelle. Abbildung 9 zeigt die am Boden einer nasschemisch erzeugten Grube (KOH-Ätzen) befindliche, mit Poren versehene Siliziummembran. Die durch Selbstmaskierung beim Trockenätzen erzeugten Porengrößen liegen zwischen 100 und 400 nm und damit deutlich unter den Abmessungen der eigentlichen Siebstrukturen (2-5 µm).

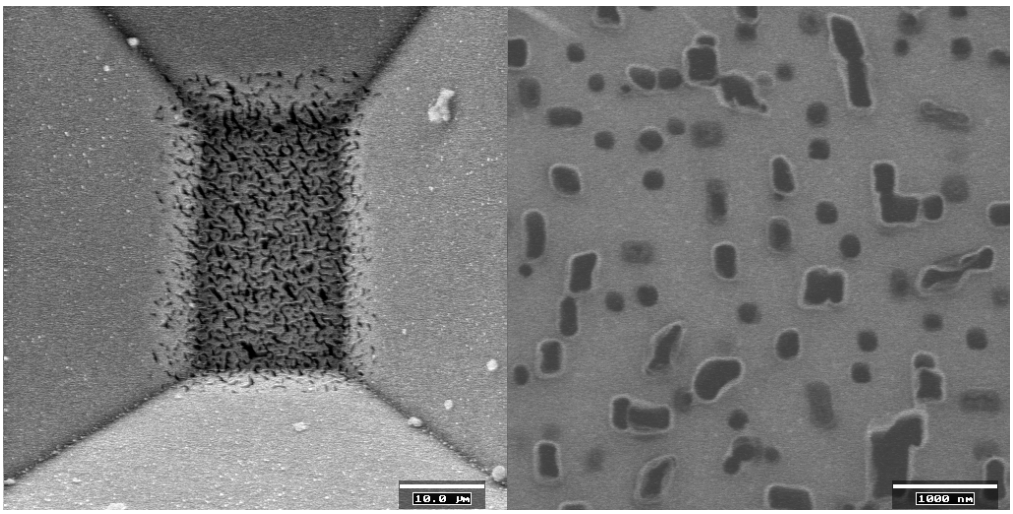

Abbildung 9 – vertikale Porenstruktur in einer Siliziummembran als Diffusor

Alle bis hierhin entwickelten Systeme können ohne Änderung der zentralen Herstellungstechnologien zusätzlich mit Heizelementen, Temperatursensoren usw. erweitert werden. Kompatible Prozesse liegen durch intensive Kooperation und Absprache mit anderen Forschungsprojekten vor. So können nach der Prozessierung der fluidischen Komponenten auf der Waferrückseite zwischen den Medienanschlüssen (Druchbrüchen) Metallisierungen bzw. Beschichtungen aus polykristallinem Silizium aufgebracht und strukturiert werden (siehe Abbildung 10).

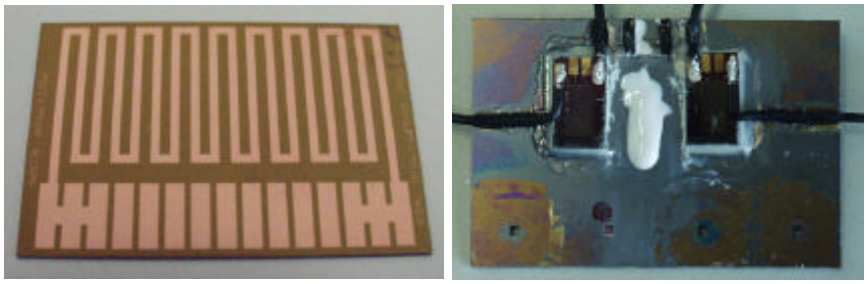

Abbildung 10 –Heizer mit integrierten Temperatursensoren auf der Rückseite von Fluidstrukturen (links: voll integriert; rechts: hybrider Aufbau mit poly-Si Elementen)

Eine mäanderförmige Struktur kann dabei einerseits als Heizelement verwendet werden oder andererseits einem speziell dimensionierten Widerstand von 100 Ohm (PT100-Element) direkt an herkömmliche Auswerteeinheiten von Temperaturmesssystemen angeschlossen werden.

2.1.3 Unterstützung der Partner bei der Planung und dem Aufbau von Testgeräten

In enger Absprache mit den Projektpartnern der anderen Teilprojekte wurden die künstlichen Siebzellen und Mikrofluidsysteme entwickelt. Der jeweilige Stand der Arbeiten folgte im Wesentlichen den aktuellen Ergebnissen der Arbeitsgruppe um Prof. van Bel in Giessen. Um die dort laufenden Arbeiten so effektiv wie möglich zu unterstützen, wurden jeweils geprüfte

Exemplare der fluidischen Mikrosysteme übergeben, um in Experimenten mit Forisomen auf ihre Eignung getestet zu werden. Zwei der Varianten sind in Abbildung 11 dargestellt.

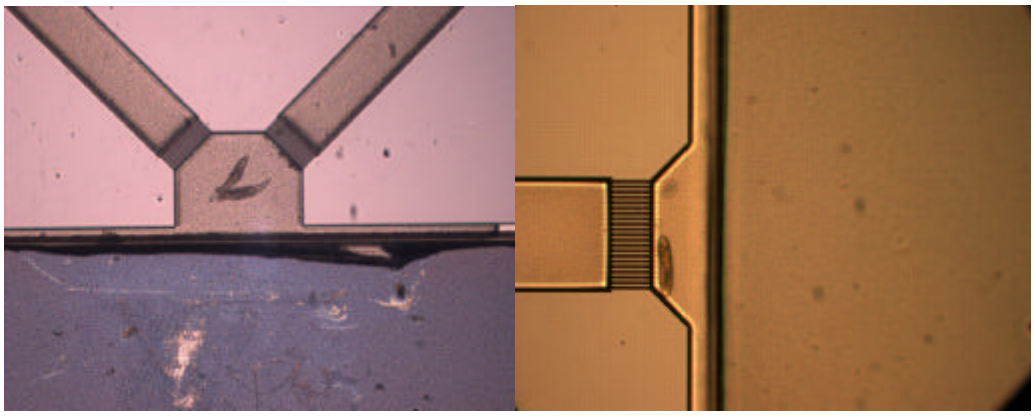

Abbildung 11 –Systeme mit seitlichem Orificium, Siebelementen und Ciliaten im Kulturmedium

Dabei konnte die generelle Biokompatibilität der hergestellten Systeme zumindest für Mikroorganismen und das Forisom-Substrat nachgewiesen werden. Darüber hinaus wurden auch technologische Hilfestellungen geleistet. Für die elektrochemischen Experimente wurden spezielle Kohlefasern mit einer dünnen Gold-Metallisierung überzogen. Dazu wurde eine Bedampfungsanlage modifiziert, um diese sehr dünnen, runden Strukturen allseitig beschichten zu können.

Ein wesentlicher Parameter der Forisome in ihrer Eigenschaft als Aktor in künstlichen Strukturen ist die erreichbare bzw. auskoppelbare Kraft. Erste Messungen erfolgten in der Arbeitsgruppe Giessen (Teilprojekt A) und lieferten näherungsweise Daten der Kräfte im nN-µN Bereich. Eine Verifizierung und qualitative Verbesserung der Messmethodik schien angezeigt und umsetzbar. Leider führten die Kraftmessungen an den Forisomen bisher zu keinen neuen signifikanten Ergebnissen. Die Messtechnik und Peripherie (siehe Abbildung 12), wurde im Rahmen des Projektes gemeinsam mit der Herstellerfirma (Tetra GmbH Ilmenau) angepasst und eingesetzt.

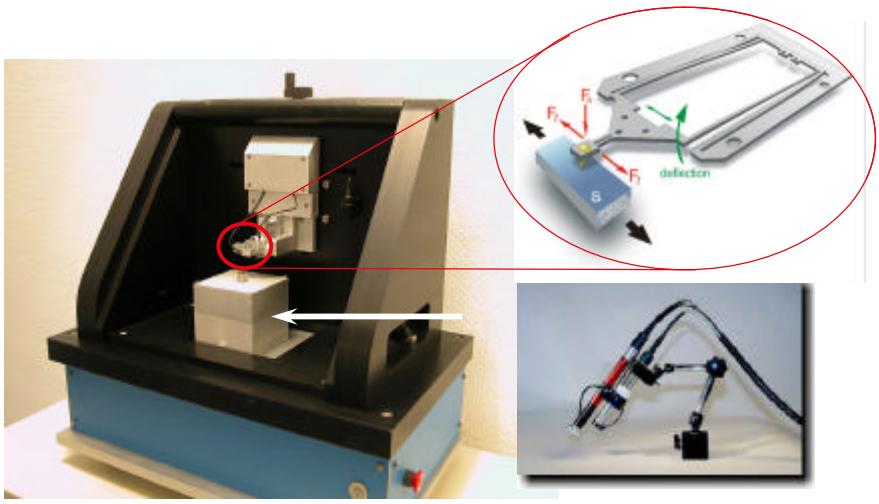

Abbildung 12 – Kraftmesseinrichtung mit Mikroskopzusatz zur exakten Positionierung der Proben

Parasitäre Effekte lassen eine Separation der effektiven Kräfte der Forisome gegenwärtig noch nicht zu. Die entwickelte Methodik und das Instrumentarium sind jedoch erstmals geeignet, entsprechenden Messungen realisieren zu können. Die durch Oberflächenspannung selbstverschliessenden Kavitäten eignen sich hervorragend zur lokalen Fixierung von biologischen Elementen (große Proteine wie das Forisom, Einzeller, Mehrzeller usw.). Mit einer Kraftmessonde, die motorisch an den entsprechenden Ort gebracht werden kann, sind damit automatische Messabläufe realisierbar (siehe Abbildung 13).

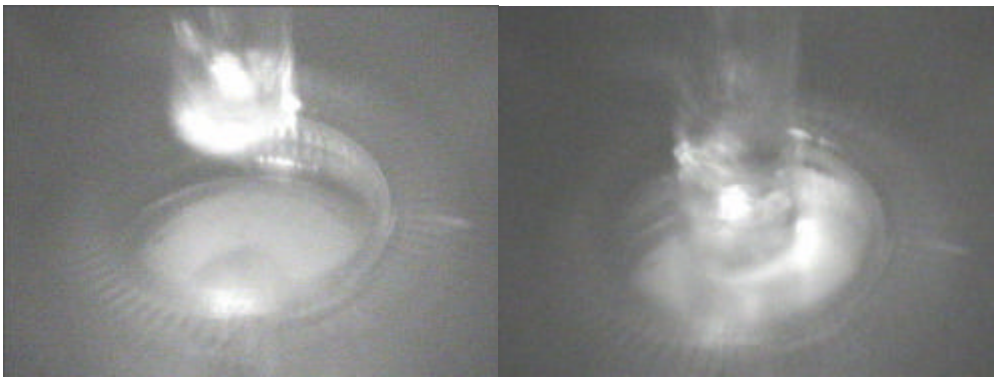

Abbildung 13 – Anordnung der Kraftmessung (li.: Sonde nähert sich der Kavität, re.: Sonde im Medium)

Obwohl Messungen in einer Mikrokavität störungsärmer als in einem Makrovolumen sind, bewirken interne Strömungen (thermisch, schwingungsangeregt) immer noch eine Verfälschung des Messignals die über dem Kraftbereich des Forisoms liegen. Weitere Arbeiten in dieser Richtung sind erforderlich und werden im Rahmen anderer Forschungsthemen weitergeführt. Dazu sind insbesondere Verbesserungen in der Messumgebung wie zum Beispiel hochgradige Schwingungsdämpfung und thermische Stabilisierung sowie eine angepasste Rauschfilterung in der Signalverarbeitung erforderlich.

2.1.4 Entwicklung von Prototypen für die Mikrofluidik

Nach einer gemeinsamen Zwischenauswertung der vorangegangenen Arbeitsphasen wurden die weiteren Schritte präzisiert und auf die Bedürfnisse der anderen Projektpartner abgestimmt. Anhand der oben beschriebenen, praxistauglichen Varianten wurden jene ausgewählt, die dem gemeinsamen Projektziel am nächsten kamen.

Diese Entscheidungen wurden in einem neuen Design und Entwurf umgesetzt. Die technologischen Abläufe wurden dabei so verändert, dass gleichzeitig Systeme mit lateralen und vertikalen Befüllöffnungen auf einem Wafer gemeinsam prozessiert werden konnten. (siehe auch 2.1.7).

Unter Ausnutzung der Spezifik der Mikrodimension wurde eine neue Lösung des Verschlussproblems der Befüllöffnung gefunden: ein offen bleibendes ***Orificium*** an der Grenze des Mikrosystems (Fläche oder Kante) wird durch die hier wirksame

Oberflächenspannung des Kulturmediums (in der Regel Wasser, bzw. wässrige Lösungen) hinreichend abgedichtet, dass sogar fluidstrombedingte Druckschwankungen ohne Leckage ausgeglichen werden – das System verschließt sich somit von selbst. Abbildung 14 zeigt das dabei zugrunde liegende Prinzip anhand der Übertragung der fluidischen Struktur in ein elektrisches Ersatzschaltbild sowie die möglichen Betriebszustände bei erträglichen Druckschwankungen. Wird zulässige Druckbereich unterschritten fällt die Kavität trocken bzw. das Medium fließt aus der Öffnung heraus bei einer Drucküberschreitung.

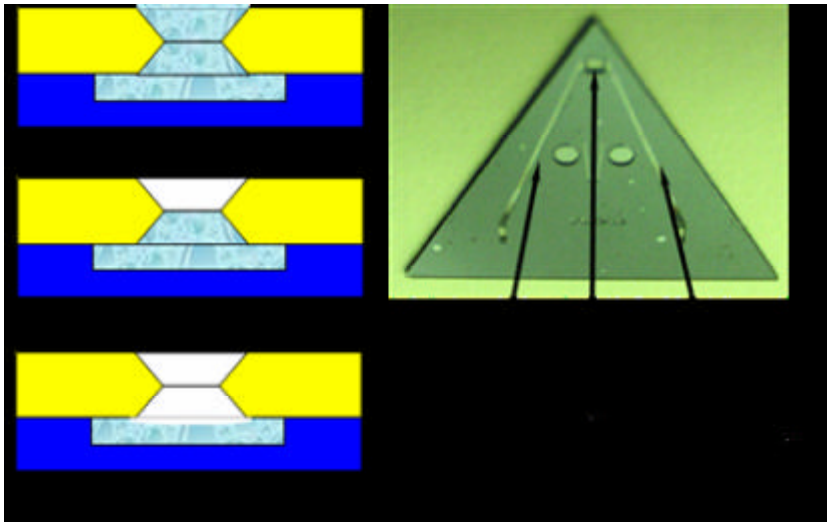

Abbildung 14 – Prinzip des selbstverschiessenden Fluidsystems (links: 3 mögliche Zustände im Betrieb; rechts: analytisches Modell und realisierte Stuktur)

Diese ersten so hergestellten Systeme (siehe Abbildung 15 und 16) wurden vor der Auslieferung auf ihre Befüllbarkeit getestet und die ersten Forisome konnten durch die Kollegen des Teilprojektes A in den Siebstrukturen während der Kontraktion beobachtet werden. Eine Nutzung der Forisome in Siliziumchips als Ventil ist damit möglich (siehe Abschlussbericht Teilprojekt A).

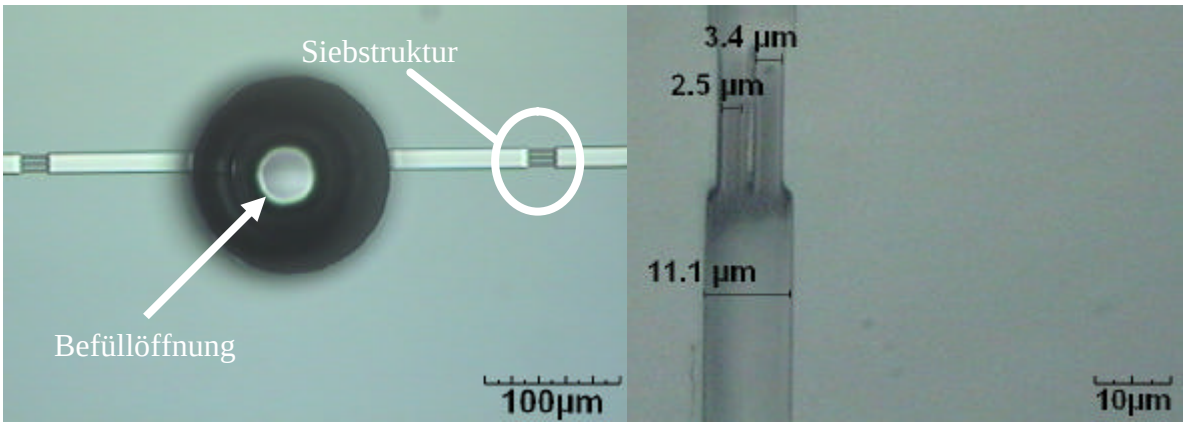

Abbildung 15 – Oben offene Struktur mit 3µm-Siebelementen (Gesamtansicht links; Siebdetails rechts)

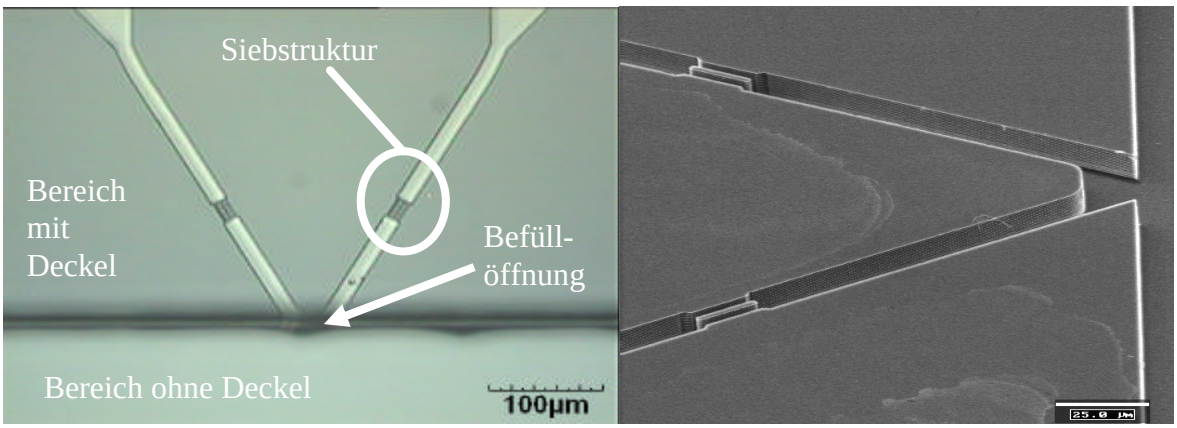

Abbildung 16 – Seitlich offene Struktur mit Siebelementen (Gesamtansicht links; Siebdetails rechts)

Dieser Effekt lässt sich verstärken, indem der Flüssigkeitsmeniskus durch eine Hydrophobisierung der Oberfläche des Deckels stabilisiert wird. In Abhängigkeit von der Größe der Befüllöffnungen (von ca. 50-100 µm Durchmesser), der Strukturgeometrie von Zuführungen und Kanälen und Peripherie ergaben sich zulässige Druckschwankungen von bis zu 0.2 bar.

Zudem ergibt sich hiermit die Möglichkeit, Volumenänderungen in der Kavität optisch zu beobachten bzw. quantitativ zu ermitteln. Moderne Bildverarbeitungssysteme können ohne großen Aufwand so eingesetzt werden, dass über die Ermittlung des Krümmungsradius eine hochempfindliche, indirekte Druckmessung erfolgen kann.

Auch die im Fachgebiet parallel zu den hier aufgetretenen Fragestellungen entwickelte, neuartige Bondtechnologie (STUBENRAUCH et al. J. of Micromechanics and Micro-engineering, 2006) kann einen wertvollen Beitrag zur Realisierung von Bio-MEMS mit biologischen Elementen leisten. Das Fügen mit Hilfe von Black Silicon ist eine völlig neue Methode zum Fügen von Siliziumelementen.

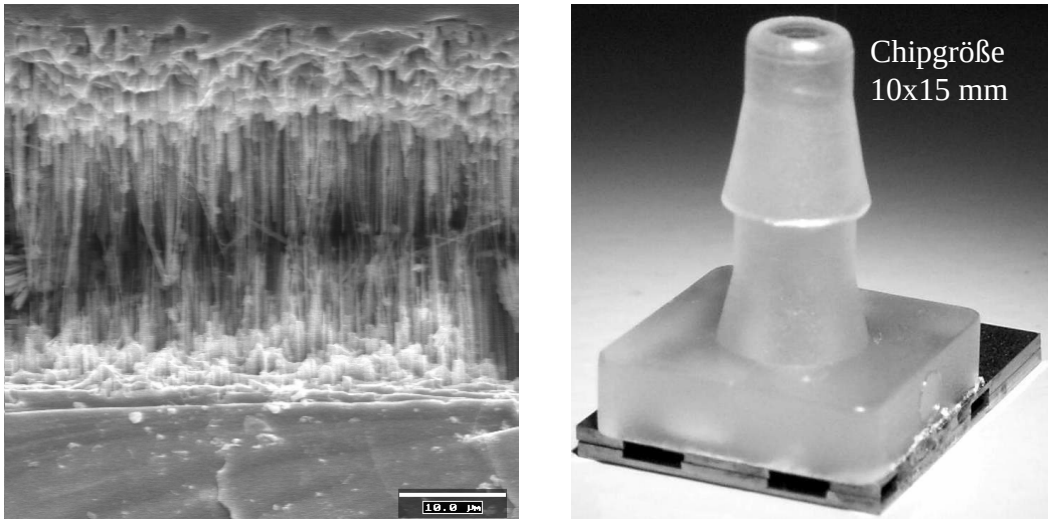

Abbildung 17 – Fügen mit Black Silicon (links: Detail der nanostrukturierten Oberflächen im Eingriff; rechts: fluidischer Chip aus 2 Ebenen mit aufgesetzten externen Verbinder)

Dabei dringen nanostrukturierte (stark aufgeraute) Oberflächen ineinander, verhaken sich und führen zu einer stabilen und fluiddichten Verbindung der Bauteile bzw. Wafer („Silizium-Klettverschluss“). Die Dichtheit der Systeme wird über die extrem hohen Kapillarkräfte in den Zwischenräumen der nadelartigen Strukturen erreicht (siehe Abbildung 17). Für zukünftige Applikationen bei denen eine permanente Beobachtung durch einen transparenten Deckel nicht mehr erforderlich ist, wird dieses Verfahren der AVT eine kommerzielle Serienfertigung von Bio-MEMS ermöglichen, da dieses Prinzip die vor dem Fügeschritt eingebrachten biogenen Strukturen weder physikalisch noch chemisch belastet.

Einen ersten Demonstrator für die Leistungsfähigkeit der hier entwickelten Siebzellen stellt die Anordnung in Abbildung 18 dar.

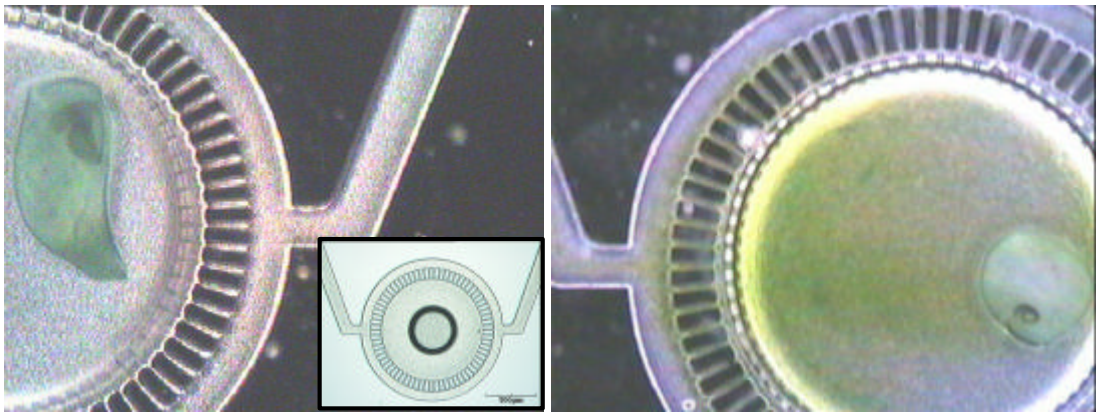

Abbildung 18 – Funktionstest (links: *Stentor* in einer Kavität, Einschub zeigt ein ungefülltes System; rechts: Farbstoffverteilung zeigt einen diffusionsdominierten Medienaustausch)

Es handelt sich um eine radiale Anordnung von Siebstrukturen mit einem peripheren Medienzufluss als Ringkanal. Damit wird eine optimale Medienzufuhr ohne stömungsbedingte Störung des in der Kavität eingeschlossenen Untersuchungsobjektes gewährleistet, wie die ausgestreckte Zellkontur des *Stentor* in der Abbildung 18 links zeigt. In einem solchen Versuchsaufbau wurden verschiedene, auch vielzellige Organismen über einen Zeitraum von mehr als 72 Stunden vital gehalten und beobachtet (siehe Abbildung 19).

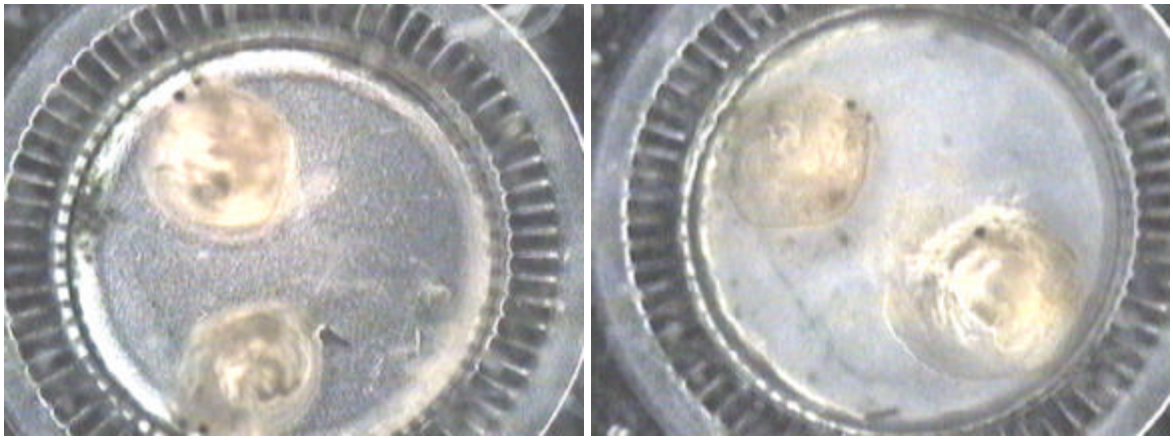

Abbildung 19 – Dauerfunktionstest mit Kleinkrebsen (links: nach 2 h; rechts: nach 72 h)

2.1.5 Tests zur Stabilität und Lebenszeit der Proteine

Parallel zu den Arbeiten der Arbeitsgruppe des Teilprojektes A an der Uni Giessen wurden in Ilmenau anhand der entwickelten Verfahrensweise *Vicia faba* -Kulturen angelegt und nach ihrer Wachstumsperiode verarbeitet (siehe Abbildung 20, links). Die Pflanzen konnten problemlos nach Anleitung durch die Kollegen in Giessen angebaut und die darin enthaltenen Forisome durch einfache Aufreinigung ohne Ultrazentrifuge gewonnen werden.

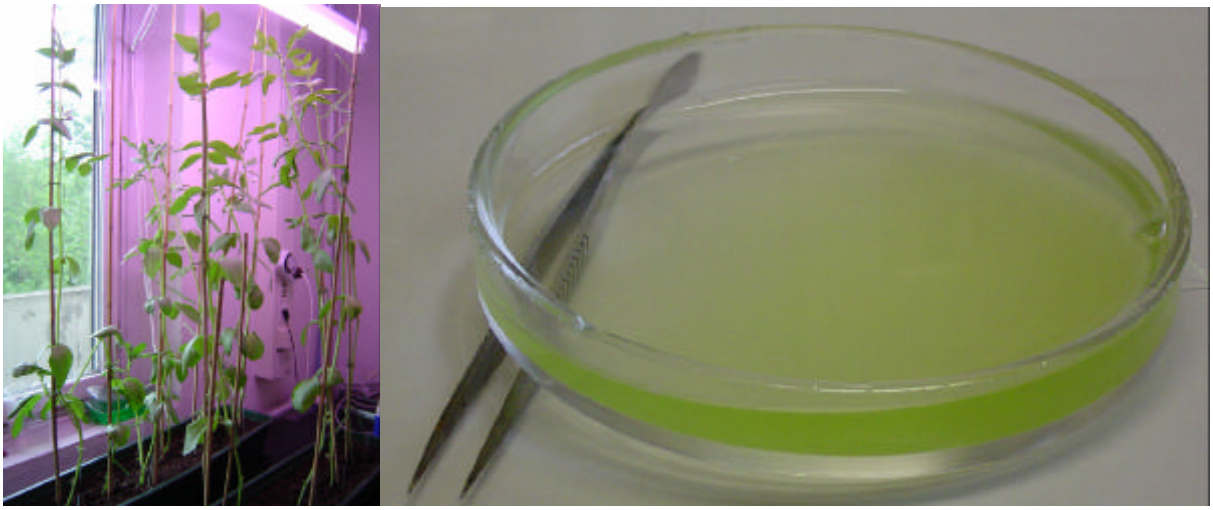

Abbildung 20 – Vicia faba Pflanzen (links) und aufgereinigtes Material in einer Petrischale (rechts)

Die in der so hergestellten Suspension enthaltenen Forisome (siehe Abbildung 20, rechts) wurden in einigen Experimenten direkt verwendet und der Rest in flüssigem Stickstoff (bei ca.-190°C) über Zeiträume von bis zu 3 Monaten aufbewahrt. Dabei wurde festgestellt, dass sich diese Aufbewahrungsmethode nur bedingt für die Langzeitlagerung eignete. Nach dem Auftauen und mikroskopischer Kontrolle erwiesen sich die so behandelten Proben nicht mehr als langzeitaktiv. Sie waren jeweils nur kurze Zeit (1-2 Stunden) in Funktion zu beobachten. Ursache hierfür können die Auftaubedingungen sein, die in der Molekülstruktur Veränderungen hervorriefen. Erfahrungen in der Kryobiologie besagen, dass das Temperatur-Zeit-Regime einen entscheidenenden Einfluss auf die biologische Struktur ausübt. Bei minimalen Abweichungen werden massive und nicht reproduzierbare Veränderungen hervorgerufen.

In biologisch orientierten Einrichtungen (wie zum Beispiel der Arbeitsgruppe der Universität Giessen, Bontanik I) werden Proben in Trockeneis (ca. -80°C) bzw. speziellen Kühlschränken gelagert und nach Erfahrungswerten aufgetaut. Die dort gewonnenen Ergebnisse sind nicht ohne zeitaufwändige Versuchsreihen auf technologisch orientierte Einrichtungen wie dem Zentrum für Mikro- und Nanotechnologien zu übertragen.

Die erzielte Lebensdauer der in Ilmenau gewonnenen Proben war für die durchzuführenden Versuche jedoch hinreichend. Die weiteren Testreihen mit Forisomen wurden der erfahrenen Arbeitsgruppe in Giessen (Teilprojekt A) überlassen.

2.1.6 Recherche nach Anwendungen und Partnern

Die verschiedenen Publikationen und Präsentationen von Ergebnissen auf Konferenzen und Workshops sowie die Organisation des eigenen Workshops zu Projektbeginn führte zu einer Reihe von interessanten Kontakten die im Verlauf des Projektes intensiviert wurden. Abbildung 21 zeigt eine Übersicht der anvisierten Applikationsfelder.

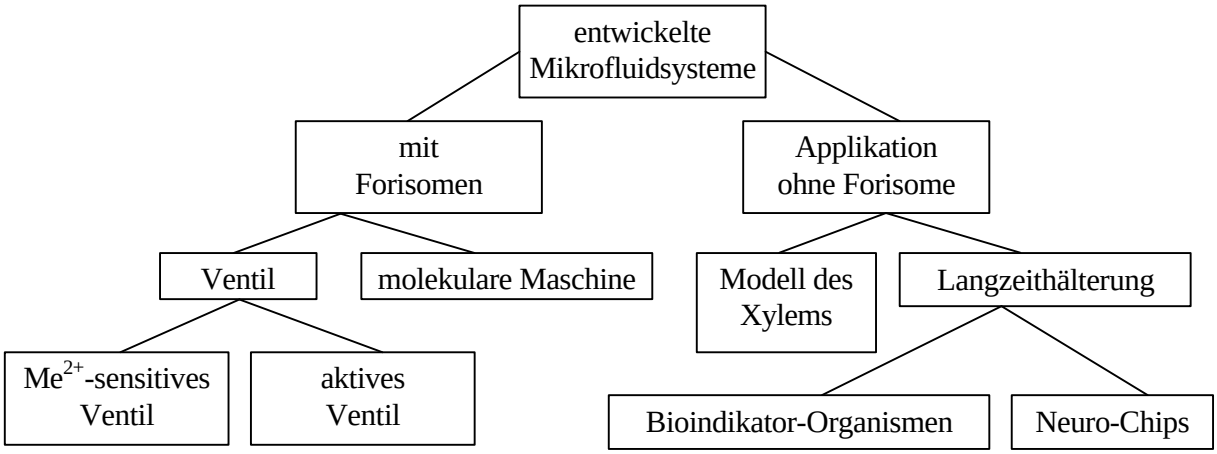

Abbildung 21 – mögliche Anwendungen der entstandenen Systeme und deren Anwender

Da mit Hilfe der Arbeitsgruppe von Prof. van Bel (Teilprojekt A) der Funktionsnachweis des Forisoms in einer künstlichen Siebzelle erbracht werden konnte, können Folgeprojekte für komplexe Bio-MEMS mit integrierten Ventilen auf den hier erarbeiteten Grundlagen aufbauen. Da neben dem Ca^{2+}-Ion auch andere Metallionen eine Reaktion der Forisome auslösen, liegt ein Ventil oder eine Ventilkaskade, die bei Erreichen einer toxischen Konzentration selbständig sperren, als Schutzelement in Mikrosystemen auf der Hand.

Die Arbeitsgruppe von Prof. Labeit (Experimentelle Medizin, Uni Heidelberg) beschäftigt sich mit anderen Gruppen von Gigantomolekülen (Titin-Proteine, ähnlich dem Forisom als Molekülaggregat). Diese in Muskelzellen gefundenen Titin-Proteine haben nachgewiesenermaßen ausgeprägte Federeigenschaften. In Kombination mit den in der Arbeitsgruppe von Prof. Unger (IMB, Jena) erforschten Kinesin-Molekülen und dem Forisom-Ventil ergibt sich die Möglichkeit einer gesteuerten molekularen Maschine (siehe Abbildung 22).

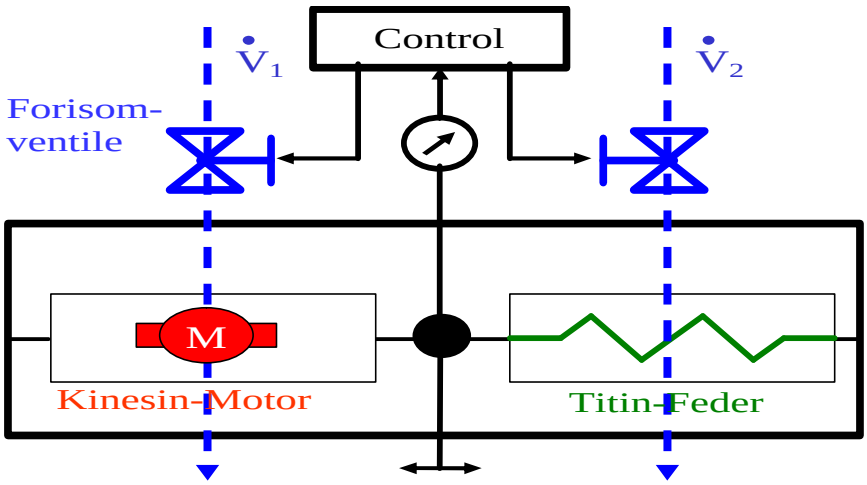

Abbildung 22 – Modellvorstellung einer molekularen Maschine (Grafik H. Witte)

Eine andere interessante Anwendung der entwickelten mikrofluidischen Systeme ergibt sich im Zusammenhang mit dem Xylem (dem anderen Flüssigkeits-Leitsystem in Pflanzen). Frau Dr. Roth-Nebelsick (Institut für Geowissenschaften, Uni Tübingen) beschäftigt sich mit der Fluiddynamik in Sprosspflanzen. Eine zentrale, bisher noch nicht gelöste Fragestellung ist dabei der kavitationsfreie Wassertransport bei Pflanzen von über 10 m Wuchshöhe. Eine Abwandlung der hier entstandenen mikrofluidischen Systeme könnte ein mögliches Funktionsanalogon darstellen.

In Kontakt mit Wissenschaftlern aus dem Bereich der Neurohybridtechnik an der RWTH Aachen (PD Dr. Harald Luksch) wurde uns nach Präsentation von den entwickelten Fluidstrukturen ein grundsätzlicher Bedarf bestätigt, Nervenzellen (*Neuroblasten*) über lange Zeiträume auf Siliziumchips zu kultivieren. Eine Kombination von Neurochips mit künstlichen Siebzellen eröffnet die Möglichkeit, das Milieu der aufwachsenden *Neuroblasten* einstellen zu können.

Ein erster industrieller Interessent ist die Firma -4H- Jena Engineering GmbH, die unter anderem Wasserüberwachungssysteme z.B. von Trinkwasser entwickelt und vertreibt. Eine automatisierte Beobachtung von Kleinstorganismen in eng umgrenzten Kavitäten stellt eine realistische Möglichkeit dar, ein multifaktorielles Monitoring der Wasserqualität durchzuführen (siehe Abbildung 23).

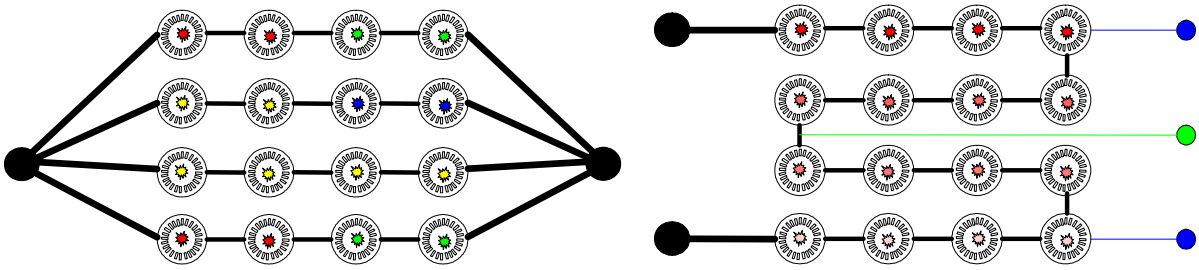

Abbildung 23: Schemata kaskadierter Siebzellen mit kombinatorischer Fluidlogik

Unsere Recherchen ergaben einen Bedarf an innovativen Verfahren der Bio-Indikation ergänzend zu den vom Gesetzgeber geforderten *Scenedesmos*- und *Daphnia*- Tests. Ein Projektantrag mit dem Ziel einer gemeinsamen Entwicklung in dieser Richtung ist bereits fertiggestellt.

Weitere industrielle Kontakte bzw. Anwender konnten bisher nicht gefunden bzw. identifiziert werden, da sich alle Arbeiten bzw. Teilergebnisse noch im Stadium der Grundlagenforschung befinden und damit noch keine hinreichende Anwendungsrelevanz belegt werden kann. Nachfolgeprojekte und weiterführende Arbeiten werden diesen Zustand jedoch in Kürze erreichen und damit eine Fortschreibung der gewonnenen Erkenntnisse sicherstellen.

2.1.7 Fabrikation und Test der Mikrofluidsysteme

Während der Projektlaufzeit wurden 12 verschiedene Systemdesigns und Entwürfe erstellt, die entsprechenden technologischen Durchläufe geplant und durchgeführt. Die Ergebnisse der Technologie wurden ausgewertet und die technologische Kette jeweils daran optimiert. Begonnen wurde mit dem Entwurf und der Herstellung geschlossener, mikrofluidischer Systeme mit und ohne Glasdeckel (siehe Abbildung 24). Sämtliche hier gezeigten Pläne sind stark vereinfachte und auf die wesentlichen Inhalte fokussierte Schemata der Prozessfolgen. In der Regel sind zwischen 20 und 40 einzelne Schritte erforderlich, um ein funktionsfähiges Mikrofluidsystem herzustellen.

Die Farbe der Elemente zeigt das Material an (Silizium, Pyrex®-Glas, Oxid, Metall)

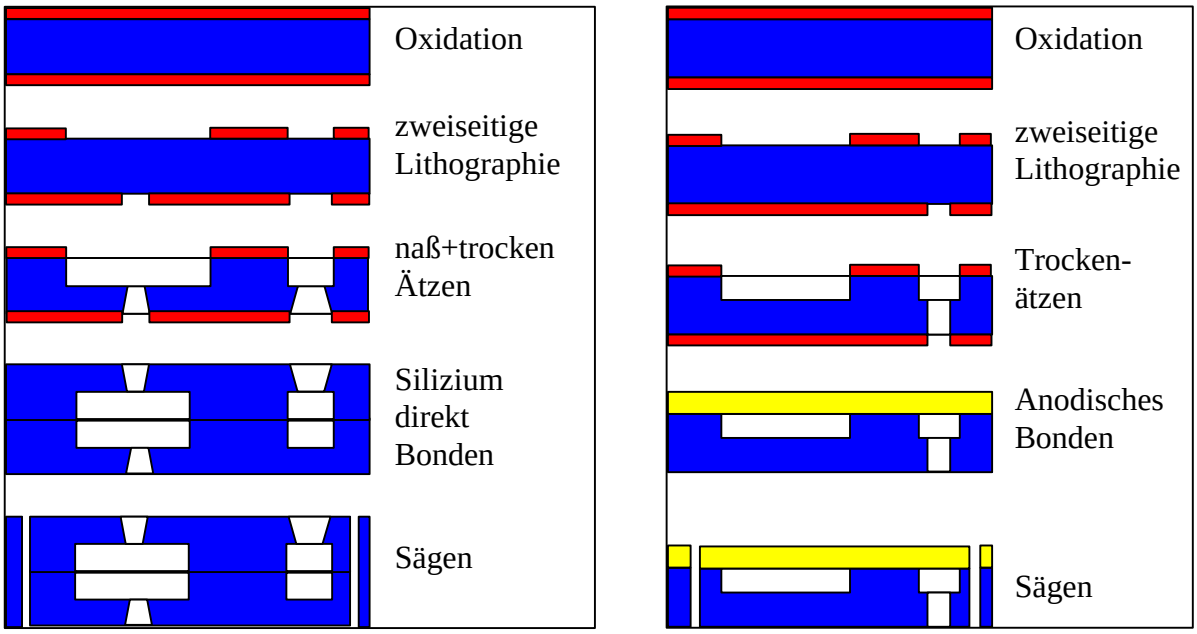

Abbildung 24 – Vereinfachter technologischer Ablauf zur Herstellung einfacher Mikrofluidsysteme (links: komplett aus Silizium; rechts: mit anodisch gebondetem Glasdeckel)

Die besondere Herausforderung dabei war die Integration der feinen Siebstrukturen. Es waren besondere Reinigungsschritte und große Sorgfalt bei der Prozessierung erforderlich, um eine hochpräzise Lithographie mit Strukturbreiten von 1 µm zu erreichen. Bei den Systemen für den Forisom-Einsatz sind die Kanalbreiten zwischen 10 und 13 µm groß, die Abstände in den Siebstrukturen etwa 1.5 – 2.5 µm. Dazu sind normalerweise Kontaktbelichtungen mit Kieselglasmasken notwendig. In enger Kooperation mit einem regionalen Maskenhersteller wurde eine modifizierte Maskentechnik (normale Borosilikatträger mit hochauflösenden Bereichen) entwickelt. Dadurch wurden eine große Flexibilität erreicht und zusätzlich Kosten für Masken eingespart. Auch eine mehrstufige Lithographie wurde versucht. Dabei wurden zuerst die hochpräzisen Siebstrukturen übertragen und im Nachgang die Anschlusskanäle und alle anderen Strukturen mit Hilfe einer kostengünstigen Folienmaskierung eingeprägt. Jedoch konnten damit keine ausreichenden Qualitäten erreicht werden.

Eine Anpassung der Technologie wurde auch für den Einbau der Elektroden in das System notwendig. Abbildung 25 zeigt zwei Varianten der Elektrodenintegration.

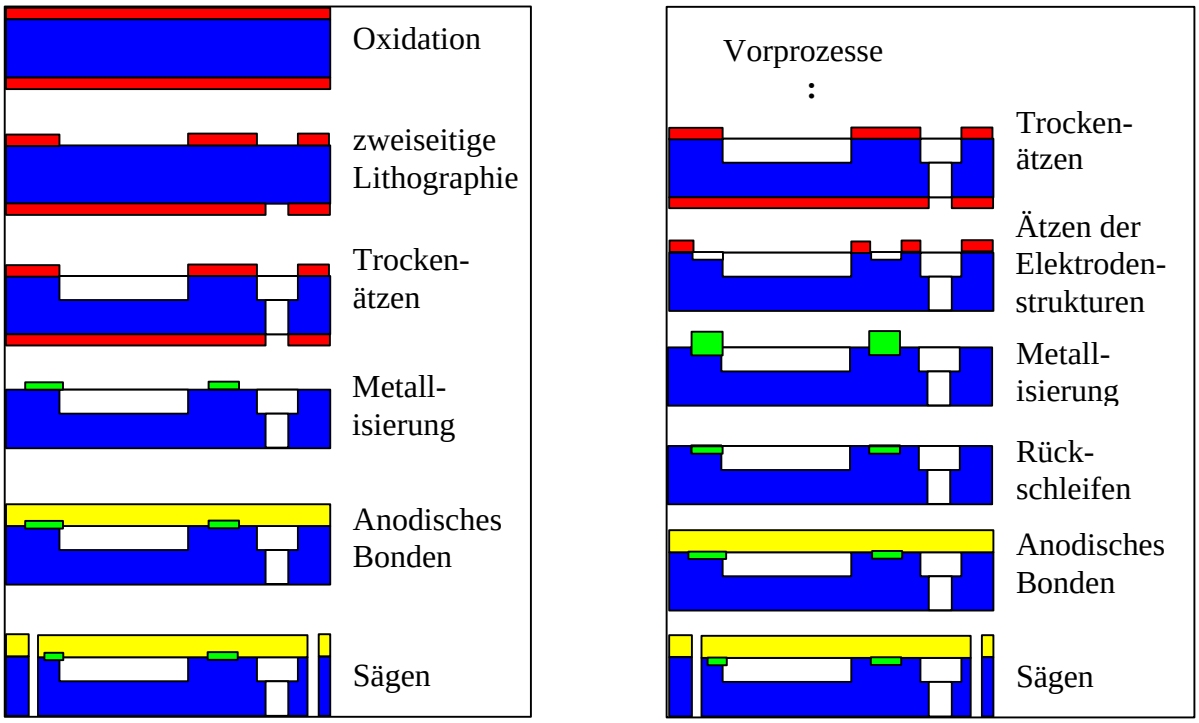

Abbildung 25 – Integration von Elektroden (links: einfach; rechts: vergrabene Elektroden)

Die einfache Variante ist schnell und kostengünstig zu realisieren, birgt jedoch große Schwierigkeiten beim anodischen Bonden. Es müssen sehr dünne Metallisierungsschichten verwendet werden (wenige nm), um den Bondprozess zu gewährleisten. Die Bondfront zieht sich während des Prozesses langsam an die Elektrodenstrukturen heran und verspannt dabei den Glasdeckel. Es bleiben beidseits der Elektroden Bereich bestehen, in denen der Deckel nicht mit dem Substrat verbunden ist (Lücken in Höhe der Metallisierung, ca. 50-100 nm). In

diese Zwischenräume dringt beim Befüllen Medium ein und führt damit zu einer großen nicht reproduzierbaren Kontaktfläche. Dies ist bei einigen Experimenten hilfreich, da eine bessere galvanische Ankopplung zum Medium/Bio-Element erzielt wird. Für einen definierten Kontakt zwischen Elektrode und Medium müssen die Elektroden jedoch in der Oberfläche des Wafers vergraben werden. Der Ablauf wird dadurch wesentlich komplexer und anfälliger für Störungen und Fehler. Besonders das Rückschleifen der Oberfläche mit einer zum Bonden geeigneten Qualität stellt extrem hohe Ansprüche an die Prozessführung. An der vollständigen Umsetzung und Integration dieser speziellen Technologievariante in die Bio-MEMS wird derzeit noch gearbeitet.

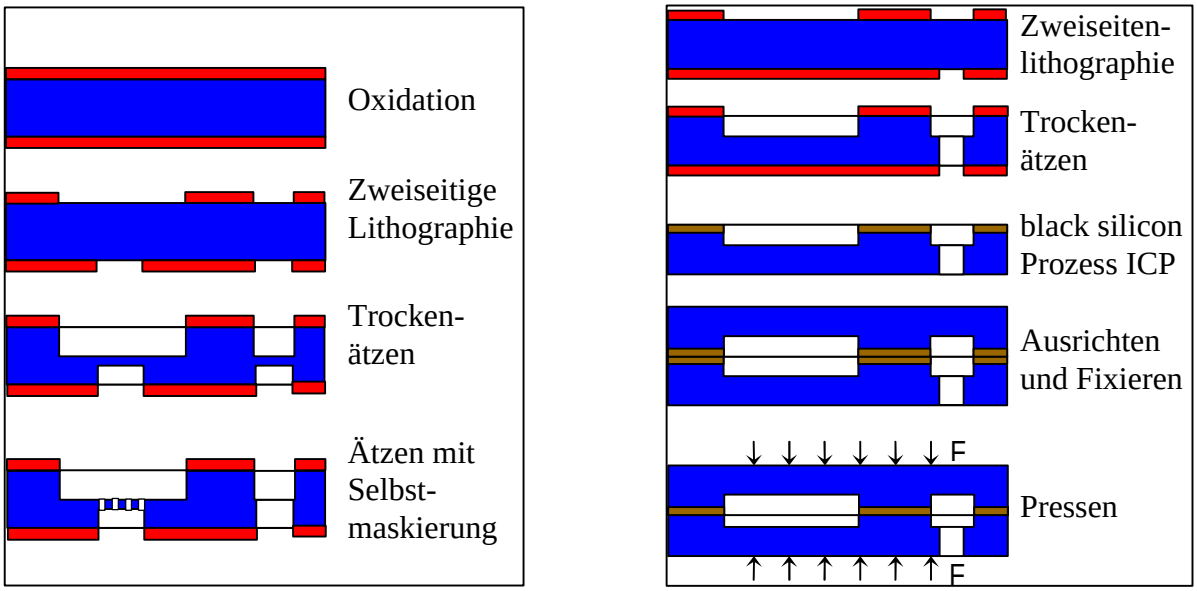

Abbildung 26 – Prozessketten mit selbstmaskiertem Trockenätzen (links: Erzeugung von porösen Elementen/Diffusoren in einer Membran; rechts: Nanostrukturierung von Fügeflächen)

Die Herstellung der Diffusoren (poröse Membranstrukturen) sowie der nanostrukturierten Oberflächen zum Fügen mit „Black Silicon“ wurden mit einem in Ilmenau entwickelten Trockenätzprozess mit Selbstmaskierung durchgeführt. Dabei entstehen nadelartige Aufrauungen der einkristallinen Siliziumoberfläche mit Durchmessern von einigen 100 nm und Längen von 10-25 µm. Dieser Prozess wurde hier erstmals an fluidischen Elementen erfolgreich eingesetzt.

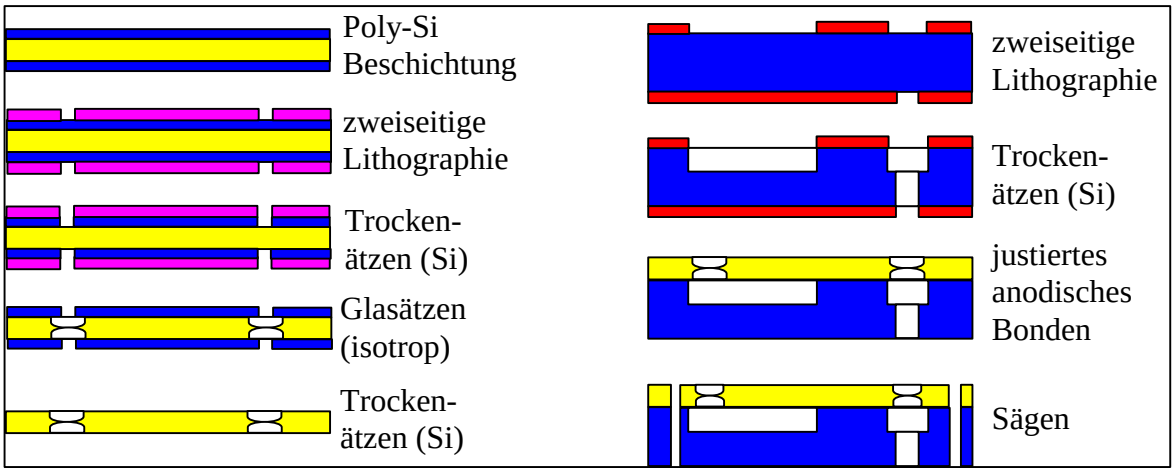

Abbildung 27 – Ablaufplan für Systeme mit strukturiertem Glasdeckel

Für die Elemente mit Öffnungen im Glasdeckel waren umfangreiche Modifikationen der bestehenden Abläufe und Anlagen (Bondtool, Hilfswerkzeuge) notwendig. Abbildung 27 zeigt den hierfür erfolgreich etablierten technologischen Ablaufplan. Die Herstellung der strukturierten Glasdeckel musste dazu in mehreren Iterationsschritten erprobt und evaluiert werden. Dazu zählten die Optimierung der Beschichtung mit polykristallinem Silizium sowie das Strukturieren dieser Schicht als Ätzmaskierung für das isotrope Glasätzen mit Flusssäure. Die Ausrichtung beim Bonden muss mit einer Genauigkeit von besser 2 µm erfolgen, um mit den Öffnungen die Kanäle (11-15 µm breit) auch genau zu treffen. Dazu wurde ein Mask-Aligner eingesetzt, mit dem normalerweise die Lithographieprozesse durchgeführt werden. So konnten unter Kamera-Beobachtung Justiermarken des Glasdeckels mit Strukturen auf dem Siliziumwafer in Deckung gebracht und der Waferverbund innerhalb einer speziellen Vorrichtung in der Maschine fixiert werden. Dieses Bond-Tool mit fixiertem Stapel aus Fluidwafer und Deckel wurde anschließend in die Maschine zum anodischen Bonden überführt.

Auch für die Vereinzelung der Systeme aus dem Waferverbund wurden neue Abläufe und Varianten entwickelt. Die geschlossenen Fluidsysteme wurden in der ersten Variante (Abbildung 28, links) in einer zweistufigen Abfolge jeweils komplett durch Deckel und Boden gesägt. Bei den fortgeschrittenen Strukturen der Endphase des Projektes (Abbildung 28, rechts) wurde jeweils zuerst der Glasdeckel an den Stellen der späteren Seitenöffnungen bis auf 90% seiner Dicke durchgesägt (Abbildung 28, rechts A). Beim weiteren Trennen der Bauteile (Schnitte B und C) entstehen dann die dreieckigen Systeme, wobei durch die Schwingungen während des Trennvorganges die vorgesägten Deckelelemente für die Seitenöffnungen automatisch abbrechen. Mit dieser Technologie können in einer Aufspannung eine große Anzahl dicht gepackter Systeme (24 Stück pro Wafer) hergestellt und vereinzelt werden.

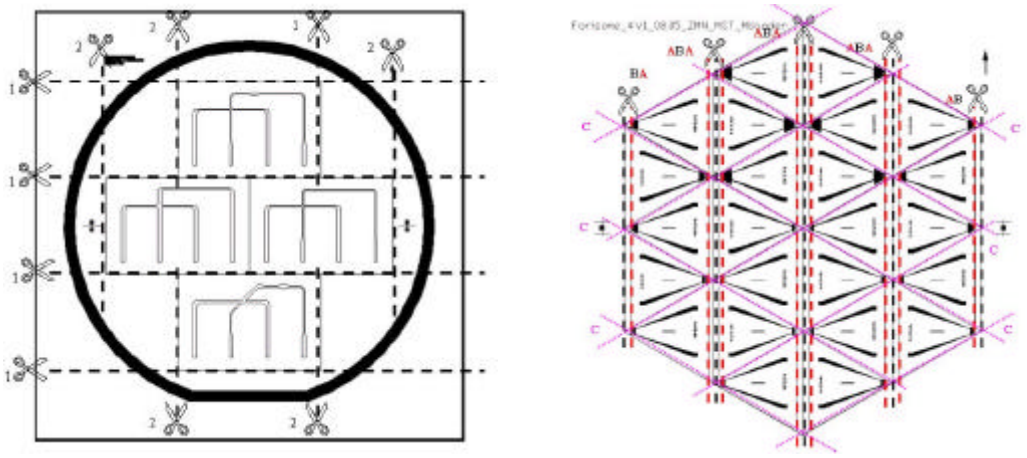

Abbildung 28 – Sägepläne (links: einfach, zweistufig; rechts: komplex, dreistufig)

Nach dem Sägen wurden die vereinzelten Elemente in mehreren Schritten unter Ultraschalleinwirkung gespült, um die durch den Trennschleifvorgang erzeugten Partikel vollständig zu entfernen und ein Eindringen in die Kanäle bzw. Siebstrukturen zu verhindern. Ebenso wurde eine staub- und partikelfreie Verpackung gewählt, um auch beim Versand bzw. der Lagerung eine Beeinträchtigung der Funktionalität auszuschliessen.

Da es sich bei den vorliegenden mikrofluidischen Systemen nicht um billige Wegwerfartikel einer Massenproduktion handelt, wurden auch entsprechende Reinigungungsprozeduren entwickelt. Dazu wurden bestehende Erfahrungen beim Waferreinigen auf die Anforderungen zur Biokompatibilität übertragen. Gebrauchte Systeme wurden mit einer Abfolge aus Sauerstoffplasma (trockenchemisch), nasschemischen Prozessen (NH_4OH : H_2O_2 : H_2O; HCl : H_2O_2 : H_2O und ausgiebiges Spülen, bzw. Schwefelsäure mit H_2O_2) behandelt. Bei mäßigen Verschmutzungen konnten damit gute Resultate erzielt werden. Waren die Kanäle jedoch durch Verunreinigungen oder Ablagerungen vollkommen verstopft, gab es in der Regel keine Möglichkeit der Regenerierung. Die Glasdeckel wurden Lösungsmitteln (Aceton, Isopropanol) behandelt und anschließend gründlich abgespült. Dabei war stets auf eine vorherige Befüllung der Kavitäten mit DI-Wasser zu achten um ein Eindringen der Lösungsmittel in die Fluidkanäle weitestgehend zu verhindern.

Der Test der Systeme nach der Herstellung erfolgte stufenweise sowohl als Vergleich mit den vom Entwurf vorgegebenen Erwartungswerten, als auch durch funktionelle Tests wie Befüllung, Biokompatibilität und Einsatzfähigkeit (siehe auch Abschnitt 2.1.1 bis 2.1.4).

2.1.8 Zusammenfassung

Es wurden mehrere mikrofluidische Systeme (Bio-MEMS) bzw. Befüllvarianten entwickelt, die die Parameterbereiche miniaturisierter Fluidsysteme im Bereich der Zellbiologie, Biochemie und Pharmakologie wesentlich erweitern können. Insbesondere das Hältern und Kultivieren von Biomaterialien über längere Zeiträume unter kontrollierten Bedingungen und

mit permanenter Beobachtungs- und Manipulationsmöglichkeit stellen eine völlig neue Art von mikrofluidischen Systemen dar.

Die technische Realisierung biologischer Funktionsprinzipien beruht auf Umsetzung deren komplexer Struktur. Besonders in diesem Projekt zeigt sich die vielfältige technologische Herausforderung, Einzelkomponenten wie zum Beispiel feinste Kanäle, Siebstrukturen, Diffusoren, Selektoren, Befüllöffnungen und Verbindungselemente sowie verschiedene Sensoren in ein funktionsgerechtes Gesamtsystem vollständig zu integrieren. Bei den hier dargestellten Komponenten standen meist noch keine Routineverfahren zur Verfügung, sondern mussten erst zeitgleich modifiziert oder neu entwickelt werden. Die Vielzahl der sich Neuentwicklungen, die dabei erfolgten, sind Ausgangspunkt zur Realisierung weiterer bioanaloger und biohybrider Mikrosysteme.

2.2 Voraussichtlicher Nutzen und Verwertungsplan

Im Institut für Mikro- und Nanotechnologien (IMN) der TU Ilmenau werden zurzeit große Anstrengungen unternommen, neue und innovative Projekte und Forschungsfelder zu eröffnen und bearbeiten. Dazu gehört die Einrichtung von zwei durch das BMBF geförderten Nachwuchsforschergruppen. Die Gruppe „Mikrofluidik und Biosensorik“ stellt eine sehr interessante Ergänzung und Erweiterung aller derzeitigen Aktivitäten dieses Projektes dar.

Wenn es gelingt, die Forisome zukünftig als fluidische Steuerelemente direkt in Mikrostrukturen über längere Zeiträume stabil einzusetzen, werden all diese Projekte direkt von den Erfahrungen profitieren und forisombasierte Systeme nutzen.

Wie bereits im Abschnitt 2.1.6 dargestellt, entstanden durch Präsentation der Arbeiten im Rahmen von Workshops interessante Kontakte mit Vertretern aus der Industrie und Forschung. Es besteht allgemein sehr großes Interesse an den Ergebnissen. Abhängig von der Realisierung von Mikroventilen oder ähnlichen prototypischen Anwendungen gibt es ein großes Potential für die Umsetzung in Applikationen der Bioanalytik, Medizintechnik oder Nanotechnologie.

Durch eine sehr gute Kooperation mit dem Fachgebiet Biomechatronik (Prof. Witte) an der TU Ilmenau konnten weitere mögliche Anwendungsfelder erschlossen werden. Es besteht Interesse, die Forisome als Steuereinheiten für Nanomotoren auf der Basis von Kinesin (Arbeitsgruppe Prof. Unger, Jena) in Kombination mit Titin-Molekülen (Arbeitsgruppe Prof. Labeit, Heidelberg) als biogene Federelemente einzusetzen. Entsprechende Forschungsanträge sind in Vorbereitung bzw. bereits gestellt.

Die entstandenen Mikrosysteme sind auch über die konkrete Aufgabenstellung hinaus für viele Einsatzmöglichkeiten im Bereich der Lebenserhaltung von verschiedenen biologischen Proben geeignet.

Bereits direkt nach Ablauf des Projektes wurden in Kooperation mit dem Fachgebiet Biomechatronik mehrere Projektanträge für neue Verbundprojekte bzw. Forschungsthemen eingereicht. Auch hier werden weitere Synergieeffekte durch Anlagensharing und gemeinsame Experimentieraufbauten erwartet.

Direkte Verbindungen zu Industriepartnern liegen bislang nur in sehr geringem Umfang vor. Es ist jedoch davon auszugehen, dass bei weiteren erfolgreichen Experimenten mit den Forisomen in unseren Strukturen durchaus Interesse an der Umsetzung für konkrete Forschungsvorhaben im Bereich der Biofluidik geweckt werden kann.

2.3 Ergebnisse Dritter im Zusammenhang mit dem Projekt

Es wurden keine Fortschritte von Dritter Seite bekannt, die unmittelbar das Projektziel und die entstandenen neuen Technologieansätze betreffen.

Insbesondere im Bereich der genutzten Basistechnologien der Mikrosystemtechnik sind eine Reihe von Entwicklungen zu beobachten, die tendenziell das Potential der hier vorgestellten Ansätze in Richtung zu kleineren Strukturdimensionen in biologisch bzw. biochemisch genutzten Mikrosystemen haben. Diese im Einzelnen aufzuzählen würde den Rahmen des Bericht jedoch sprengen. Es sei daher auf die Konferenzen und Zeitschriftenpublikationen des letzten Herbsts verwiesen (siehe auch 2.4).

Es gibt einen weltweiten Trend hin zu Bio-MEMS mit verschiedenen Anwendungsmöglichkeiten, die jedoch in ihrer Ausprägung bzw. Technologie vollkommen anders aufgebaut sind bzw. andere Lösungsansätze verfolgen.

2.4. Veröffentlichungen der Ergebnisse

Die jeweiligen Teilergebnisse des Projektes wurden auf mehreren nationalen und internationalen Konferenzen, Workshops und Messen vorgestellt. Die Mitarbeiter des Fachgebietes haben die Informationen und Ergebnisse weiterhin im Rahmen von Präsentationen für Kooperationspartner sowie für hausinterne Workshops und Veranstaltungen verwendet und so einer breiten Öffentlichkeit zugänglich gemacht.

1. Stubenrauch M., Schilling C., Knoblauch M.; “Forisomes“ - New biomolecular actuators in MEMS; MacroNano Workshop, TU Ilmenau, (2003).

2. Stubenrauch, M.; Frank, T.; Schilling, C.; Voges, D.; Witte, H.; Wurmus, H.: Mikrolabortechnische Komponenten in der Biomechatronik, 2. Workshop "Chemische und biologische Mikrolabortechnik", Ilmenau, (2004).

3. Mikrolabortechnische Systemapplikationen in der Biologie, Stand BioKoN, Hannovermesse, Hannover (2004).

4. Voges D., Stubenrauch M., Schilling C., Witte H.,: Bio-MEMS – Wie können Einzeller oder Motorproteine in technischen Systemen überleben? In: Beckmann D., Meister M. (Hrsg.), Technische Systeme für Biotechnologie und Umwelt - 12. Heiligenstädter Kolloquium, Heilbad Heiligenstadt, pp. 461-465, ISBN 3-00-015042-0, (2004).

5. Voges D., Stubenrauch M., Schilling C.: Bio-MEMS – how can organisms or cell organelles “survive” in technical systems? Biomedizinische Technik *49* (Ergänzungsband 2, Teil 2): pp. 1018-1019. ISSN 0939-4990, (2004).

6. Stubenrauch, M.; Voges, D.; Mandisloh, K.; Schilling, C.: Microfluidic Devices as Life Support Systems for Cells and Motor Proteins; 3rd Symposium on Micro- and Nanostructures of Biological Systems, Halle (Saale), Germany, (2004).

7. Voges D., Stubenrauch M., Schilling C.: Ein Protein als Schalter in Mikrosystemen.* - *Bionik: Innovationsimpulse aus der Natur - 2. Bremer Bionik-Kongress, Hochschule Bremen, (2004).

8. Stubenrauch M., Burgold J., Voges, D., Schilling C., Knoblauch M., Peters W.; A new method for handling and manipulation of valuable biological specimen in MEMS; in

Boenick U., Bolz A.; Biomedizinische Technik; Volume 50 Suppl. vol. 1 Part 1; pp. 191,192, ISSN 0939-4990, (2005).

9. Knoblauch M., Stubenrauch M., Burgold J., Warmann S., Shen A. Q., Pickard W., Voges D., Peters WS.; Forisomes, an unusual contractile system from higher plants and its potential as an actuator in technical Microsystems; 3rd International Symposium on Adaptive Motion in Animals and Machines, Ilmenau (2005).

---

em. Univ.-Prof. Dr.-Ing. habil. Dr. h.c. Helmut Wurmus
bisheriger Fachgebietsleiter des Fachgebietes Mikrosystemtechnik
Projektleiter, Teilprojekt 3

Univ.-Prof. Dr.-Ing. habil. Martin Hoffmann
Fachgebietsleiter des Fachgebietes Mikromechanische Systeme