

NAH AM PATIENTEN

Neue Biochip-Systeme stellen Diagnose per Schnelltest



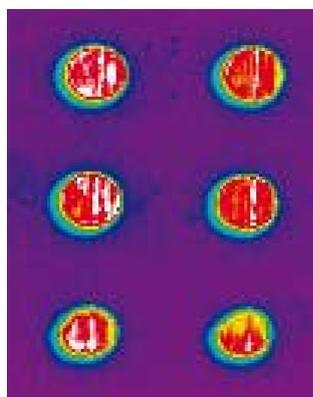
NAH AM PATIENTEN

Neue Biochip-Systeme stellen Diagnose per Schnelltest

Eine schnelle Diagnose direkt vor Ort ist gerade in Notfällen unverzichtbar – und die Ergebnisse müssen stimmen, egal ob Blut, Blutplasma oder Urin untersucht wird. Fraunhofer IPM hat mit neuen Biochip-Analysesystemen eine Plattform aufgebaut, die vollautomatisch alle Schritte von der Vorbereitung des Testmaterials über das eigentliche Analyseverfahren bis hin zur Auswertung bewältigt. Bereits sehr geringe Probenmengen liefern ein verlässliches Ergebnis. Außerdem ist das System klein genug für jede Arztpraxis oder Ambulanz.

Geschwindigkeit kann Leben retten, etwa, wenn ein Mensch an einer Sepsis, der so genannten Blutvergiftung leidet. Dabei handelt es sich um eine systemische Entzündungsreaktion, ausgelöst durch eine Infektion mit Bakterien, Viren, Parasiten oder Pilzen. Sie kann zu lebensbedrohlichen Störungen der Vitalfunktionen und zum Versagen von einem oder mehreren Organen führen. Rund 150 000 Menschen erkranken in Deutschland jedes Jahr an einer Sepsis. Jeder dritte von ihnen stirbt. Die Überlebenschancen sind umso höher, je früher und je gezielter behandelt wird.

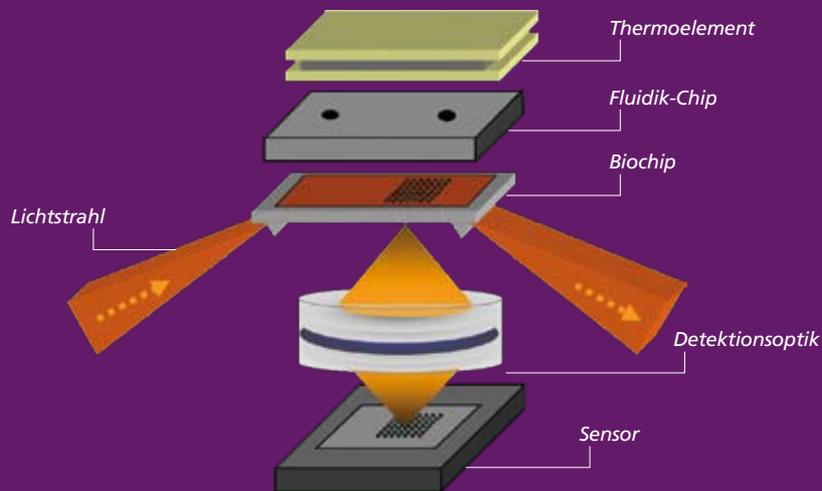
Das setzt eine schnelle und präzise Diagnose voraus. Doch gerade hier geht oft wertvolle Zeit verloren. Lange Wege zu zentralen Laboratorien, in denen die Patientenproben analysiert werden, zögern die Behandlung hinaus – die Uhr tickt gegen den Erkrankten. Diesen Prozess können die Wissenschaftler vom Fraunhofer-Institut für Physikalische Messtechnik IPM in Freiburg nun entscheidend beschleunigen: Dazu hat ein Team aus der Abteilung Analysen-Messsysteme neuartige Diagnosesysteme entwickelt, mit denen sich die Erkennung von Krankheiten am »Point of Care«, also direkt beim Patienten durchführen lässt – sei es nun in der Arztpraxis oder am Krankenbett. Dabei handelt es sich um ein Gerät mit so genannten Biochips als Verbrauchsmaterial. In dieses System gibt man die Probe, zum Beispiel Blut, Blutplasma oder Urin, dann bewältigt es vollautomatisch alle weiteren Schritte: von der Vorbereitung des Testmaterials über das eigentliche Analyseverfahren bis hin zur Auswertung. Und es ist klein genug, dass es in jeder Praxis oder Ambulanz Platz findet. Ein weiterer Vorteil: Bereits sehr geringe Probenmengen liefern ein verlässliches Ergebnis.



Auswertung des Immun-assays: Das Muster der fluoreszierenden Punkte verrät die Krankheitserreger im Blut, Blutplasma oder Urin eines Patienten.

Nachweis schon in geringen Konzentrationen

Ganz ähnlich wie bei etablierten Chiptechnologien lassen sich mit den Biochip-Systemen von Fraunhofer IPM verschiedene Biomarker gleichzeitig analysieren; beispielsweise Proteine, die typisch sind für einen bestimmten Erreger oder Veränderungen, die mit einer speziellen Krankheit einhergehen. Die Methode der Fraunhofer-Entwickler kombiniert verschiedene Analysemethoden auf einem Träger und in einem einzigen Arbeitsschritt. Das ist von großer Bedeutung, wenn es darum geht, eine Krankheit wie die Sepsis präzise zu diagnostizieren. Das Immunsystem reagiert auf Eindringlinge, indem es unter anderem spezielle Botenstoffe, etwa Cytokine, aussendet, die die körpereigenen Abwehrmaßnahmen steuern. Das Muster dieser Stoffe im Blut unterscheidet sich je nach Erregertyp – z. B. Bakterien oder Viren – und Krankheitsstadium.



1

1 Innenleben des Biochip-Systems: Der Lichtstrahl eines Lasers oder einer LED wird auf den Biochip geführt und regt die gebundenen Farbstoffe an – sie fluoreszieren. Detektionsoptik und Sensor bündeln das Lichtsignal und werten es aus. Während das Thermoelement die Temperatur regelt, steuert der Fluidik-Chip die Zu- und Ableitung der (Proben-)Flüssigkeiten.

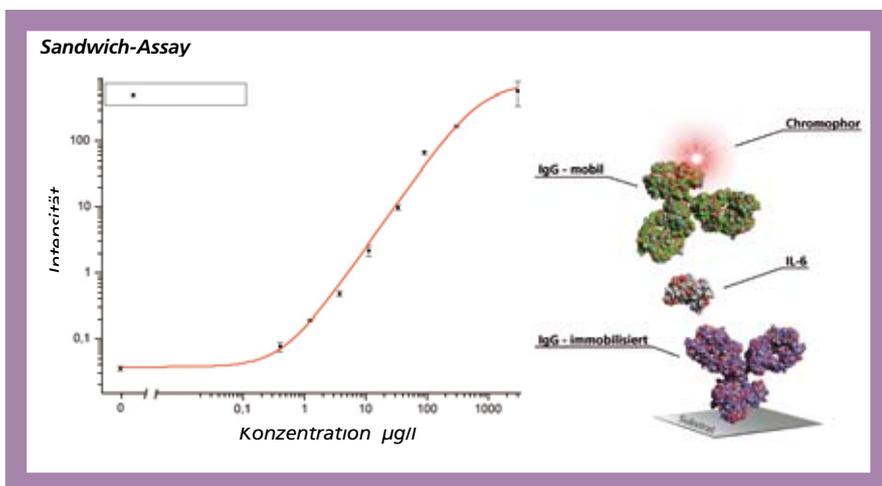
Fluoreszenz-Testverfahren: Stapelung der Antikörper nach Sandwichtechnik

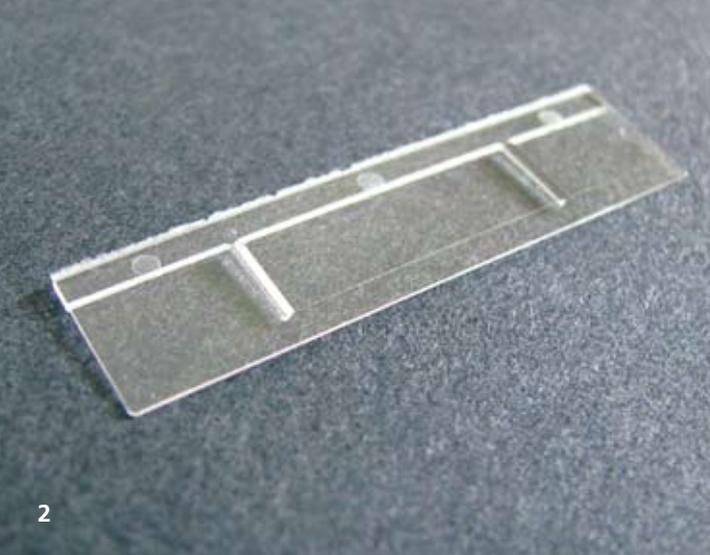
Um dieses Muster zu erfassen, arbeiten die Wissenschaftler mit einem Testverfahren, das auf der so genannten Sandwichtechnik basiert: Für den Sandwich-Assay beschichten sie den Probenträger mit verschiedenen Antikörpern, die sich gegen spezielle Botenstoffe richten (siehe Grafik unten). Gelangen diese Botenstoffe mit der Blutprobe zu den »passenden« Antikörpern, werden sie am Chip fixiert. Anschließend wird der Probenträger mit einem Mix aus Antikörpern behandelt: Sie erkennen dieselben Moleküle wie die ersten Antikörper und heften sich dort an eine andere Stelle. Was diese Antikörper so besonders macht: Sie sind außerdem mit einem Fluoreszenzfarbstoff als Chromophor gekoppelt. Beim Auslesen signalisiert dessen Lichtsignal dann »Feind erkannt«. Je stärker ein Punkt auf dem Chip leuchtet, desto mehr ist vom jeweiligen Botenstoff vorhanden. Um zuverlässig zu messen, wie viel sich von einem bestimmten Molekül in der Probe befindet, beinhalten die Chips zusätzlich Referenzsubstanzen. Sie dienen dazu, die Messung zu kalibrieren. Zudem legen sie für jeden fraglichen Marker mehrere Spots an. So lassen sich »Ausreißer« wie falsch positive oder falsch negative Messungen ausschließen, und Mittelwerte für die Quantifizierung bestimmen. Dadurch werden die Chips den hohen Sicherheitsanforderungen in der humanmedizinischen Diagnostik gerecht.

DNA-Nachweis in einem einzigen Arbeitsschritt

In einer Probe sind aber nicht nur Proteine. Die Wissenschaftler von Fraunhofer IPM haben ein weiteres Gerät entwickelt, mit dem sich DNA nachweisen lässt. Das ist zum Beispiel wichtig, wenn Ärzte bei einer Virusinfektion wissen wollen, mit welchem Erregertyp sich der Patient angesteckt hat. Die Erbsubstanz der Viren ist im Blut vorhanden – allerdings meist in so geringen Mengen, dass kein direkter Nachweis möglich ist. Daher müssen die Abschnitte der Viren-DNA zunächst mit der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) vermehrt werden. Bislang war es notwendig, die Vermehrungsprozedur in einem separaten Gerät durchzuführen und danach den Chip mit

den Proben zu waschen und auszuwerten. Mit der neuen Technik gelingt nun alles in einem einzigen Arbeitsschritt und mit nur einem Gerät (Abb. 1): Die PCR läuft direkt auf dem Chip ab. Dabei werden fluoreszenzmarkierte DNA-Bausteine in die Genabschnitte eingebaut, die diese zum Leuchten bringen. So sieht man in Echtzeit, ob ein bestimmter Virustyp vorhanden ist – ohne erst das Ende der Reaktion abwarten zu müssen. Die Probenräger für die Biochips – auch eine Entwicklung von Fraunhofer IPM – bestehen aus einem





2 Auf den Polymer-Chips sitzen Mikroprismen, die das einfallende Licht über den ganzen Träger ausbreiten. So werden die auf dem Chip gebundenen Moleküle angeregt und fluoreszieren.

3 Das kompakte Biochip-System kann flexibel in jeder Arztpraxis oder Ambulanz eingesetzt werden.

dünnen, kostengünstigen Kunststoff. Das Material ist wärmebeständig, sodass es das ständige Erhitzen und Abkühlen während einer PCR unbeschadet übersteht. Außerdem fluoresziert es selbst nicht, was beim Erfassen der Leuchtsignale stören würde. Die Probenträger sind mit Mikroprismen ausgestattet (Abb. 2). Sie führen das einfallende Licht eines Lasers oder einer LED derart in den Chip, dass es sich über den ganzen Träger ausbreitet. Fachleute nennen diesen Trick »total internal reflection«, kurz TIRF. Das Licht regt die Fluoreszenzmoleküle der gebundenen Substanzen an und lässt diese leuchten. Der Clou an der Sache: Das Licht ist quasi in den Probenträger »eingesperrt«. Es kann nur Fluoreszenzmoleküle anregen, die sich direkt auf dem Chip befinden. Moleküle in der Umgebung, die keinen Bindungspartner gefunden haben, leuchten nicht. So lassen sich eindeutige Messsignale erzielen, ohne dass wie bei herkömmlichen Methoden überschüssige Testsubstanzen gewaschen werden müssen. Die Leuchtsignale der gebundenen Fluoreszenzmoleküle werden schließlich in der optischen Einheit gebündelt und gefiltert, sodass nur Licht einer gewünschten Wellenlänge gemessen wird.

Zur rechten Zeit am rechten Ort: Ausgeklügelte Fluidik ermöglicht parallele Analysen

Neben des speziellen Fluoreszenz-Testverfahrens bedarf es einer ausgeklügelten Fluidik, damit komplizierte Analysemethoden oder – wie im Fall der Sepsis-Diagnose – sogar verschiedene Tests gleichzeitig durchgeführt werden können. Das System aus Ventilen und Schläuchen, mit deren Hilfe man das Probenmaterial in die Apparatur und damit auf die Träger transportiert, kann individuell je nach Anwendung angeordnet werden. Die gesamte Apparatur enthält möglichst einfache Komponenten; sie machen das Gerät kostengünstig und kompakt (Abb. 3). Dank dieser Flexibilität lassen sich die Biochip-Systeme von Fraunhofer IPM leicht an verschiedene Einsatzgebiete anpassen: Andere komplexe Krankheitsbilder zu untersuchen, kommt ebenso infrage wie Dopingtests durchzuführen. Die Forscher arbeiten derzeit an Methoden, um auch Viren zu erfassen, deren Erbgut nicht aus DNA, sondern aus RNA besteht. Das bedeutet für den Nachweis allerdings einen zusätzlichen Reaktionsschritt. Auch außerhalb der humanmedizinischen Diagnostik könnte die Technologie künftig zum Einsatz kommen, zum Beispiel wenn es darum geht, Nahrungsmittel oder Wasserproben auf Verunreinigung mit Keimen zu untersuchen – eben überall, wo schnelle und eindeutige Ergebnisse benötigt werden: direkt vor Ort.

Biochip-Diagnosesysteme wurden und werden von Manuel Kemmler, Birgit Koger, Albrecht Brandenburg, Gerd Sulz, Jens Scherer, Christian Erhardt, Heinz Schulte, Stefan Adolph und Andreas Sutorius entwickelt.

Kontakt:

Fraunhofer-Institut für
Physikalische Messtechnik IPM
Heidenhofstraße 8
79110 Freiburg
www.ipm.fraunhofer.de



Dr. Albrecht Brandenburg
Abteilung Analysen-
Messsysteme
Telefon +49 761 8857-306
albrecht.brandenburg@ipm.fraunhofer.de



Gerd Sulz
Abteilung Analysen-
Messsysteme
Telefon +49 761 8857-293
gerd.sulz@ipm.fraunhofer.de

Literatur:

- [1] M. Kemmler, B. Koger, G. Sulz, U. Sauer, E. Schleicher, C. Preininger, A. Brandenburg, *Compact point-of-care system for clinical diagnostics*, Sensors and Actuators B 139, 44–51 (2009).
- [2] A. Brandenburg, F. Curdt, G. Sulz, F. Ebling, J. Nestler, K. Wunderlich, D. Michel, *Biochip readout system for point-of-care applications*, Sensors and Actuators B 139, 245–251 (2009).