

Vollautomatisierter Proteinnachweis mit Lab-on-Chip-System

Eine Analyseplattform zur automatisierten und effizienten Antigenmessung eignet sich für vielseitige Anwendungen – von der Lebensmittelanalytik bis zur klinischen Diagnostik.

M.Sc. Benedict Martens, Fraunhofer-Institut für Mikrotechnik und Mikrosysteme, Mainz

Das Konzept der personalisierten Medizin hat sich in den letzten Jahrzehnten stark weiterentwickelt und bietet nun die Möglichkeit, Therapien auf die spezifischen Umstände und Bedürfnisse eines Patienten abzustimmen. Ein zentraler Aspekt dabei ist die Verwendung von Biomarkern. Diese sind messbare Indikatoren biologischer Prozesse, die als Referenz für Krankheitszustände dienen. Sie können helfen, Erkrankungen frühzeitig zu diagnostizieren, den Krankheitsverlauf vorherzusagen und die Therapie zu überwachen. Proteine stellen eine wesentliche Gruppe von diagnostischen Biomarkern dar. Für deren Nachweis gibt es eine Reihe von Analyseformen. Dazu gehören chemische und spektroskopische Verfahren sowie immunologische Methoden wie der Enzyme-linked-immunosorbent Assay (ELISA). Diese sind präzise, erfordern jedoch spezialisierte Ausrüstung und müssen von Fachpersonal durchgeführt werden, sodass die Durchführung betreffender Analysen in spezifisch ausgelegten Laboren einschließlich damit verbundener Verzögerungen unumgänglich ist.

Ein Ansatz, der eine flexiblere Testung erlaubt, sind einfach zu bedienende und schnelle immunologische Verfahren wie der Lateral-Flow-Test. Dieser ist allerdings nicht so sensitiv wie andere Verfahren und

schlägt erst bei erhöhten Proteinkonzentrationen an. Das ist insbesondere im Hinblick auf diagnostische Anwendungen kritisch, da eine Erkennung früher Stadien einer Krankheit oft nur schwer möglich ist und die aus falsch-negativen Ergebnissen abgeleiteten Konsequenzen folgenschwer sein können. Aus diesem Grund ist es weiterhin wichtig, nach einfach zu bedienenden, schnellen und sensitiven Lösungen für den Nachweis von Proteinen zu suchen.

Hier setzt das vom BMBF geförderte Projekt PhoTox an und entwickelt eine innovative Lösung: eine vollautomatische Analyseplattform, die den Chemilumineszenz-Immunoassay (CLIA) zuverlässig und voll automatisch durchführt. Der CLIA ermöglicht eine selektive und sensitive Proteindetektion, da er Licht direkt misst, anstatt sich auf eine visuelle Beurteilung oder die Extinktionsmessung wie bei ELISAs zu stützen. Dadurch wird eine deutlich höhere Empfindlichkeit erreicht. Die Pilotanwendung des PhoTox-Projekts konzentriert sich auf den Nachweis von bakteriellen Toxinen in Lebensmitteln. Auch für Lebensmitteltoxine gilt, dass derzeitige Methoden zur Erkennung zeitaufwendig sind und eine komplexe Laborinfrastruktur erfordern. Die im Verbund aus Industrie und akademischer Forschung im Projekt erarbeitete vollautomatische Analyseplattform bietet eine anwendungsübergreifende, effiziente und zuverlässige Lösung für dieses Problem.

Das Herzstück der im Rahmen des PhoTox-Projekts erarbeiteten Analyseplattform ist ein mikrofluidischer Chip, welcher am Fraunhofer-Institut für Mikrotechnik und Mikrosysteme entwickelt wurde. Dieser ist ein „Lab-on-a-Chip“, ein miniaturisiertes Labor auf einem einzigen Chip, das verschiedene Laborfunktionen ausführen kann. Dies ermöglicht die Analyse von flüssigen

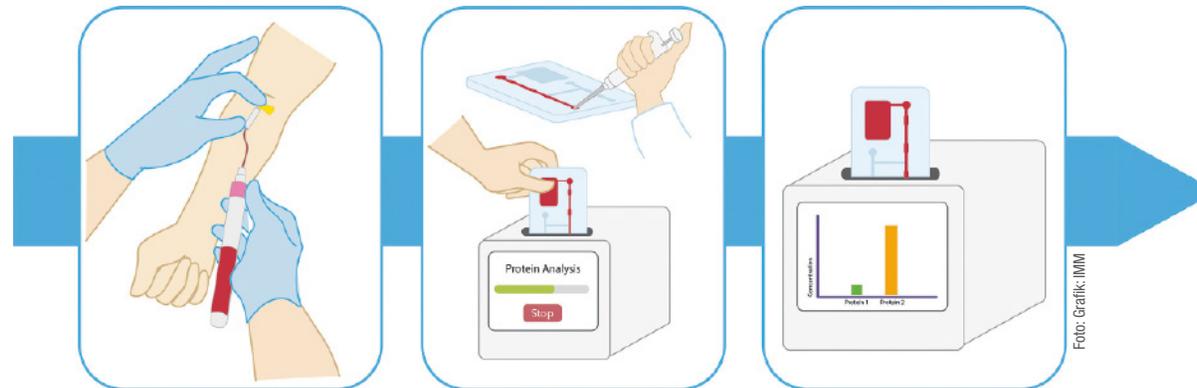


Abb. 1: Ablauf einer Proteinanalyse aus venösem Vollblut. Die Überführung der Probe in den mikrofluidischen Chip stellt den einzigen manuellen Arbeitsschritt dar. Anschließend wird die Analyse vollautomatisch mit der Analyse-Plattform durchgeführt.

Proben auf Proteine mittels eines CLIA. Der Ablauf eines Sandwich-CLIA ist ein mehrstufiger Prozess, der in Abb. 2 schematisch für eine Analyse in einem Mikrokanal dargestellt ist. Ein auf der Oberfläche der Detektionszone immobilisierter Antikörper bindet spezifisch das Antigen aus der Probe. Danach bindet ein zweiter Antikörper, der sekundäre Antikörper, an das Antigen. Dieser ist mit einem Enzym konjugiert, welches Luminol umsetzen und dabei Licht

emittieren kann. Dies stellt zugleich den letzten Schritt des Assays dar. Integrierte Waschschritte erhöhen die Spezifität der Reaktion zusätzlich. Der Chip enthält bereits alle für den Test erforderlichen Reagenzien, einschließlich Sekundärantikörper, Waschpuffer und Luminol. Der Chip des Fraunhofer IMM ist universell für flüssige Proben unterschiedlichster Beschaffenheit ausgelegt, sodass er unabhängig von den physikochemischen Eigenschaften, wie

zum Beispiel dem Benetzungsgrad, funktioniert. Durch die Miniaturisierung können die eingesetzten Reagenzien reduziert und Kosten gespart werden. Darüber hinaus ist die Kartusche so konzipiert, dass sie leicht zu handhaben ist, was wiederum die Zeiten für Einarbeitung und Bedienung minimiert. Dies ist besonders wichtig in Zeiten von Personalmangel und trägt dazu bei, den Druck auf Fachkräfte zu verringern und schnelle Analyseergebnisse zu gewährleisten.

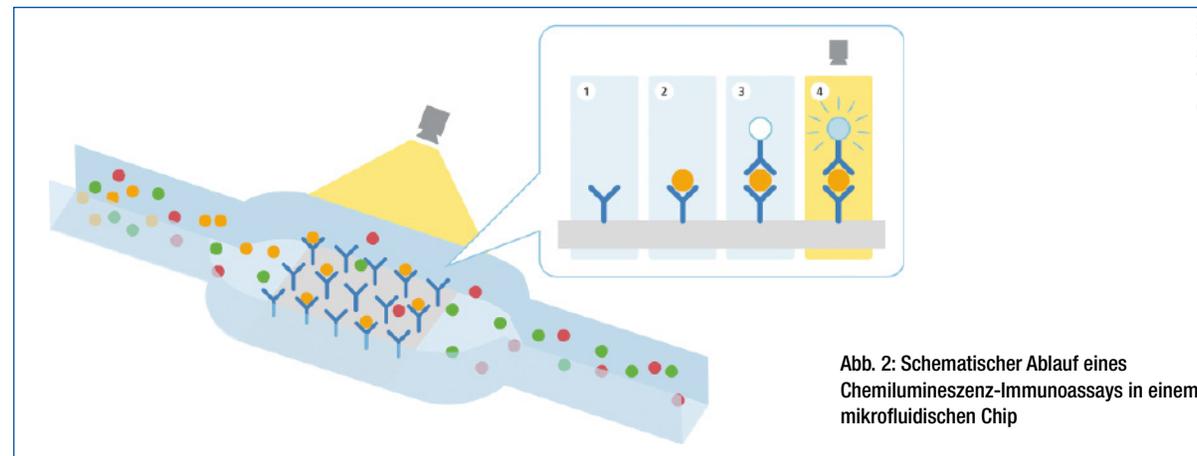


Abb. 2: Schematischer Ablauf eines Chemilumineszenz-Immunoassays in einem mikrofluidischen Chip

Assayintegration ohne Grenzen

Dank des Plattform-Charakters des Analyse-systems ist die universelle Übertragbarkeit auf andere Anwendungen, z. B. die Diagnostik, gegeben. Die Vielseitigkeit des Chips ermöglicht die Untersuchung einer Vielzahl von Analyten, wie Toxine oder Biomarker, in einer einzigen Kartusche. Dies erhöht die Flexibilität des Systems und ermöglicht es, effizient auf unterschiedliche Anforderungen zu reagieren, sei es in der Lebensmittelanalytik oder in der klinischen Diagnostik.

In der nächsten Entwicklungsphase wird die Integration medizinischer Anwendungen in Zusammenarbeit mit interessierten Partnern aus Klinik und Industrie angestrebt. Die Analyse-Plattform könnte zur schnellen und automatisierten Detektion von wichtigen Biomarkern in Notfallsituationen verwendet werden, z. B. zur Bestimmung von C-reaktivem Protein, Troponin und Myoglobin bei kardiologischen Notfällen oder Procalcitonin bei Verdacht auf einen septischen Schock. Die Automatisierung der Proteinanalyse hat auch das Potential, die Effizienz der Patientenversorgung zu verbessern. Durch die Verkürzung der Zeit bis zur Diagnose können sowohl Besuche bei niedergelassenen Ärzten, als auch das Management in stationären Einrichtungen, effektiver gestaltet und therapeutische Maßnahmen schneller eingeleitet werden. In Notfallsituationen ist dies von entscheidender Bedeutung, um die besten Ergebnisse für die Patienten zu gewährleisten. Das Vorhaben wird gefördert durch das BMBF im Förderprogramm Photonik Forschung Deutschland („PhoTox“, FKZ 13N15836). ■

| www.imm.fraunhofer.de |