

## **Forschung „zwischen“ den Disziplinen: das Institut für Nano- und Biotechnologien**

*Michael J. Schöning, Manfred Biselli, Thorsten Selmer, Peter Öhlschläger, Marcus E.M. Baumann, Arno Förster, Arshak Poghossian*

*FH Aachen, Campus Jülich, Institut für Nano- und Biotechnologien (INB)*

### **Einleitung**

„Biologie trifft Mikroelektronik“, das Motto des Instituts für Nano- und Biotechnologien (INB) an der FH Aachen, unterstreicht die zunehmende Bedeutung interdisziplinär geprägter Forschungsaktivitäten. Der thematische Zusammenschluss grundständiger Disziplinen, wie die Physik, Elektrotechnik, Chemie, Biologie sowie die Materialwissenschaften, lässt neue Forschungsgebiete entstehen, ein herausragendes Beispiel hierfür ist die Nanotechnologie: Hier werden neue Werkstoffe und Materialien entwickelt, einzelne Nanopartikel oder Moleküle und deren Wechselwirkung untersucht oder Schichtstrukturen im Nanometerbereich aufgebaut, die neue und vorher nicht bekannte Eigenschaften hervorbringen.

Vor diesem Hintergrund bündelt das im Jahre 2006 gegründete INB die an der FH Aachen vorhandenen Kompetenzen von derzeit insgesamt sieben Laboratorien auf den Gebieten der Halbleitertechnik und Nanoelektronik, Nanostrukturen und DNA-Sensorik, der Chemo- und Biosensorik, der Enzymtechnologie, der Mikrobiologie und Pflanzenbiotechnologie, der Zellkulturtechnik, sowie der Roten Biotechnologie synergetisch. In der Nano- und Biotechnologie steckt außergewöhnliches Potenzial! Nicht zuletzt deshalb stellen sich die Forscher der Herausforderung, in diesem Bereich gemeinsam zu forschen und Schnittstellen zu nutzen, um so bei der Gestaltung neuartiger Ideen und Produkte mitzuwirken, die zukünftig unser alltägliches Leben verändern werden.

Im Folgenden werden die verschiedenen Forschungsbereiche kurz zusammenfassend vorgestellt und vorhandene Interaktionen anhand von exemplarisch ausgewählten, aktuellen Forschungsprojekten skizziert.

## Forschungskompetenzen

Die Fortschritte im Bereich der Mikro- und Nanotechnologien zur Realisierung von Siliziumchips – z. B. als Speicherbausteine oder Prozessoren in Computern – ermöglichen seit einigen Jahren auch eine Ausweitung solcher Fertigungsprozesse für den Bereich der miniaturisierten bio-/chemischen Analyse: sog. Lab-on-a-chip (LOC)-Systeme lassen sich für den Nachweis von Ionen oder Biomolekülen in flüssigen und/oder gasförmigen Medien nutzen; „Herzstück“ solcher Sensorsysteme bilden die jeweiligen Sensoreinheiten. Am INB besteht hierbei langjährige Erfahrung insbesondere mit speziell designten Mikroelektrodenstrukturen sowie siliziumbasierten Feldeffektsensoren als Transduktoren. Man spricht in diesem Zusammenhang auch häufig von einer neuen Generation bio-/chemischer Mikrosensoren, nämlich bioelektronischen Bauelementen, die Rezeptorschicht und Signalverarbeitung in unmittelbarer Nähe auf dem Chip kombinieren. Abbildung 1 zeigt die Fotografie einer Mikroelektrodenstruktur, eingebettet in ein Leiterplattensubstrat (links) sowie schematisch den Aufbau eines solchen Feldeffektsensors (rechts). Die aus bioelektronischen Bauelementen resultierenden Vorteile liegen auf der Hand: Miniaturisierbarkeit, schnelles Ansprechverhalten, Kombination der Einzelsensoren in Form von Sensorarrays, robuster Aufbau und niedrige Herstellungskosten im Falle einer Massenproduktion. Dementsprechend reicht das mögliche Anwendungsspektrum von den Lebenswissenschaften und der Medizin über die Umweltanalytik und Lebensmitteltechnologie bis hin zu Anwendungen im Bereich der Sicherheitstechnik.

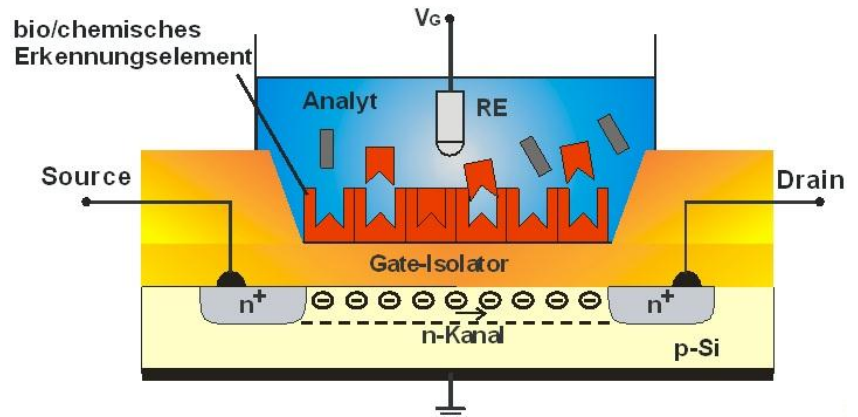
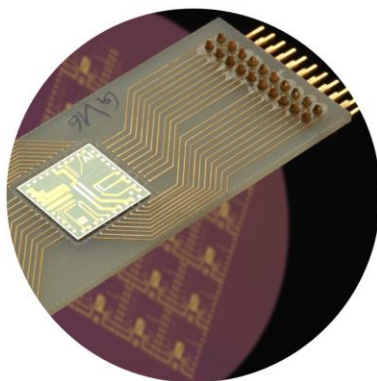


Abbildung 1 Mikroelektrodenstruktur auf einem Leiterplattensubstrat (links) und schematische Darstellung eines bio-/chemisch sensitiven Feldeffekttransistors (rechts); RE: Referenzelektrode, VG: Gate-Spannung.

Um insbesondere die Nachweisempfindlichkeit und Selektivität solcher bioelektronischer Sensoren weiter zu steigern, werden derzeit verschiedene Forschungsansätze im Bereich der Grundlagen- und anwendungsorientierten Forschung verfolgt: Häufig stellt gerade die langzeitstabile Ankopplung der hochspezifischen chemisch/biologischen Rezeptorschicht an die Transduktorstruktur eine technologische Herausforderung dar. Aktuelle Strategien basieren hier neben einer gezielten Funktionalisierung der Chipoberflächen mit Gold-Nanopartikeln und Kohlenstoff-Nanoröhrchen vor allem in der Verwendung neuartiger Beschichtungen – beispielsweise auf der Basis von nanokristallinen Diamantschichten (gemeinsam mit der Universität Hasselt) und biodegradierbaren Biopolymeren – oder dem Einsatz spezieller Beschichtungstechniken wie der gepulsten Laserabscheidung (in Kooperation mit dem Forschungszentrum Jülich); letztere ermöglicht die Deposition von pH-empfindlichen, schwermetallsensitiven und ferroelektrischen Materialien mit hoher Stöchiometrie als Dünnschichten im Bereich von wenigen zehn Nanometern Dicke. Da Feldeffektsensoren grundsätzlich als höchst empfindliche Ladungsverstärker fungieren, man denke in diesem Zusammenhang an die bis zu inzwischen ca. 1 Milliarde Transistoren auf einem einzigen Prozessorchip im PC, besteht darüber hinaus auch verstärktes Interesse an der Detektion geladener Makromoleküle, wie z. B. Proteinen oder einzelnen DNA-Molekülen. Damit ist prinzipiell ein markierungsfreier, schneller und direkter Nachweis solcher Biomoleküle möglich, was gerade im Bereich der zukünftig immer wichtiger werdenden, personalisierten Medizin sehr attraktiv wäre.

Komplementär hierzu finden sich am Institut für Nano- und Biotechnologien umfangreiche biotechnologische Kompetenzen. Diese erstrecken sich von der angewandten Mikrobiologie über Gen- und Enzymtechnologie sowie der Zellbiologie und Immunologie bis hin zur Zellkulturverfahrenstechnik und Bioprozessoptimierung. Die Einbeziehung biologischer Systeme zur Modifizierung von Sensorchips stellt dabei eine erhebliche Erweiterung der Einsatzmöglichkeiten von Sensorchips in der medizinischen und biotechnologischen Analytik dar. Bakterien, tierische bzw. menschliche Zellen oder Teile davon (DNA, Enzyme, Antikörper) können die Einsatzmöglichkeiten von modernen Nachweismethoden in der Diagnostik deutlich erweitern. Ihre Immobilisierung auf der Oberfläche solcher mikroelektronischer Strukturen kombinieren die hohe Sensitivität der eingesetzten Sensorchips mit der enormen Selektivität biologischer Systeme (z. B. Enzyme, Antikörper, Nukleinsäuren) oder nutzen die Detektion physiologischer Signale ganzer Zellen zur globalen Zustandsbestimmung der biologischen Systeme, die beispielsweise Giftwirkungen oder andere Beeinträchtigungen auch dann hoch-empfindlich erkennen lässt, wenn die genaue Ursache dieser Wirkung noch unbekannt ist. Im Gegenzug

ermöglicht der Einsatz von spezifischen Sensorchips in den einzelnen biotechnologischen Fragestellungen eine deutliche Verbesserung bei der Prozessüberwachung und -optimierung. Seitens der Biotechnologie können dazu eine Vielzahl von Expertisen eingebracht werden. Unter Verwendung moderner synthetisch-biologischer Methoden können verschiedene Enzyme und Enzymkomplexe im Institut maßgeschneidert in hochreiner Form hergestellt werden. Umfangreiche Erfahrungen im Einsatz rekombinanter Bakterien sowie tierischer und pflanzlicher Zellen in Produktionsprozessen ermöglicht deren Einsatz in größerem Maßstab. Unterstützt wird diese Expertise durch die Möglichkeiten der gezielten Herstellung von Antisera und monoklonaler Antikörper. Als besonders interessante Anwendungen im Grenzgebiet von Nano- und Biotechnologie ergeben sich hier auch Möglichkeiten zur Reduktion von Tierversuchen durch den gezielten Einsatz von biomodifizierten Sensorchips.

## **Forschungssynergien an der Schnittstelle „Lebenswissenschaften – Mikro-/Nanotechnologie“: vier ausgewählte Beispiele**

### **Modulares Sensorsystem für die Zellkultur-Prozessentwicklung (Cellsens)**

Bei der Entwicklung neuer Medikamente nehmen biopharmazeutische Wirkstoffe rasant an Bedeutung zu. Solche Biopharmazeutika werden aus Zellen gewonnen, die hierzu unter optimalen Bedingungen kultiviert werden müssen. Die Einhaltung definierter Kulturparameter ist dabei von besonderer Bedeutung. Bei nicht optimalen Kulturparametern wird nicht nur die Produktivität der Zellen gesenkt, sondern auch die chemische Struktur des sekretierten Proteins verändert, was einen erheblichen Einfluss auf die pharmakologische Wirkung hat. Zur Überwachung biotechnologischer Prozesse ist deshalb eine schnelle „in line“-Analytik im Bioreaktor (z. B. von Temperatur, pH-Wert, optischer Dichte, Leitfähigkeit) notwendig, um diese Prozesse zu optimieren und so die bestmögliche Ausbeute zu erzielen. Mit Hilfe eines „Echtzeit-Prozess-Monitorings“ können Zustände von Bioprozessen direkt beobachtet werden und somit unmittelbar bei Vorhandensein eines Problems während des Prozesses Gegenmaßnahmen eingeleitet werden.

Im Gegensatz zur „in line“-Analytik ist die „on line“-Messung und –Regelung der Parameter Temperatur, Sauerstoffgehalt und pH-Wert mittels konventioneller Sensoren bereits Stand der Technik für großtechnische Anlagen. Eine besondere Herausforderung stellt jedoch die Erfassung der Konzentration der Nährstoffe Glukose und Glutamin als hauptsächliche Kohlenstoff- und Energiequellen dar. In dem am INB durchgeführten Projekt „Cellsens“ wird diese

Problemstellung aufgegriffen. Ziel ist die Entwicklung eines festkörperbasierten Sensorsystems zur Überwachung von Zellkulturfermentationen. Hierzu werden drei unterschiedliche Sensor- modi (Feldeffekt, Amperometrie, Konduktometrie) zum Nachweis von fünf relevanten Mess- größen (pH-Wert, Glukose- und Glutamingehalt, Temperatur, Elektrolytleitfähigkeit; siehe auch Abbildung 2) verwendet und unter Laborbedingungen und in realen Kulturmedien innerhalb eines Bioprozesses untersucht. Charakteristische Kenngrößen sind hierbei die Sensitivität, die Drift und Hysterese des jeweiligen Sensorsignals, das Ansprechverhalten, der Messbereich inklusive unterer und oberer Nachweisgrenze sowie die Lebensdauer. Entscheidender Vorteil der Verwendung der Siliziumtechnologie bei der Sensorherstellung ist die mögliche Miniaturisie- rung der Sensorchips. Dies ermöglicht eine „down scaling“-Variante, um neben „konventio- nellen“ Fermentationsprozessen auch Fermentationen im Milliliter-Maßstab mittels „in line“- Monitoring durchführen zu können.

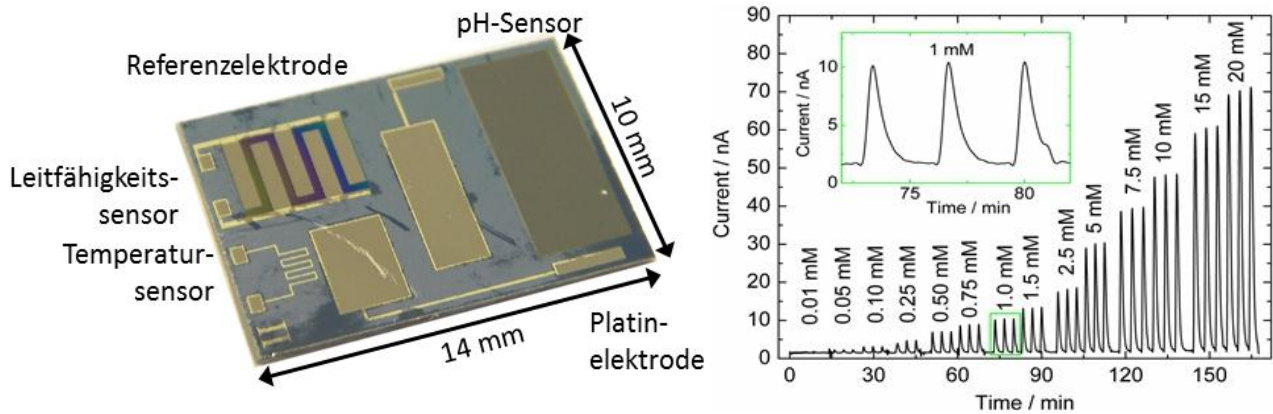


Abbildung 2 Foto des entwickelten Multisensor-Chips zur simultanen Messung von Elektrolyt- leitfähigkeit, Temperatur und pH-Wert (links) und typische Glutaminmessung mit einer weiteren Chipvariante im Durchflussbetrieb (Fließinjektionsanalyse).

### Optimierung des Betriebs eines Biogasfermenters mit Hilfe siliziumbasierter Sensorik

In der aktuellen Diskussion über erneuerbare Energien hat die Gewinnung von Biogas in den letzten Jahren zunehmende Bedeutung erlangt und stellt mittlerweile für zahlreiche Viehhaltende Betriebe eine sinnvolle Verwertung landwirtschaftlicher Produktionsabfälle dar (siehe auch Abbildung 3). Die Bildung von Biogas aus organischem Material wird durch ein komplexes synergistisches Zusammenspiel verschiedener Mikroorganismen bewerkstelligt, deren StoffwechsellLeistungen ähnlich einem Zahnradgetriebe ineinander greifen. Durch Änderungen der äußeren Bedingungen kann es dabei leicht zu Schädigungen einzelner Glieder des Gefüges kommen, die teilweise langwierige Produktionsausfälle und für den Betreiber erhebliche wirtschaftliche Kosten verursachen. Die kontinuierliche Überwachung von Biogasanlagen beschränkt sich derzeit auf chemisch/physikalische Parameter, die jedoch nur indirekt und zeitverzögert auf Prozessinstabilitäten schließen lassen.

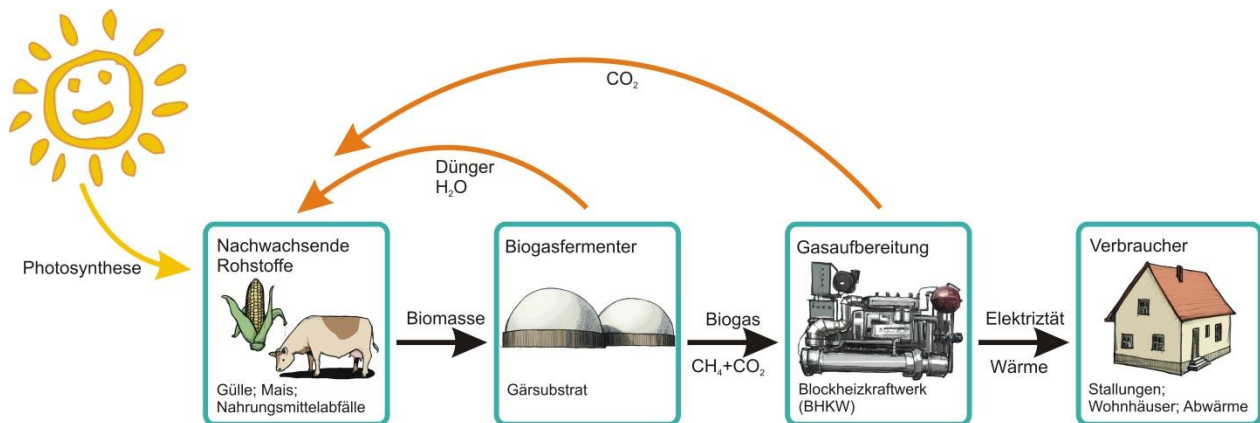


Abbildung 3 Schematische Darstellung der Biogasproduktion

Um den Biogasprozess enghaschiger zu kontrollieren, wird derzeit ein Forschungsansatz verfolgt, bei dem das „Wohlbefinden“ der beteiligten Mikroben selbst als Sensorsignal dient, welches unmittelbar Auskunft über den Zustand eines solchen Biogasprozesses liefern kann. Die metabolische Aktivität der beteiligten Mikroorganismen lässt sich nämlich über ein pH-Wert-Monitoring in deren unmittelbarer Umgebung, über eine Messung der lokalen Ansäuerungsrate auf der Oberfläche eines Sensorchips bestimmen, der mit prozessrelevanten Organismen bewachsen ist (Abbildung 4). Als Bio-Sensor fungiert ein sog. lichtadressierbarer potentiometrischer Sensor (LAPS), der orts aufgelöst pH-Wert-Änderungen aufnehmen kann. Daneben ist für den reibungslosen Ablauf der Biogasproduktion die Bildung von Wasserstoff, der im letzten Schritt von methanogenen Archäen zur Produktion von Biogas verwendet wird, von besonderer

Bedeutung. Zur „on line“-Überwachung der Konzentration des gelösten Wasserstoffs im Biogasprozess soll deshalb zusätzlich noch eine H<sub>2</sub>-Messsonde entwickelt werden, die die Ermittlung des Gelöstwasserstoffgehalts unter strikt anaeroben Bedingungen ermöglicht. Beide Sensoren basieren auf einem elektrochemischen Transducerprinzip, sind modular aufgebaut und als Hybridanordnung ausgelegt, so dass weiterhin die Option einer zusätzlichen Kontrolle der Temperatur und des pH-Werts besteht.

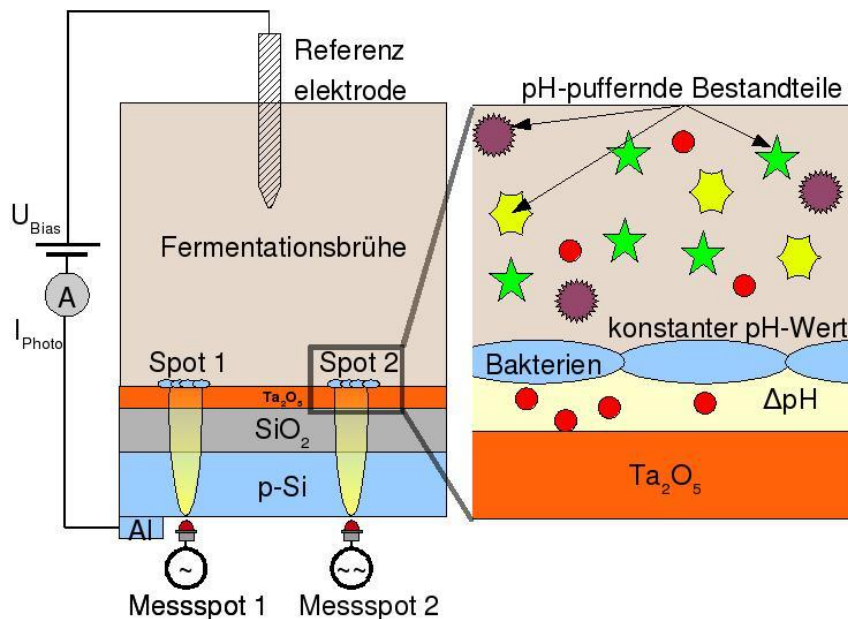


Abbildung 4 Schematische Darstellung des Funktionsprinzips des lichtadressierbaren potentiometrischen Sensors (LAPS) mit immobilisiertem Bakterienrasen.

### Steigerung der Immunogenität von therapeutischen Impfstoffen gegen Krebs

Die Entwicklung innovativer therapeutischer Verfahren zur Behandlung von Krebs (als zweithäufigste Todesursache neben Herz-Kreislauferkrankungen) stellt eine große gesellschaftliche Herausforderung im Bereich der „Gesundheit“ dar. Alleine in Deutschland erkranken jährlich etwa 430.000 Menschen; trotz sehr kostenintensiver Therapien versterben hiervon im selben Zeitraum ca. 210.000. Die Therapie vieler Tumorerkrankungen verläuft bislang absolut unbefriedigend und stellt eine hohe Belastung für den Patienten dar: ein Hauptproblem ist dabei das unterschiedliche Ansprechverhalten von Tumorgewebe gegenüber Chemotherapeutika, sowie die Tatsache, dass die Tumorzellen in der Lage sind, Resistenzen zu entwickeln, die eine effiziente Therapie weiter erschweren. Deshalb wird in einem jüngst gestarteten, interdisziplinären

Forschungsvorhaben ein völlig neuer und vergleichsweise kostengünstiger Ansatz auf der Basis der Immuntherapie verfolgt, welcher auf der Aktivierung des körpereigenen Immunsystems zurückgreift. Hierbei können hocheffiziente Impfstoffe entwickelt werden, welche das körpereigene Immunsystem gegen die Krebszellen aktivieren. Trotz bereits erfolgreich durchgeführter, eigener Vorarbeiten auf dem Gebiet der therapeutischen DNA-basierten Vakzine gegen das Zervixkarzinom (entwickelt mit dem Deutschem Krebsforschungszentrum Heidelberg, der Charité Universitätsmedizin Berlin, sowie der Universität Riad/Saudi-Arabien), liegt ein entscheidender Fokus in der Forschung darin, die Wirksamkeit dieses Impfstoffes zu verbessern: Aus diesem Grund sollen neben neuen Immunisierungs-Ansätzen, die in „in vivo“-Experimenten in Mäusen quantifiziert werden, erste grundlegende Untersuchungen auf zellulärer Ebene durchgeführt werden. Da die physiologischen bzw. morphologischen Eigenschaften eines Tumors für jeden Patienten spezifisch sind, sollen ausgewählte Zelllinien kultiviert, gezielt genetisch manipuliert und auf zellulärer Ebene mittels (bio-)sensorischer Ansätze untersucht werden. Die Wirksamkeit lässt sich beispielsweise anhand der Vitalparameter der Zellen sowie deren morphologischer Veränderungen verfolgen (siehe Abbildung 5). Insbesondere die Ausgestaltung des Interfaces aus Tumorzelle und Elektronikchip stellt hierbei eine hohe wissenschaftliche Herausforderung bzgl. der Funktionalität und Stabilität dar.

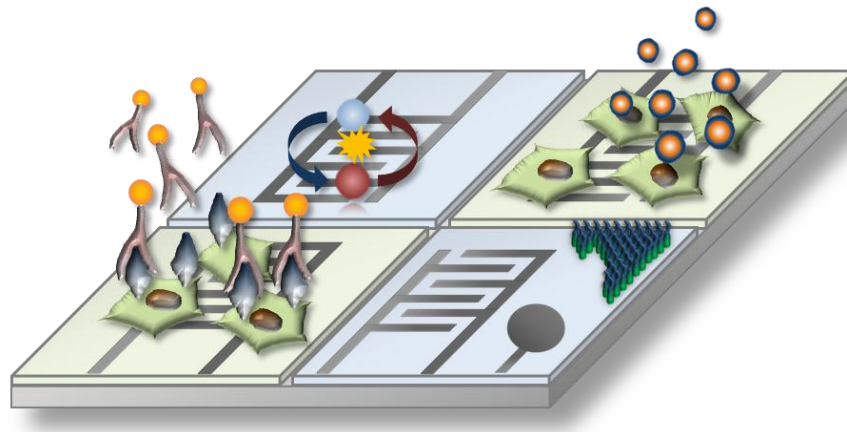


Abbildung 5 Schematischer Aufbau eines Bio-Sensorchips zur Überwachung der Vitalparameter und der Zellmorphologie. Die anvisierten Grundlagenexperimente sollen zunächst mit einer ausgewählten Teilfunktionalität (Sensorspot „oben, rechts“) durchgeführt werden.



## **Gassensorik für den qualitativen und quantitativen Nachweis von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> für aseptische Verpackungen im Bereich der Lebensmitteltechnologie**

Gasförmiges Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) wird zunehmend bei Sterilisations- und Desinfektionsbehandlungen unterschiedlicher Objekte, wie z. B. in der Medizintechnik, bei pharmazeutischen Produkten im Gesundheitssektor oder in der Nahrungsmittelindustrie (z. B. Verpackungen von Getränken und Lebensmitteln) als Sterilisations- bzw. Desinfektionsmittel verwendet. Grund hierfür ist, dass die aus der chemischen Reaktion herrührenden Abbauprodukte Sauerstoff und Wasser wesentlich ökologischer und ökonomischer sind als bei anderen bekannten Sterilisationsmitteln (z. B. Formaldehyd, Glutaraldehyd, Ethylenoxid). Während des Sterilisationsvorgangs ist besonders darauf zu achten, dass die Oberfläche des Sterilisationsguts vollständig mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Dampf in Berührung kommt und die H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Konzentration gleichzeitig homogen verteilt ist, um eine gleichmäßige Sterilisationswirkung zu erzielen. Aseptische Verpackungen werden vor der Befüllung mit dem jeweiligen Produkt (z. B. Fruchtsäfte, Milch) sterilisiert, um insbesondere Lebensmittelverderber und pathogene Mikroorganismen zu inaktivieren. Damit die hohen Anforderungen der aseptischen Verpackungstechnik erfüllt werden können, müssen geeignete messtechnische Methoden zur Erfassung der H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Konzentrationen spezifiziert werden. Derzeit wird am INB ein miniaturisiertes Sensorsystem realisiert, das implementiert an oder in einer Testverpackung, die Sterilisation von Lebensmittelverpackungen in der Prozesskette überwacht. Hierfür wurde ein kalorimetrischer Gassensor auf Chip Ebene zur Detektion von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Dampf ausgelegt (siehe Abbildung 6, links) und gleichzeitig eine passive RFID-Elektronik zur berührungslosen Signalübertragung zwischen dem Sensor und einer externen Send-/Empfangseinheit entwickelt. Beide Komponenten, Sensor und RFID-Elektronik, sollen zu einem Hybridsystem in einer Lebensmittelverpackung integriert werden. Mit dieser „intelligenten“ Lebensmittelverpackung („Intellipack“) kann der Sterilisationsprozess „in line“ in aseptischen Abfüllanlagen überwacht werden. Ein zweiter Lösungsansatz fokussiert auf der Entwicklung eines Multi-Sensorsystems (siehe Abbildung 6, rechts) zur Erfassung des Wirkungsgrades von aseptischen Sterilisationsprozessen mittels H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Dampf. Hierzu wird zunächst die Sterilisationswirkung mithilfe von mikrobiologischen Tests bestimmt. Zeitgleich werden Messungen mit verschiedenen Gassensoren durchgeführt. Über ein multivariablen Verfahren werden die Ergebnisse der mikrobiologischen Tests zusammen mit den erzeugten Sensorsignalen analysiert. Hierbei soll ein Zusammenhang zwischen der Sterilisationswirkung und den Sensorsignalen hergestellt werden. Ist das Sensorsystem ausreichend trainiert, lässt sich die Sterilisationswirkung künftig anhand der Sensorsignale ohne die Durchführung mikrobiologischer Tests

bestimmen. Das Sensorsystem stellt somit eine zeit- und kostensparende Alternative zu den mikrobiologischen Tests dar.



Abbildung 6 Zwei unterschiedliche Sensorkonzepte zur Validierung der H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Sterilisation in Lebensmittelverpackungen (schematisch); links ist der kalorimetrische Sensorchip in Differenzanordnung zu erkennen, rechts die Multi-Sensoranordnung.

## Fazit

Neben einem breiten Methodenspektrum und einer weit gefächerten Infrastruktur aus verschiedenen Forschungs- und Entwicklungslaboratorien, besteht innerhalb des INB's Expertise durch mehr als 40 langjährige wissenschaftliche Kooperationen zu nationalen und internationalen Hochschulen, Forschungseinrichtungen und Partnern aus der Industrie. Bei den durchgeführten Forschungsprojekten liegt dabei ein besonderer Fokus auf der Einbindung von etwa einem Dutzend Doktorandinnen und Doktoranden in die weltweit vernetzten Forschungsaktivitäten. Ein gemeinsames, kooperatives „Brückenlabor“ mit dem Peter Grünberg Institut des Forschungszentrum Jülichs eröffnet darüber hinaus die Möglichkeit, auch neueste Dünnschicht- und Siliziumtechnologien sowie Oberflächen- und Schichtcharakterisierungsverfahren zielgerichtet einzusetzen. Als möglicher Partner des INBs profitieren Sie dabei von der

Zusammenarbeit mit einem eingespielten, interdisziplinären und fachbereichsübergreifenden Team als kompetentem Ansprechpartner: Nano- und Biotechnologien – Forschen für die Herausforderung von morgen.

### **Danksagung**

Die Autoren möchten sich bei folgenden Institutionen für die teilweise finanzielle Unterstützung der vorgestellten Forschungsvorhaben bedanken: Bundesministerium für Bildung und Forschung, Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz, Deutscher Akademischer Austauschdienst, Alexander von Humboldt Stiftung. Darüber hinaus danken die Autoren insbesondere M. Bäcker, S. Beging, C. Huck, P. Kirchner S. Groebel, S. Reisert, T. Schnitzler und C.F. Werner für die technische Unterstützung.