

B2: Bioaffinitätssensor auf Hydrogel-Basis zum Nachweis von Biomolekülen M. Günther (IFE) in Kooperation mit D. Appelhans (IPF) und D. Franke (IFE)

Motivation:

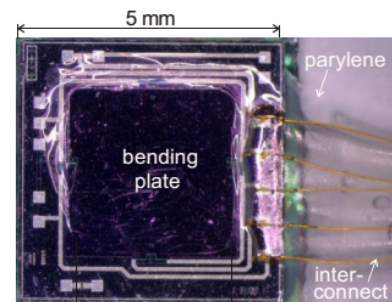
In Biosensoren für die medizinische Immundiagnostik werden Polymernetzwerke mit Biorezeptormolekülen für den Nachweis spezifischer Analytmoleküle verwendet. Die Biomoleküle können in polyelektrolytische Hydrogelschichten eingebaut und damit immobilisiert werden. Durch eine spezifische Bindung von Polyelektrolytgelen mit Biomolekülen entstehen dreidimensionale Sensorsysteme mit einer hohen Anzahl von Bindungsplätzen. Die Hydrogele mit selektiven Schlüssel-Schloss-Molekülkonfigurationen (z.B. Antikörper-Antigen-Bindung, Sequenzen von Nukleinsäuren) dienen zur Detektion bestimmter Analytmoleküle (z.B. Antigen-Moleküle bzw. DNA).

Die Aptamere (synthetisch hergestellte, einzelsträngige Nukleinsäure-Oligomere) binden ihr Zielmolekül mit einer vergleichbaren oder sogar besseren Selektivität, Spezifität und Affinität als Antikörper und können zielgerichtet chemisch modifiziert werden. Als biologische Erkennungselemente werden passende Aptamere in Biosensoren für die Blutgerinnungsfaktoren II (Prothrombin), IIa (Thrombin) und Xa eingesetzt.

Stand der Forschung und eigene Vorarbeiten:

In den Vorarbeiten konnte gezeigt werden, dass sich Hydrogele sehr gut für Anwendungen in piezoresistiven biochemischen Sensoren eignen [1-3]. Es wurde demonstriert, dass die elektrische Ausgangsspannung der aufgebauten Sensoren direkt dem Quellverhalten der Hydrogele entspricht. In ersten Tests mit dem Human-Serum Albumin (HSA) haben sich fotovernetzbare polykationische Blockcopolymerer von Poly-*N*-Isopropylacrylamid für die Detektion von Proteinen in wässrigen Lösungen als geeignet erwiesen. Die in piezoresistiven Sensoren auftretende Verringerung der Gelquellung in Anwesenheit von HSA kann durch Komplexbildung mit Proteinen erklärt werden [2].

Allerdings sind bis zur realen Anwendung für konkrete Einsatzgebiete noch einige wichtige Fragen zu klären [3] und Konstruktionsvarianten abzuleiten, die eine einfache integrierte Herstellung mit einem effektiven und langzeitstabilen Packaging ermöglichen.



*Hydrogel-basierter
biochemischer Sensor*

Wissenschaftliche Fragestellung und Projektziele:

Im Rahmen des Projektes sollen Aptamer-Hydrogele entwickelt werden, die spezifisch Thrombin binden. In einer Lösung mit Analytmolekülen führt die Bindung zwischen dem Analytmolekül Thrombin und dem Schloss-Molekül Aptamer zu einer Gelentquellung. Die Reversibilität dieses Prozesses kann durch die Verwendung einer speziellen Spüllösung während einer Regenerierungsphase erreicht werden. In piezoresistiven biochemischen Sensoren wird das Quellverhalten des Hydrogels mittels einer elektrischen Ausgangsspannung überwacht. Ziel ist es dabei, einen Biosensor für den Blutgerinnungsfaktor Thrombin für Anwendungen in der medizinischen Diagnostik und Therapie zu entwickeln.

Dazu sind folgende Fragestellungen zu lösen:

- Immobilisierung der Aptamer-Moleküle im Hydrogel als Voraussetzung für die nachfolgende, spezifische Bindung des nachzuweisenden Analyten
- Nachweis der spezifischen Bindung Aptamer-Thrombin mit Hilfe der Oberflächenplasmonenresonanz-Methode, die die Veränderungen des Brechungsindex der Hydrogelschicht, hervorgerufen durch die Bildung des Immunkomplexes, ohne zusätzliche Modifizierung der Reaktionspartner erfassen kann
- Hydrogelvernetzungsverfahren und Immobilisierung des funktionalisierten Gels in piezoresistiven Sensorchips
- Anwendung geeigneter Aufbau- und Verbindungstechniken zum direkten und robusten Sensoranschluss an Flüssigkeitsprobenvolumina
- Ermittlung einer Nachweisgrenze des Thrombins und Erstellung der Kalibrierungskurven
- geeignete Methoden zur Gestaltung der Mess- und Kalibriervorgänge, um das Optimum zwischen der Ansprechzeit und der Sensitivität des Gels zu erreichen.

Literatur:

- [1] Guenther M., Wallmersperger T., Gerlach G., Chemosensors, 2 (2014) 145-170
- [2] Guenther M., Gerlach G., Wallmersperger T., Microsystem Technologies, 16(5) (2010) 703-715
- [3] Guenther M., Wallmersperger T., Keller K., Gerlach G., in: Intelligent Hydrogels, Eds.: Sadowski G., Richtering W., Springer Series on Progress in Colloid and Polymer Science, vol. 140, Springer International Publishing, 2013, pp. 265-273.