



LESEPROBE
Biochemical Sensors

Dott. Alberto Pasquarelli

Institut für Elektronische Bauelemente und Schaltungen
Fakultät für Ingenieurwissenschaften, Informatik und Psychologie
Universität Ulm

1 Modulinhalt

Modulnummer	4.4
Modultitel	Biochemical Sensors / Biochemische Sensoren
Modulkürzel	BioS
Studiengang	Biopharmazeutisch-Medizintechnische Wissenschaften (M.Sc.)
Ort der Veranstaltung	Universität Ulm
Modulverantwortlichkeit	Dott. Alberto Pasquarelli
Lehrende	Dott. Alberto Pasquarelli
Voraussetzungen	Grundlagenkenntnisse in Chemie und Biochemie sind erwünsch
Verwertbarkeit	Das Modul komplettiert die in Modul 4.3 "Bioanalytical Methods" und in Modul 3.2a "Methoden der Molekularbiologie: Anwendungsbeispiele" zu erwerbenden Kenntnisse mit speziellem Blick auf die Sensorik. Es werden Grundlagen, Wirkweisen und Anwendungsbe- reiche von Biosensoren und die Befähigung, eigenständig Sensor- konzepte zu entwerfen, vermittelt.
Semester (empfohlen)	Wintersemester (1 o. 2)
Max. Teilnehmerzahl	25
Art der Veranstaltung	☐ Präsenzveranstaltung(en) ☒ Präsenzveranstaltung(en) mit E-Learning-Elementen ☐ Präsenzveranstaltung(en) im Labor mit E-Learning-Elementen ☐ reine E-Learning-Veranstaltung(en)
Veranstaltungssprache	☒ Deutsch, ☒ Englisch, ☐ Weitere, nämlich:
ECTS-Credits	6 Credits
Prüfungsform und -umfang	☒ Klausur, ☐ Referat, ☐ Kolloquium, ☐ Posterpräsentation, ☐ Podiumsdiskussion, ☐ Mündliche Einzel-/ Gruppenprüfungen, ☐ Essay, ☐ Forumsbeitrag, ☐ Übungen, ☐ Wissenschaftspraktische Tätigkeit, ☐ Bachelor- und Masterarbeit ☐ Haus-/ Seminararbeit, ☐ Einzel-/Gruppenpräsentation, ☐ Portfolio, ☐ Protokoll, ☐ Projektarbeit, ☐ Lerntagebuch/ Lernjournale <u>Umfang der Prüfung:</u> 120 min Klausur
Lernziele	Fachkompetenz Students can describe basic principles, mechanisms of action and applications of biosensors in different scenarios.

	After taking this module, participants are able to explain the chemical and physical fundamentals of biosensing. Students assess the clinical and industrial applications, differentiate biosensor market sectors regarding technical and economical properties, e.g. commodities for everyday consumer needs or professional equipment for research. Methodenkompetenz Students are further able to analyze biosensors, break-down complex sensors in their elementary components and identify and evaluate every individual function in the information flow, from recognition to transduction and transmission. Students are capable of predicting the effects of elementary components in an integrated biosensor application. Selbst- und Sozialkompetenz Furthermore, students are able to reflect and critically analyze research in the field of biosensors. Finally students are capable of developing appropriate concepts and designs for given biosensing problems in industry and academia. They are further able to independently derive original solutions for new problems.
Lehrinhalte	- Introduction to biosensors - Review of the basics of chemistry and molecular biology - Biological detection methods: catalytic, immunologic, etc. - Physical transduction methods: electrochemical, optical, gravimetric, etc. - Immobilization techniques: adsorption, entrapment, cross-linking, covalent bonds - Biochip technologies: DNA and protein chips, Ion-channel devices, MEA and MTA, Implants - Student seminars - Laboratory practice with experimental demonstrations and quantitative determinations of analytes
Literatur	- Marks R.S. et al., Handbook of Biosensors and Biochips, Wiley, 2007 - Gizeli E. and Lowe C.R., Biomolecular Sensors, Taylor & Francis, 2002

2 Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis

1

Einführung

1.1	Biosensoren	8
1.2	Die Entwicklung von Biosensoren	9
1.3	Biosensorkomponenten	11
1.3.1	Biologische Komponente	11
1.3.2	Physikalische Komponente	12
1.3.3	Schnittstellenkomponente	12
1.4	Bedeutung von Biosensoren und ihr Marktpotenzial	13
1.4.1	Allgemeine Randbedingungen	15
1.4.2	Nachfrage-Faktoren	16
1.4.3	Synergetische Technologien	16
1.5	Anwendungen	17
1.5.1	Gesundheitsfürsorge	17
1.5.2	Umweltüberwachung	18
1.5.3	Prozessüberwachung und Prozesskontrolle	19
1.5.4	Qualitätskontrolle bei Lebensmitteln	20
1.6	Zukunftsentwicklungen	20
1.6.1	Gesundheitsfürsorge	20
1.6.2	Umwelt und Bio-Kriegsführung	20
1.6.3	Lebensmittelqualitätskontrolle	21

2 Biorezeptoren

2.1	Proteinbasierte Rezeptoren	23
2.2	Synthetische Rezeptoren	24
2.3	DNA-Rezeptoren	25
2.4	Rezeptoren auf Basis ganzer Zellen	25
2.5	Gewebe und Organe	26
2.6	Chemische Bindungen	27
2.6.1	Kovalente Bindung	28
2.6.2	Polare kovalente Bindung	28
2.6.3	Wasserstoff-Bindung	29
2.6.4	Unpolare kovalente Bindung	29
2.6.5	Van-der-Waals-Anziehung	30
2.6.6	Hydrophobe Wechselwirkung	30
2.6.7	Ionische Bindung	31
2.6.8	Disulfid-Bindung	31
2.6.9	Bindungsenergie im Wasser	32
2.7	Standard-Aminosäuren	32
2.8	Peptide, Polypeptide und Proteine	33
2.9	Proteine	34
2.9.1	Primäre Struktur	34
2.9.2	Sekundäre Struktur	35
2.9.3	Tertiäre Struktur	36
2.9.4	Quaternäre Struktur	37

3 Katalytische Biosensoren

3.1	Reaktionskatalyse	44
3.1.1	Michaelis-Menten-Gleichung	47
3.2	Enzymaktivität	50
3.3	Kalorimetrische Biosensoren	52
3.4	Elektrochemische Biosensoren	55
3.4.1	Elektrodeneigenschaften	55
3.4.2	Potentiostat	57
3.4.3	Potentiometrische Biosensoren	57
3.4.4	Amperometrische Biosensoren	61

4 Affinitätsbiosensoren

4.1	Immunsensor	67
------------	--------------------	-----------

4.2	Immunsystem	68
4.2.1	Antigen und Epitop	68
4.2.2	Antigen-Erkennungsmechanismus und Antikörperaussonderung	68
4.3	Immunassay	72
4.3.1	Kompetitiver Immunassay	74
4.3.2	Assay-Markierung	75
4.3.3	Fluoreszenz	75
4.3.4	Enzym-Markierung	79
4.3.5	Chemolumineszenz	81
4.3.6	Beispiele homogener Immunassays	82
4.3.7	Radioimmunassay (RIA)	85
4.3.8	Flashplate®-Technologie	85

5 **Optische Biosensoren**

5.1	Grundkomponenten	88
5.1.1	Lichtquellen	88
5.1.2	Optische Faser und Wellenleiter	90
5.1.3	Optische Detektoren	90
5.2	Messung optischer Eigenschaften	91
5.2.1	Absorption und Spektroskopie	91
5.2.2	Lumineszenz- und Fluoreszenz-Biosensoren und optische Faser	94
5.2.3	Lichtbrechung	95
5.2.4	Interne Totalreflexion	96
5.2.5	Evaneszente Welle	97
5.2.6	Interne Totalreflexionsfluoreszenz (TIRF)	97
5.2.7	TIRF-Mikroskopie	98

6 **Labelfreie Biosensoren**

6.1	Mach-Zehnder-Interferometer	103
6.2	Oberflächenplasmon-Anregung	104
6.2.1	Oberflächenplasmon-Resonanz	106
6.2.2	SPR-Affinitätsbiosensor	107
6.2.3	Biacore™	108
6.3	Gravimetrische Biosensoren	110
6.3.1	Cantilever-Biosensoren	110
6.3.2	BAW-Sensor (Bulk Acoustic Wave)	112
6.3.3	Quarz-Kristall-Mikrobalance (QCM)	114
6.3.4	QCM-D Prinzip	116
6.4	Akustische Oberflächenwellen	118
6.4.1	SAW-Sensor	119

7 Biorezeptor-Immobilisierung

7.1	Immobilisierungsmethoden	122
7.2	Adsorption	123
7.2.1	Oberflächenmodifikation	125
7.3	Gefangenheit (Entrapment)	127
7.3.1	Einfangen hinter Membranen	127
7.3.2	Einfangen innerhalb leitender Polymere	127
7.3.3	Einfangen in Hydrogel	129
7.4	Kovalente Bindung	130
7.4.1	Kopplung an Carbonsäuren (Carboxyl-Gruppen)	130
7.4.2	Reaktionen unter Aldehyd-Beteiligung	131
7.4.3	Reaktionen unter Thiol-Beteiligung	132
7.4.4	Reaktionen unter Amin-Beteiligung	133
7.5	Selbstorganisierende Monoschichten (SAMs)	134
7.5.1	Sterisches Hindernis	135
7.5.2	Langzeit-Stabilität	136
7.5.3	Immobilisierungsprotokoll eines Ligands auf Goldoberfläche	137
7.5.4	Optimierung der Immobilisierung	138
7.6	Regeneration	140
7.6.1	Einstellung der optimalen Regenerationsbedingungen	140
7.7	Zusammenfassung	142

8 Biochips

8.1	DNA	145
8.1.1	Gen	146
8.1.2	Genetischer Code	147
8.1.3	Anwendungen der funktionalen Genomforschung	148
8.1.4	Genexpression	148
8.2	RNA	149
8.3	cDNA	150
8.3.1	Vervielfältigung durch Klon-Vektor	152
8.3.2	Vervielfältigung durch PCR	152
8.3.3	Gel-Elektrophorese	154
8.3.4	PCR-Parameteroptimierung	155
8.4	DNA-Chips	156
8.4.1	Phosphoramidit-Synthese	156
8.4.2	Chip-Funktionalisierung durch DNA-Spotter	158
8.4.3	Lithographische Funktionalisierung - I	158
8.4.4	Lithographische Funktionalisierung - II	159
8.5	Fluoreszenz-Auslesen	160

9 Analyse des Fluoreszenz-Signals

9.1	Analyse-Software	164
9.1.1	Normalisierung	165
9.2	Clusterbildung	168
9.3	Protein-Biosynthese	169
9.3.1	Protein-Mikroarrays	171
9.3.2	3D-Immobilisierung	172
9.4	Detektionsmethoden	172
9.4.1	MALDI-TOF MS	173
9.4.2	SELDI-TOF MS	174
9.4.3	AFM (Atomic Force Microscopy)	174
9.4.4	ProCAT (protein chip analysis tool)	175
9.5	Membrankanäle	176
9.5.1	Ionenkanäle	177
9.6	Patch-Clamp-Technik	178
9.7	Ionenkanäle und Herzphysiologie	179
9.7.1	Das Long-QT-Syndrom	181
9.7.2	hERG-Pharmakologie	182
9.7.3	Instrumentation	182

10 Erbgut-Sequenzierung mit Nanoporen

10.1	DNA-Sequenzierung	185
10.2	α-Hämolysin	186
10.3	DNA-Sequenzierung mittels einer synthetischen Nanopore	190

11 MEA und Implantate

11.1	MEA	194
11.2	Implantate - Neurale Schnittstellen und Prothesen	199
11.2.1	DBS	200
11.2.2	Retinale Implantate	201

3 Leseprobe

1

Einführung

1.1	Biosensoren	8
1.2	Die Entwicklung von Biosensoren	9
1.3	Biosensorkomponenten	11
1.4	Bedeutung von Biosensoren und ihr Marktpotenzial	13
1.5	Anwendungen	17
1.6	Zukunftsentwicklungen	20

1.1 Biosensoren

8

In diesem Kapitel erhalten Sie einen Überblick über die Funktionsweise von Biosensoren und ihre Entstehungsgeschichte sowie die unterschiedlichen Typen und ihre Eigenschaften. Weiter werden Sie die Bedeutung und das Potenzial dieser Sensoren sowie ihre wichtigsten Anwendungsgebiete kennenlernen. Sie werden dann in der Lage sein, die Vorteile beim Einsatz von Biosensoren zu erklären, einige Anwendungsfelder zu benennen und Aussagen zur Entwicklung von Biosensoren zu treffen.

1.1 Biosensoren

Ein Biosensor ist eine Analysevorrichtung, die eine biologische Reaktion in ein elektrisches Signal umwandelt. Der Begriff Biosensor wird auch oft verwendet, wenn ein Sensor zur Messung biologischer Parameter verwendet wird, auch wenn dieser selbst keine biologischen Rezeptoren enthält.

Die Biorezeptoren sind im Allgemeinen sehr spezifisch und für eine bestimmte Anwendung maßgeschneidert.

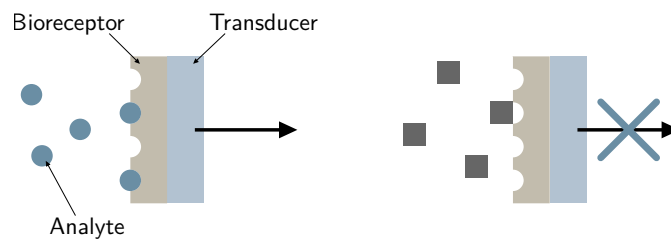


Abbildung 1.1: Erkennt der selektive Biorezeptor die Substanz, wird ein Signal erzeugt (links). Ein unbekannter Analyt verursacht dagegen kein Signal am Ausgang (rechts)

Ein Biosensor-System besteht im Allgemeinen aus

- a) einem Biorezeptor,
- b) einem Transducer, der ein elektrisches Signal liefert (z.B. Elektroden),
- c) einer Verstärker-Einheit,
- d) einer Verarbeitungseinheit,
- e) einer Anzeige

1.2 Die Entwicklung von Biosensoren

9

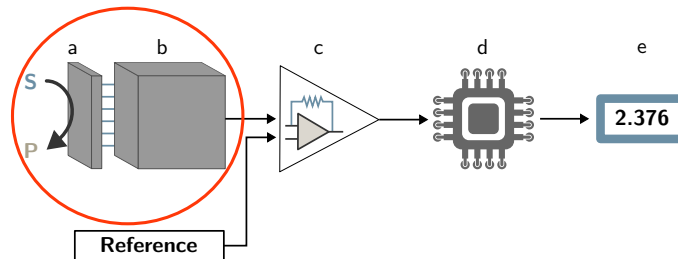


Abbildung 1.2: Das Biosensor-System. Wir beschäftigen uns in diesem Kurs hauptsächlich mit den Einheiten a und b (rot eingekreist).

Frage 1 Was ist ein Biosensor? Aus welchen Komponenten besteht typischerweise ein Biosensor-System?

1.2 Die Entwicklung von Biosensoren

Die Biosensoren kombinieren die Selektivität der Biologie mit der Verarbeitungsleistung moderner Mikroelektronik womit uns leistungsfähige Diagnosewerkzeuge zur Verfügung stehen. Idealerweise sollten Biosensoren – im Vergleich zur herkömmlichen Analysemethoden – bessere Messungen und Analysen ermöglichen.

Vorteile und Einsatzgebiete von Biosensoren

Die Vorteile dabei:

- kleinere Proben notwendig
- sind empfindlich, selektiv und spezifisch
- einfacher zu verwenden
- schnellere Verfahren
- kostengünstiger
- ermöglichen Online-Monitoring

Die typischen Einsatzgebiete für Biosensoren sind:

- Medizin (z.B. klinische Diagnostik)
- pharmazeutische Medikamentenanalyse
- Industrieprozesse
- Nahrungsmittelkontrolle
- Umweltüberwachung
- Überwachung biologischer und chemischer Bedrohungen (Terror- oder Kriegsangriffe)

1.2 Die Entwicklung von Biosensoren

10

Im Folgenden sehen Sie einige Meilensteine bei der Entwicklung von Biosensoren:

- 1956 – L. D. Clark entwickelt die Sauerstoff-Elektrode. 1962 präsentierte er auf dieser Basis einen Glukose-Sensor zur Online-Überwachung des Blutzuckers während einer Operation.
- 1969 – Guilbault und Montalvo berichten von dem ersten potentiometrischen Biosensor, einem Harnstoffsensor auf Basis der Urease.
- 1972/1975 – Yellow Springs bietet das erste kommerziell erhältliche Blutzuckermessgerät auf Basis der Ideen von Clark an.
- 1974 – Mosbach schlug die Verwendung von Enzymen mit thermischen Transducern für Biosensoren vor.
- 1975 – Divis schlug die Verwendung von Bakterien als biosensitive Elemente zur Messung von Alkohol vor.
- Lubbers und Opitz beschreiben den ersten optischen Biosensor, einen funktionalisierten Faseroptik-Sensor mit immobilisiertem Indikator (Optode).
- 1976 – Clemens et al. bauten einen Glukose-Biosensor in einer stationären, künstlichen Bauchspeicheldrüse. Roche führte den Lactate-Analyser LA 640 ein, der Eisenhexacyanoferrat (Berliner Blau) als Vermittler für Elektronentransfer verwendete.
- 1982 – Shichiri et al. beschreiben den ersten nadelförmigen Glukose-Biosensor für die Implantation unter der Haut.
- 1983 – Liedberg beschreibt Echtzeit-Monitoring Affinitätsreaktionen durch „surface plasmon resonance“ (SPR).
- 1984 – Ferrocen wurde als ein immobilisierter Mediator für Verwendung mit Oxidoreduktasen beim Bau von kostengünstigen Geräten vorgestellt und führte zu im Siebdruckverfahren hergestellte Enzymelektroden durch MediSense in 1987 für private Blutzuckermessung. Die Verkaufszahlen von MediSense erhöhten sich exponentiell und erreichten US\$ 175 Millionen in 1996 als MediSense von Abbott übernommen wurde. Roche Diagnostics (früher Boehringer Mannheim) und Bayer bieten nun ähnliche Biosensoren und diese drei Firmen dominieren den Weltmarkt für Biosensoren für Heimanwendung mit 85% Marktanteil.
- 1990 – Pharmacia bot the BIAcore an (basiert auf SPR). GE-Healthcare übernahm 2006 BIAcore.

Frage 2 Nennen Sie einige Vorteile sowie Einsatzgebiete für Biosensoren.

1.3 Biosensorkomponenten

Ein Biosensor besteht normalerweise aus drei Komponenten:

Biosensoraufbau

- Biologischer Komponente (Biorezeptor): z.B. Enzymen, Mikroorganismen, Antikörper, Proteinen, DNA-Arrays, Chemorezeptoren, Gewebe oder Organelle
- Physikalischer Komponente (Transducer/Umwandler): z.B. Amperometrisch, Potentiometrisch, Halbleiter, Thermometrisch, Fotometrisch oder Piezoelektrisch
- Schnittstellenkomponente (Polymerschicht, chemisch modifizierte Oberfläche) als Verbindung zwischen den beiden anderen Komponenten

1.3.1 Biologische Komponente

Die biologische Komponente reagiert oder interagiert mit der zu detektierenden spezifischen Substanz. Wir teilen die biologischen Komponenten in zwei Gruppen ein: katalytische und nichtkatalytische Gruppen. Enzyme, Mikroorganismen und Gewebe gehören der ersten Gruppe an während Antikörper, Membran-Rezeptoren, Nucleinsäuren und synthetische Rezeptoren zur zweiten Gruppe gehören.

Enzyme sind Proteine, die ein Substratmolekül erkennen und seine Umwandlung zum Produktmolekül durch eine chemische Reaktion beschleunigen (Katalyse, Beschleunigung bis zu 10^{14} -fache) ohne das Reaktionsgleichgewicht zu beeinflussen. Das Signal ist hier entweder indirekt z.B. Änderung von pO_2 , pH, H_2O_2 , Farbe, Temperatur etc. oder direkt durch direkten Elektronentransfer von den Redox-Enzymen (siehe Abbildung unten).

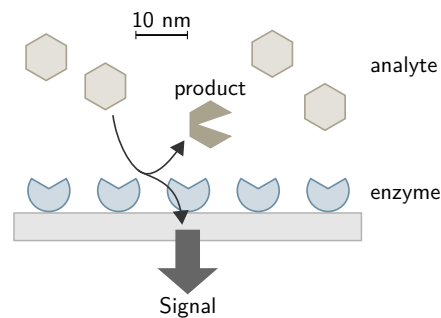


Abbildung 1.3: Katalyse durch Enzyme und Abgabe eines Signals

Antikörper sind ebenfalls Proteine (Immunoassay):

- Sie sind Y-förmige Immunglobuline mit einer spezifischen Bindungsstelle (Fab).
- Sie werden als natürliche Erkennungsmoleküle von dem Immunsystem eines Körpers produziert.

1.3 Biosensorkomponenten

12

- Sie sind in der Lage, bestimmte Antigene (Viren, Mikroben) zu binden.
- Der Signalausgang ist gravimetrisch, optisch etc.

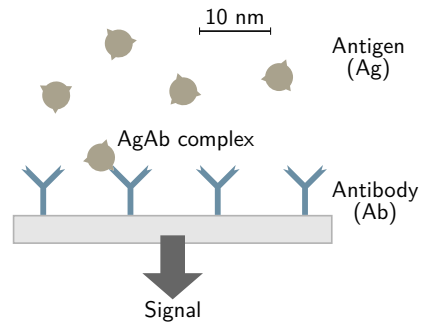


Abbildung 1.4: Antikörper-Antigen-Bindung

Frage 3 Was ist die Funktion der biologischen Komponente eines Biosensors?
Welche Eingruppierung kennen Sie für diese Komponente?

1.3.2 Physikalische Komponente

Die physikalische Komponente wandelt die biochemische Reaktion oder Interaktion in ein quantifizierbares und verarbeitbares elektrisches Signal um. Diese kann eine einfache elektrochemische Vorrichtung oder ein komplexes, multitechnologisches Instrument sein und die Signalumwandlung kann auf unterschiedliche Methoden basieren:

- pH-metrisch
- amperometrisch
- potentiometrisch
- kalorimetrisch
- thermisch
- optisch
- gravimetrisch
- etc.

1.3.3 Schnittstellenkomponente

Die Schnittstellenkomponente verbindet die biologische Komponente mit dem Transducer. Sie kann zum Immobilisieren des Biorezeptors herangezogen werden. Weiterhin kann sie im Falle von labilen, toxischen oder aggressiven Substanzen eine selektive oder protektive Funktion übernehmen (Bsp. Dünnschichtmembrane), oder vor Signalfehlern schützen. Beispiele sind Membrane, leitfähige

1.4 Bedeutung von Biosensoren und ihr Marktpotenzial

13

Polymere, Gelmatrix, selbst-organisierte Monolayer (self-assembled monolayer SAM) von Quervernetzern.

Die folgende Abbildung zeigt den Aufbau eines Glukose-Biosensors als klassisches Beispiel für das Zusammenwirken der drei Komponenten in einem Biosensor.

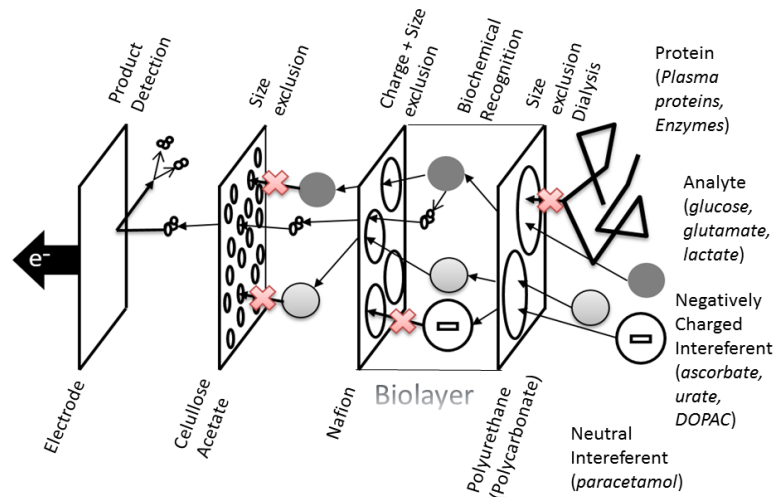


Abbildung 1.5: Aufbau eines Glukose-Biosensors

Frage 4 Welche Methoden kennen Sie für die Signalumwandlung der physikalischen Komponente?

1.4 Bedeutung von Biosensoren und ihr Marktpotenzial

Biosensoren sind in der Lage, viele Bereiche zu beeinflussen. Ihre Haupteinsatzfelder sind in der Medizin, Umweltüberwachung, Kontrolle der Lebensmittel oder industrieller Prozesse. Die Blutzuckermessung bei Diabetikern spielt eine zentrale Rolle bei der Forschung und erfolgreichen kommerziellen Verbreitung von Biosensoren. Der Diabetesmarkt ist bei weitem der größte Biosensormarkt, welcher durch zwei Merkmale unterstützt wird: Große Verbreitung der Krankheit in der Bevölkerung (weltweit 2%, in einigen Ländern bis zu 6%) und die Notwendigkeit der wiederholten Messungen (2- bis 4-mal pro Tag). Als Vergleich bräuchte man nur eine Cholesterinmessung pro Woche oder gar pro Monat, obwohl ein großer Bevölkerungsanteil diese benötigt.

Die Entwicklung der Biosensoren über die letzten 40 Jahre beginnt mit der

Bedeutung und Marktpotenzial von Biosensoren

1.4 Bedeutung von Biosensoren und ihr Marktpotenzial

14

Entwicklung des Biosensor-Konzepts als einfache, spezifische, robuste, kostengünstige, portable und einfach zu benutzende Technologie über die erste Generation mit dem Schwerpunkt Integration, die Sensorsysteme, Integration von mehreren Schritten und mehrfache Analyten hervorbrachte und zeitgleich teuer war und trainierte Anwender und Laborumgebung erforderte bis zu der zweiten Generation mit dem Schwerpunkt Miniaturisierung, die kleinere integrierte Systeme, Massenproduktion und billigere Komponenten ermöglichte.

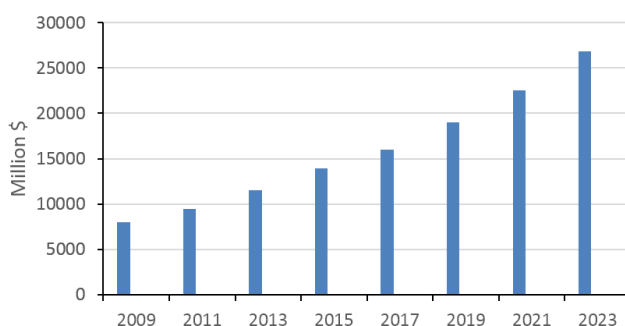


Abbildung 1.6: Die Prognose von „Frost & Sullivan“ für Biosensoren aus dem Jahr 2009

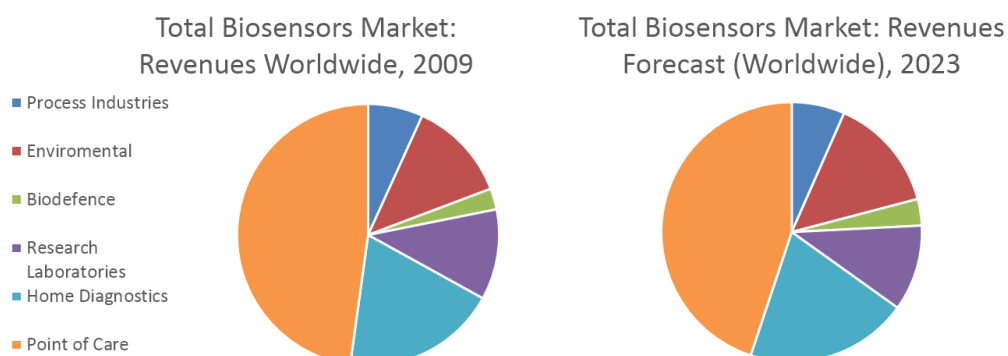


Abbildung 1.7: Die Verteilung des Markts für Biosensoren bleibt zwischen 2009 und 2023 weitgehend unverändert.

Die Schlüsselp Parameter, die die Entwicklung des Marktes beeinflussen, sind in der folgenden Abbildung dargestellt. Dabei sind die Synergie-Effekte mit anderen Technologien, die Nachfrage in bestimmten Testgebieten, die allgemeinen Randbedingungen, die konkurrierenden Technologien, die gesetzlichen Anforderungen und die nötigen Ressourcen zu nennen.

1.4 Bedeutung von Biosensoren und ihr Marktpotenzial

15

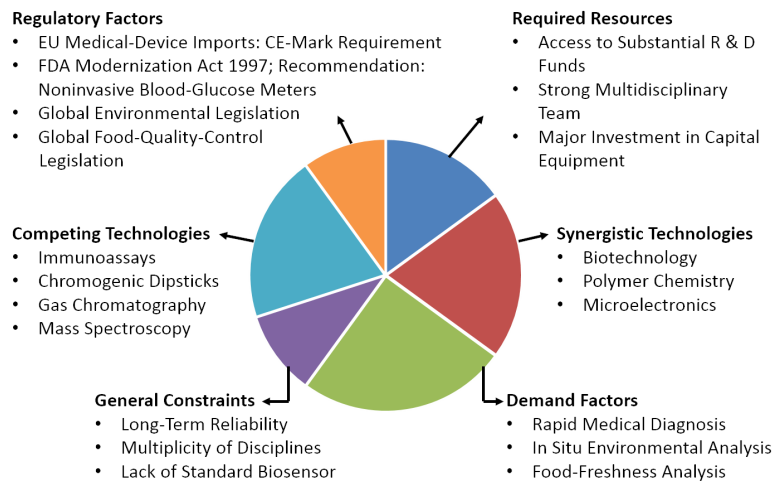


Abbildung 1.8: Die sechs Parameterfamilien, die die kommerzielle Entwicklung von Biosensoren beeinflussen

Wir behandeln in dieser Vorlesung hauptsächlich die drei rot eingekreisten Kategorien in der oberen Abbildung.

1.4.1 Allgemeine Randbedingungen

Hier listen wir einige Randbedingungen und ihre Einflüsse auf die Entwicklung auf:

- Zeitlich niedrige Beständigkeit und kurze Haltbarkeitsdauer bedeuten teure Einzelgebrauch-Geräte.
- Angst vor schnellem Rückgang des Profits, wenn Biosensoren verbreitete Handelsgüter würden, zögerten die Hersteller bei Herstellungsverpflichtungen.
- Da momentan keine „Standard“-Multifunktion-Biosensoren für ein breites Spektrum von Anwendern existieren, führt dies zur Konzentration auf Märkte mit hohem Nachfragepotenzial z.B. für Blutzuckermessung.
- Bislang werden die meisten finanziellen Mittel in die Entwicklung der Technologie investiert und die Vermarktung bleibt vernachlässigt. Daher sind rentable Produkte eher Mangelware.
- Die Forschung und Entwicklung von Biosensoren erfordern vielfältige Kompetenzen (Halbleiter, Elektrochemie, Optik, Polymerchemie, Mikrobiologie, Biochemie etc.). Daher besitzen nur wenige Firmen oder Institutionen die Ressourcen, um solche multidisziplinäre Teams zusammen zu stellen.

1.4.2 Nachfrage-Faktoren

Die Entwicklung wird aber andererseits durch Nachfrage getrieben. Der größte Antrieb ist dabei die Gesundheitsfürsorge. Medikamentenentwicklung, Umweltverschmutzung und Lebensmittelanalyse sind weitere Anwendungsgebiete. Unten sind jeweils einige spezielle Anwendungsfälle aufgeführt:

- Gesundheitsfürsorge: Schnelle Verbreitung von Diabetes, schnelle Überwachung der Hochrisikomedikamenten bzgl. Nebenwirkungen, schnelle Diagnose bei Schwerkranken, schnelle In-situ-Analyse von kritischen Parametern.
- Medikamentenprüfung: Vorklinische Giftigkeitstests, Überwachung während der klinischen Tests, Qualitätskontrolle bei der Medikamentenproduktion.
- Umweltverschmutzung: zunehmendes Bedürfnis für Umwelt-Überwachung, Begegnung der Gefahr von ABC-Terrorismus.
- Lebensmittelanalyse: Neue gesetzliche Standards für mikrobiologische Überwachung.

1.4.3 Synergetische Technologien

Die Konvergenz der Technologien hinter Biosensoren ist sehr vorteilhaft. Die drei Hauptdisziplinen sind hier die Biotechnologie, die Polymerchemie und die Mikroelektronik. Ein Beispiel ist dabei die Anbringung von Metallschichten bei niederen Temperaturen an Polymersubstraten anstelle der Anbringung an teuren Keramikmaterialien. Ein weiteres Beispiel ist das computergestützte Design von Enzymen und biomimetischen Molekülen z.B. Aptameren, das den Bedarf an teuren monoklonalen Antikörper, rekombinante DNA und anderen seltenen Substanzen stark reduziert.

Frage 5 Durch welche Faktoren wird die Entwicklung von Biosensoren begünstigt? Welche Faktoren sind dabei eher hinderlich?

1.5 Anwendungen

1.5.1 Gesundheitsfürsorge

Die Anwendungen in diesem Gebiet sind u.a.:

- Klinische Blutanalyse, O₂, CO₂, pH, Glukose, K, Na, Ca, Cl, Bikarbonate, Urea, Kreatinin, Laktat, Hämatokrit, Bilirubin und Cholesterin
- Krebsdiagnose anhand der Analyse von Urinproben
- DNA-Diagnose, Entdeckung von genetisch bedingten Krankheiten
- Patientennahe Überwachung bei der Intensivpflege
- Haushaltsdiagnosegeräte: Blutzucker, Schwangerschaft, Cholesterin, Urea, Sport & Fitness-Überwachung
- Veterinäre Diagnose bei Haus- und Nutztieren

Die schnelle Diagnose ist einer der Vorteile von Biosensoren. Da Biosensoren beinahe sofort Ergebnisse liefern, erlauben sie die klinischen Diagnosen in kritischen Fällen vor Ort durchzuführen, sodass der Bedarf an langwierige Prozeduren in Laboratorien stark reduziert wird. Die Behandlung von Patienten kann dementsprechend schneller beginnen. Die schnelle Diagnose macht Medikamenten-Überwachung dank nutzerfreundliche Formate bei Selbsttests zu Hause möglich.

Die gemeinsamen Eigenschaften der Produkte sind dabei die kleinen Probenvolumen, schnellere Diffusion der Reaktanten, Reduktion des Hintergrundrauschens, einfachere Füllung und Manipulation sowie Erschwinglichkeit und Tragbarkeit. Bei Konsumentenprodukten („low tech“-Methoden z.B. Schwangerschaftstests) kommen direkte Immersion, Probentropfen auf Sensor, lateraler Fluss (engl. wicking) und kapillare Füllung hinzu während bei klinischen Produkten Mikrofluidik und „Lab on a chip“ von Bedeutung sind.

Bei schnellen Medikamententests zu Hause (Konsumentenprodukte) ist die Messung einer Palette von gebräuchlichen Medikamenten aus einer Urin- oder Speichelprobe möglich. Weitere Vorteile sind:

- Ergebnisse liegen in 3-5 Minuten vor
- einfacher, einstufiger Prozess
- erprobte Laborgenauigkeit
- keine Proben-Handhabung
- kein Bedarf an Klinikpersonal
- kein Hinzufügen von Reagenzien
- kein Bedarf an Pipetten
- eingebaute Qualitätskontrolle z.B. durch Farbänderung
- lange Haltbarkeit

Ein Beispiel für ein professionelles Produkt ist der i-STAT von Abbott als portables Blutanalysegerät, womit einige Parameter direkt gemessen und einige weitere berechnet werden können.

1.5 Anwendungen

18

Messbare Parameter	Berechenbare Parameter
pH	Bikarbonate
PCO ₂	Total CO ₂
PO ₂	Base-Überschuss
Na ⁺	O ₂ -Sättigung
K ⁺	Hämoglobin
Hämatokrit	
Ionisiertes Kalzium	
Glukose	
Urea	

Tabelle 1.1: Messbare und berechenbare Parameter des i-STAT



Abbildung 1.9: i-STAT von Abbott

1.5.2 Umweltüberwachung

Biosensoren können eingesetzt werden, um die gesetzlichen Bestimmungen bezüglich Umweltverschmutzung zu genügen bzw. deren Einhaltung zu kontrollieren. Der BOD-Test (Biological Oxygen Demand) ist dabei einer der wichtigsten Tests. Während der konventionelle BOD-Test 5 Tage in Anspruch nimmt, können Biosensoren mit immobilisierter Hefe den BOD-Wert im Abwasser binnen Minuten messen.

- Verschmutzungen im Trink-, Oberflächen- und Grundwasser durch leichte organische Moleküle
- Giftigkeit des Meerwassers durch Schwermetalle und organische Verschmutzungen

1.5 Anwendungen

19

- Überwachung der Luftverschmutzung durch Phenole, Methan, NO_x , SO_x
- Nachweis von Formaldehyd in der Luft von Innenräumen
- Überwachung der Bodenverschmutzung bei Agrarfeldern durch Herbizide und Pestizide



Abbildung 1.10: Grundwasser und unterschiedliche Verschmutzungswege (Quelle: UK Groundwater Forum, Public Domain)

1.5.3 Prozessüberwachung und Prozesskontrolle

Ein weiteres Anwendungsfeld für Biosensoren ist die Prozessüberwachung und -kontrolle.

- Überprüfung von Molekülen bei pharmazeutischen Aktivitäten und das Vorhandensein von Verunreinigungen
- Überwachung von Aquakulturen (pH, Sauerstoff, Nährstoffe)
- Fermentationsüberwachung und -kontrolle (Aminosäuren, Asparaginsäure, Urea)
- Überwachung des Trinkwasserreservoirs und -leitungsnetzes (pH, O_2 , CO_2 , Verschmutzung)
- Überwachung des Abwassers (Cd, Cl, Zn, etc.)

4 Beratung und Kontakt

Ansprechpartner

Dr. Gabriele Gröger
Albert-Einstein-Allee 45
89081 Ulm



Tel 0049 731 – 5 03 24 00
Fax 0049 731 – 5 03 24 09

gabriele.groeger@uni-ulm.de
www.uni-ulm.de/saps

Geschäftsführender Direktor der SAPS: Prof. Dr.-Ing. Hermann Schumacher

Postanschrift

Universität Ulm
School of Advanced Professional Studies
Albert-Einstein-Allee 45
89081 Ulm

Der Zertifikatskurs „Biochemical Sensors“ wurde entwickelt im Projekt CrossOver, das aus Mitteln des Ministeriums für Wissenschaft, Forschung und Kunst Baden-Württemberg und vom Ministerium für Soziales und Integration Baden-Württemberg aus Mitteln des Europäischen Sozialfonds gefördert wird (Förderkennzeichen: 696606).
