

PlasmoMediSense

Hochdurchsatz-Nanostrukturierungsverfahren für plasmonisch aktive Substrate in der medizinischen Diagnostik

Programm / Ausschreibung	Produktion der Zukunft, 28. AS PdZ nationale Projekte 2018	Status	abgeschlossen
Projektstart	01.05.2019	Projektende	31.10.2022
Zeitraum	2019 - 2022	Projektlaufzeit	42 Monate
Keywords	Hochdurchsatz Herstellungsverfahren; Nanostrukturierte photonische Substrate; Integration in Nanosensoren und Nanobaulemente; Metallverstärkte Fluoreszenz; Metallverstärkte Fluoreszenz und Chemolumineszenz; Rolle-zu-Rolle Prägen		

Projektbeschreibung

Die präzise Quantifizierung sogenannter Biomarker, wie zum Beispiel bestimmter DNA-, RNA- oder Protein-Moleküle, ist in der Bioanalytik und der molekularen Diagnostik eine große Herausforderung. Die Expressionslevel dieser molekularen Marker variieren zwischen verschiedenen Markern, aber auch für einen Marker in unterschiedlichen Situationen, stark. Daher werden analytische Methoden benötigt, die mit hoher Sensitivität gering konzentrierte Marker-Spezies nachweisen und gleichzeitig auch relativ hoch konzentrierte Marker noch quantifizieren können; also einen hohen dynamischen Bereich aufweisen. Bei DNA- und RNA-Markern mit geringer Konzentration werden typischerweise mit Hilfe molekularer Verstärkungsreaktionen wie z.B. PCR die Marker-Sequenzen zuerst verstärkt und danach z.B. mittels Hybridisierung spezifisch nachgewiesen. Diese Methode erfordert allerdings komplexe biochemische Reaktionen, was die Analyse substantiell verlängert, fehleranfällig macht und zumindest bei der PCR auch die Quantifizierbarkeit einschränkt. Für Protein-Marker existiert keine Methode zur Probenverstärkung, wodurch hochsensitive Methoden hier noch dringender benötigt werden. Auf der messtechnischen Seite sind vor allem optische Methoden etabliert, um auch sehr gering konzentrierte Marker messbar zu machen. Dies ist möglich, da optische Methoden wie Fluoreszenz- und Chemilumineszenz-Detektion eine inhärente Signalverstärkung aufweisen, indem jedes einzelne Marker-Molekül die Emission einer Vielzahl von Photonen auslöst. Dieser Effekt kann durch die Verwendung photonisch aktiver Strukturen, mit denen die verwendeten Luminophore wechselwirken, sogar noch verstärkt werden. Diese Strukturen wurden bisher entweder in Form von Nanopartikeln dem Assay beigemischt, oder mittels Spritzguss auf relativ kleinen Flächen und dicken Substraten aufgebracht, wodurch die Anwendbarkeit dieser Methoden z.B. für die Point-of-Care Diagnostik stark eingeschränkt ist.

Im vorliegenden Projekt soll erforscht werden, wie die Oberfläche von Folien substraten mit photonisch aktiven Nanostrukturen versehen werden kann. Der Fokus wird auf die Methoden der Metal Enhanced Fluorescence (MEF) und der Metal Enhanced Chemiluminescence (MEC) gelegt, die für etablierte Analyseformate der Bioanalytik erforscht und anhand verschiedener bioanalytischer Assays getestet werden. Dabei werden DNA-, RNA- und Protein-basierte Assays untersucht. Als Strukturierungs-technologie wird die Rolle-zu-Rolle UV NIL Prägetechnologie genutzt, mit der Nanostrukturen in verschiedenen Analyseformaten kostengünstig mit hohem Durchsatz generiert werden können. Die Hauptinhalte des

Projekts sind i) die Entwicklung der Rolle-zu-Rolle UV NIL-Prägetechnologie für folienbasierte Nanostrukturierte Oberflächen mit plasmonischen Eigenschaften, ii) die Erforschung der MEF und MEC mit UV NIL geprägten plasmonischen Substraten, iii) die Implementierung UV NIL geprägter plasmonischer Substrate für MEC und MEF in Mikrofluidik-Chips für molekulare Diagnostik und damit die Steigerung der Messempfindlichkeit um mindestens 100 %, sowie iv) die Untersuchung verschiedener Geometrien plasmonischer Strukturen mit dem Ziel, den Verstärkungseffekt für MEF und MEC zu maximieren. Als Ergebnisse aus dem kooperativen und multidisziplinären Projekt werden i) ein fundiertes technisch-wissenschaftliches Verständnis des Prägeprozesses für plasmonische Nanostrukturen, ii) die Demonstration von MEF und MEC auf UV NIL geprägten Strukturen, iii) die Realisierung der MEF und MEC in mikrofluidischen Chips, iv) optimierte Nanostrukturen für MEF und MEC und v) die Demonstration durch MEF und MEC erhöhter Sensitivität in DNA-, RNA- und Protein-Testassays erwartet. Aus dem Projekt werden voraussichtlich Patentanmeldungen zu neuen Hochdurchsatz-Strukturierungsprozessen plasmonischer Nanostrukturen und wissenschaftliche Publikationen generiert.

Abstract

The precise quantification of so-called biomarkers, such as DNA, RNA or protein molecules, is a major challenge in bioanalytics and molecular diagnostics. The expression levels of these molecular markers vary greatly between different markers, but also for individual markers in different situations. Therefore, analytical methods are needed that can detect low-concentration marker species with high sensitivity and at the same time still are able to quantify relatively high-concentration markers; so have a high dynamic range. Low-concentration DNA and RNA markers are typically first amplified using molecular amplification reactions like PCR and subsequently specifically detected e.g. by a hybridization reaction. However, this method requires complex biochemical reactions, which substantially prolong the analysis, make it susceptible to errors and, at least in case of PCR, also limits the quantifiability. For protein markers, there is no method for sample amplification available, which renders highly sensitive methods even more necessary. Above all, optical methods have been established on the metrological side in order to be able to measure very low concentrated markers. This is possible because optical methods such as fluorescence and chemiluminescence detection provide inherent signal amplification in that each single marker molecule triggers the emission of a multiplicity of photons. This effect can even be enhanced by the use of photonic active structures with which the luminophores interact. These structures have hitherto been admixed to the assay in the form of nanoparticles, or generated by injection moulding on relatively small areas of thick substrates, whereby the applicability of these methods is severely limited e.g. for point-of-care diagnostics.

The aim of this project is to investigate how the surface of foil-based substrates can be decorated with photonic active nanostructures. The focus will be on the methods of Metal Enhanced Fluorescence (MEF) and Metal Enhanced Chemiluminescence (MEC), which will be explored for established analytical formats of bioanalytics and tested using various bioanalytical assays. DNA, RNA and protein-based assays are being investigated. As a structuring technology, the roll-to-roll UV NIL structuring technology is used, with which nanostructures in different analysis formats can be generated cost-effectively with high throughput. The main topics of the project are i) the development of roll-to-roll UV NIL structuring technology for film-based nanostructured surfaces with plasmonic properties, ii) the investigation of MEF and MEC with UV NIL imprinted plasmonic substrates, iii) the implementation of UV NIL imprinted plasmonic substrates for MEC and MEF in microfluidic chips for molecular diagnostics, thereby increasing the measurement sensitivity by at least 100%; and iv) the investigation different geometries of plasmonic structures with the aim of maximizing the enhancement effect for MEF and MEC.

Results of the cooperative and multidisciplinary project will be i) a sound technical and scientific understanding of the plasmonic nanostructure imprinting process, ii) the demonstration of MEF and MEC on UV NIL imprinted structures, iii) the

realization of MEF and MEC in microfluidic chips, iv) optimized nanostructures for MEF and MEC and, v) the demonstration of increased sensitivity in DNA, RNA, and protein assays using MEF and MEC. The project is expected to generate patent applications for new high-throughput structuring processes of plasmonic nanostructures and scientific publications.

Projektkoordinator

- JOANNEUM RESEARCH Forschungsgesellschaft mbH

Projektpartner

- Fianostics GmbH
- Genspeed Biotech GmbH