

Mikrofluidische Systeme für die Regelung biotechnologischer Prozesse in Mikrotiterplatten

Andreas Buchenauer

Forschung am IWE 1

IWE 1

Intelligente Implantate

- Implantierbare Drucksensoren
- Katheterbasierte Druckmessung
- Retinaimplantat

Mikrofluidik

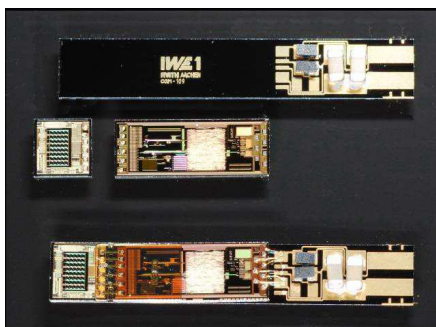
- Zellkulturen
- Mechanobiologie
- Diagnostik

3

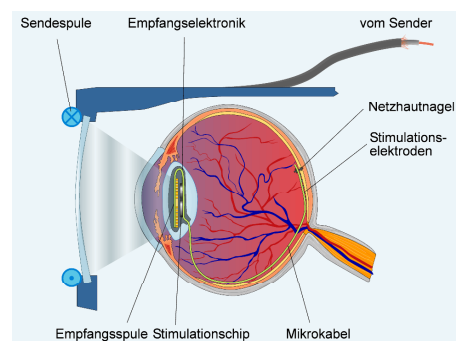
Implantierbarer Drucksensor



Katheterbasierter Drucksensor

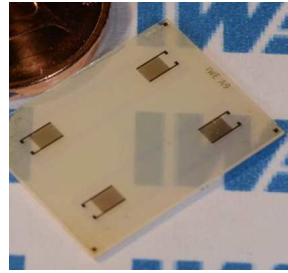
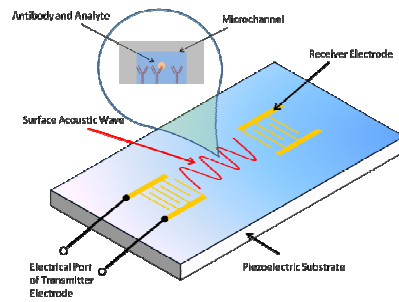


Retina Implantat

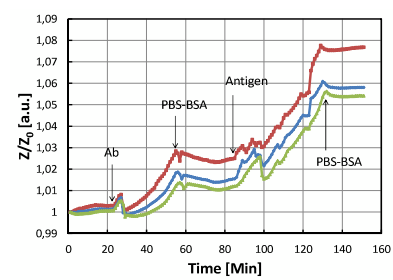
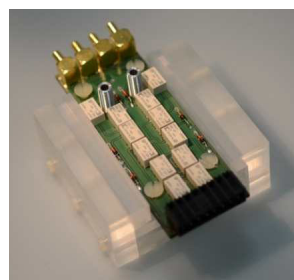
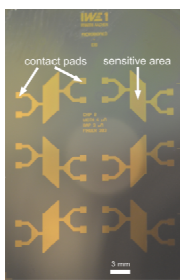


4

Akustische Oberflächenwellen (SAW)



Impedanzspektroskopie (Diagnostik, Zellkulturen)



5

Einleitung

6

Biotechnologische Prozesse

- Einsatz in chemischer und pharmazeutischer Industrie
- Herstellung von hochwertigen Chemikalien und Pharmazeutika
- Hohe Selektivität und Ausbeute, milde Prozessbedingungen
- Schwierigkeit: Langwierige und teure Entwicklung



Applikon

7

Prozessentwicklung

1. Suche nach geeigneten Enzymen und Mikroorganismen (Screening)
2. Suche nach günstigen Prozessbedingungen (Prozessoptimierung)



Mikrotiterplatte (MTP), m2p-labs



Schüttelkolben, Sartorius



Laborfermenter, Sartorius

8

Versuchsplattform für das Nachbilden produktionsrelevanter Bedingungen in frühen Stadien der Prozessentwicklung

- Mit MTPs vergleichbarer Durchsatz
- Regelung des pH-Wertes
- Zufuhr von Nährmedien
- Individuelle Dosierung

Miniaturisierter Bioreaktor mit mikrofluidischer Prozesskontrolle

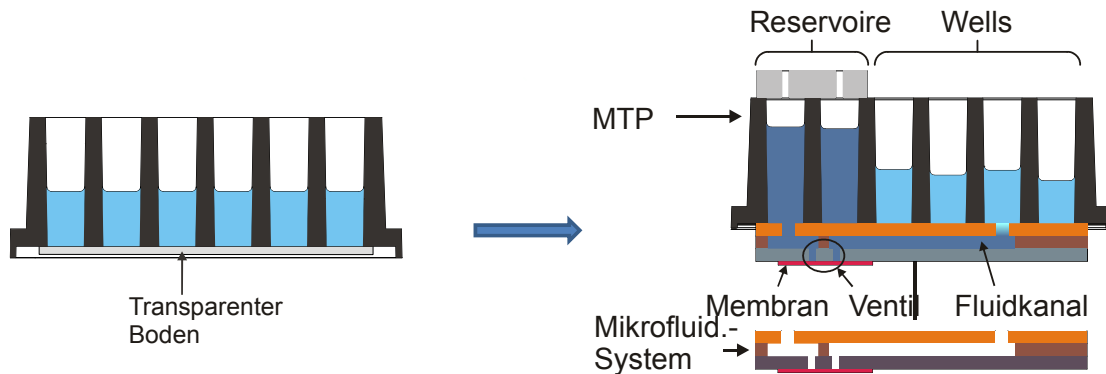
9

Konzeption

- Mikrofluidiksystem ersetzt den Boden der MTPs
- Kulturvolumen pro Well 500 μ l
- pH-Stellmedien bis min. 5 nl,
Nährmedien 100 nl bis 200 nl



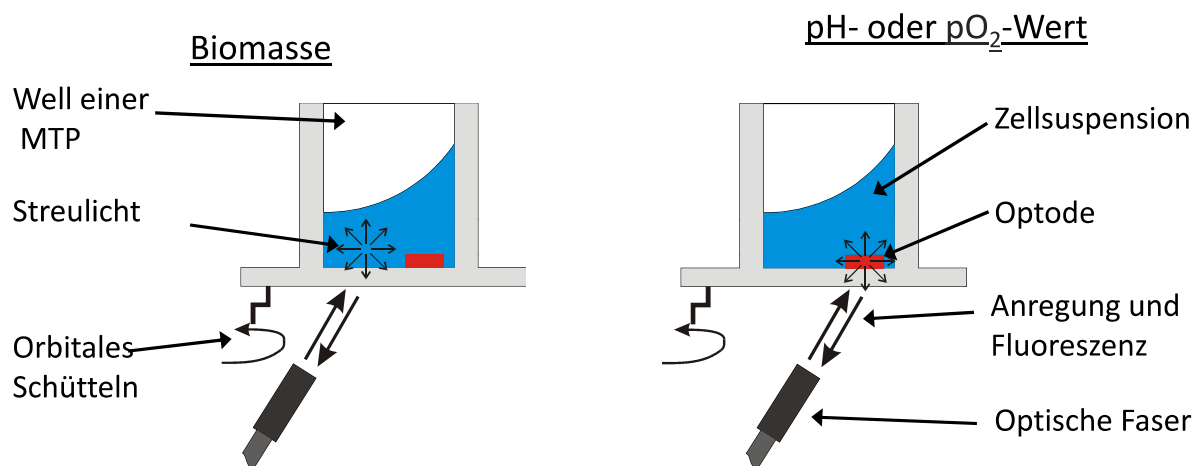
48 Well MTP, m2p-labs



11

Optische Messtechnik

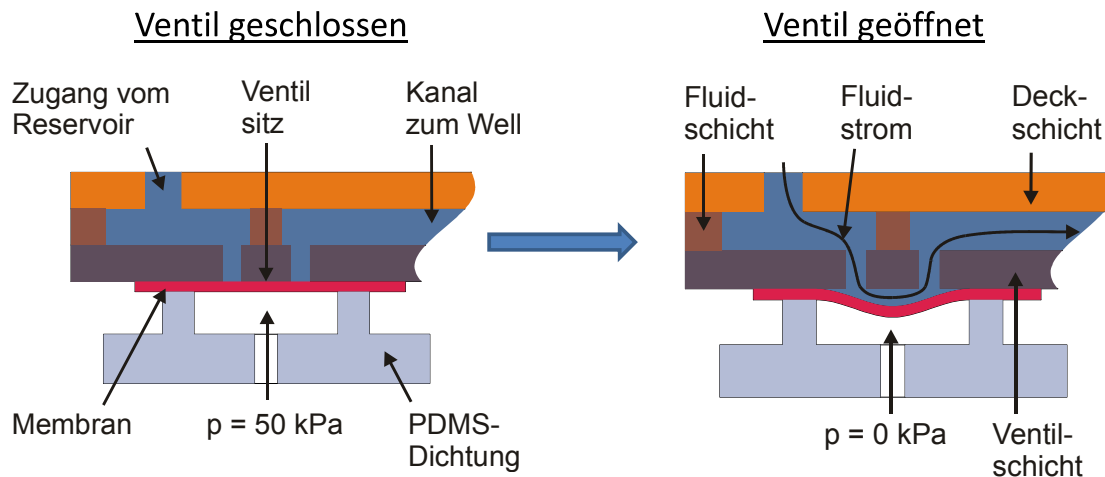
- Nichtinvasive Messung von Prozessparametern
- Biomassekonzentration durch Streulicht
- pH- und pO_2 -Wert durch Fluoreszenz (DLR)
- Messung auch in trüben Medien



Nach Samorski et al. 2005

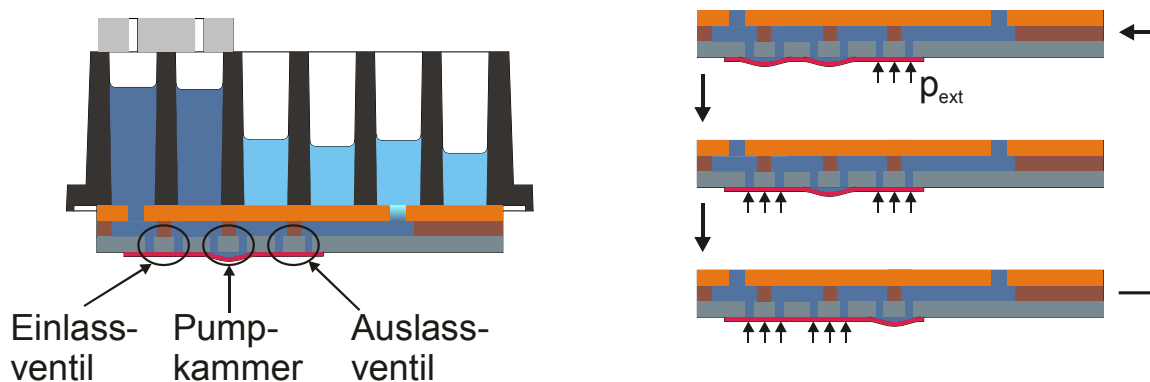
12

- Dimensionierung in Simulationen mit halbanalytischem Modell
- PDMS Dichtung bildet Ventilkammer
- Ventilmembranen aus PE (15 μm), PP (4 μm) und PC (4 μm)



13

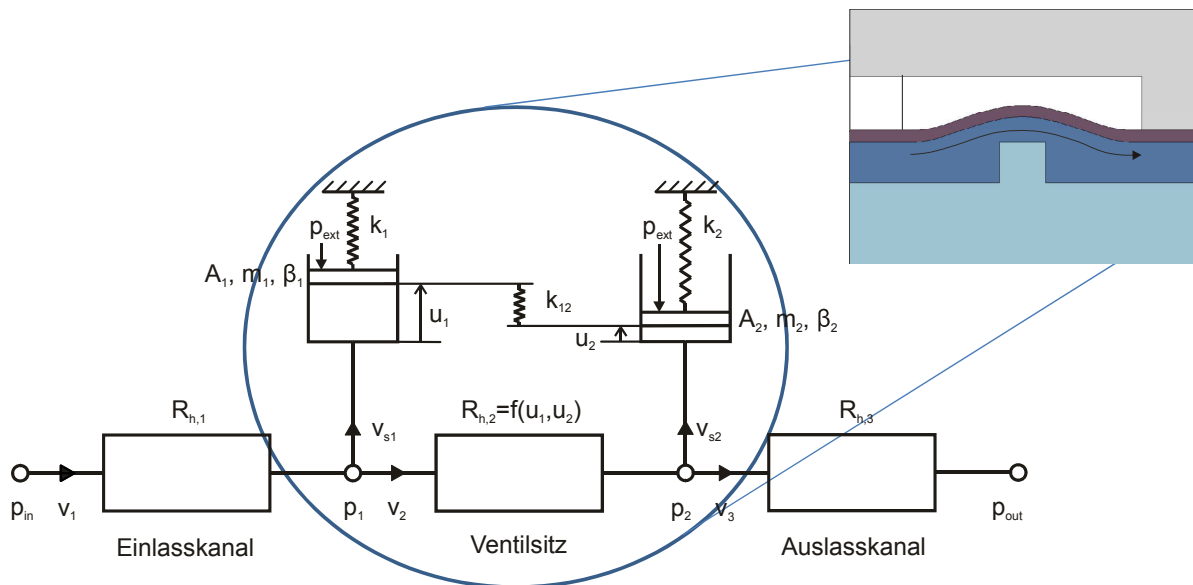
- Peristaltisches Pumpen
- Reproduzierbares Dosieren von Nährmedien



14

Ventilmodell:

- Bestimmung der Dosiervolumina und Betätigungszeiten
- MembranstEIFigkeit aus Finite-Elemente Simulation

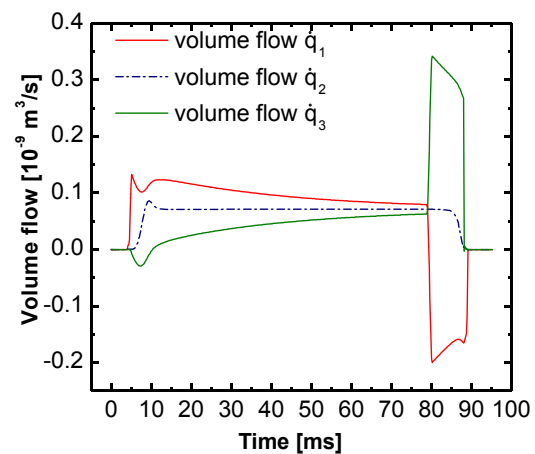
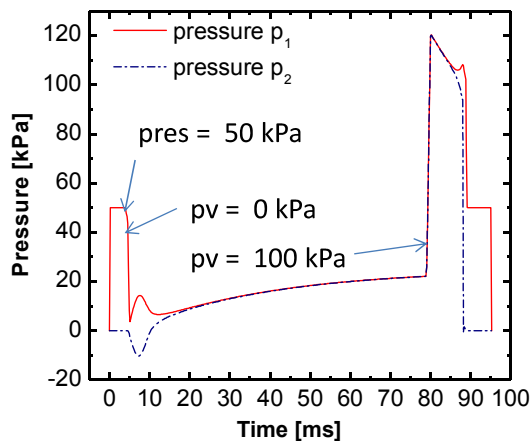
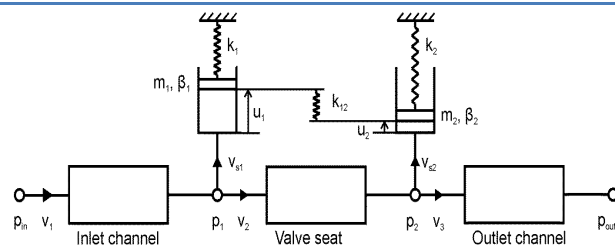


15

Ventilentwicklung

Ergebnisse der Ventilsimulation

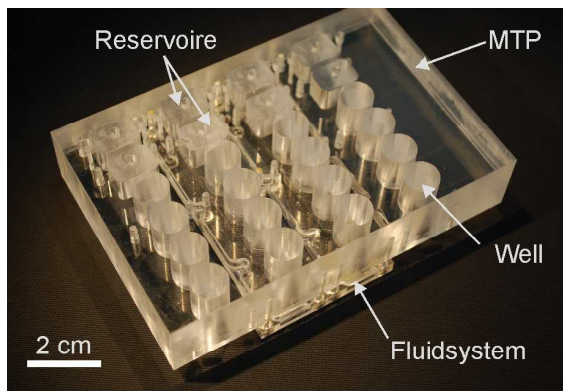
- Dosierzeit 75 ms
- Dosiervolumen ca. 5 nl



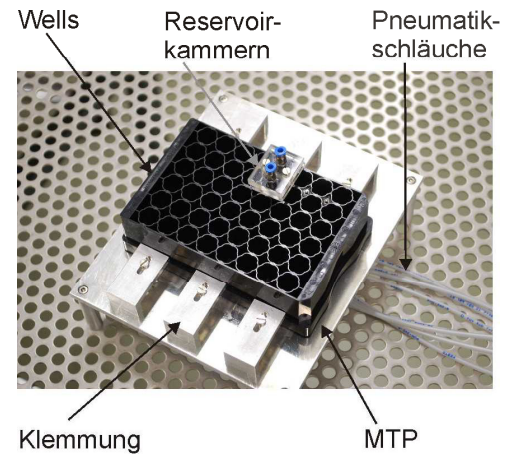
16

- Untersuchung des Reaktorkonzepts mit PDMS-basierten Reaktoren
- Fluidische Charakterisierung an Hand von Prototypen aus SU 8

Fluidsystem aus PDMS



Fluidsystem aus SU 8

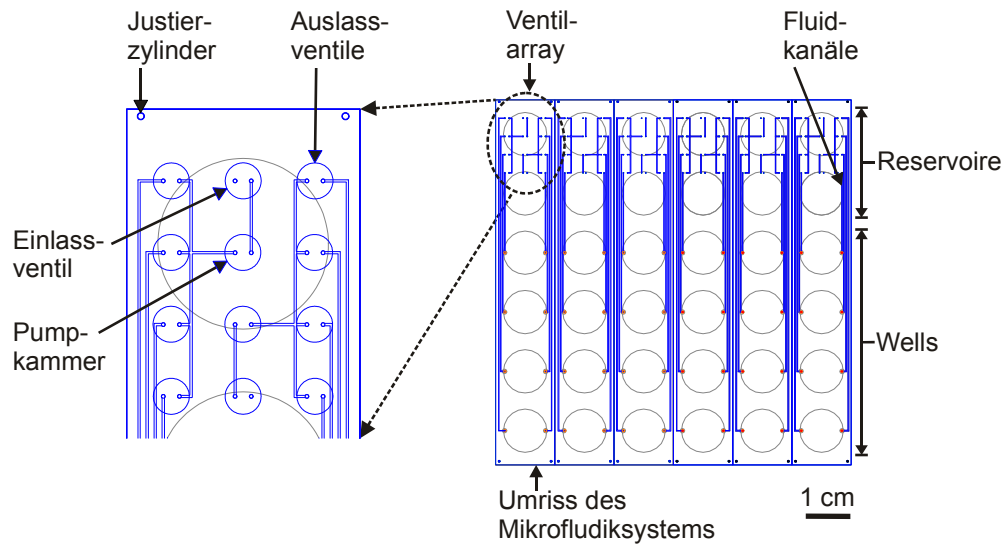


17

Herstellungsprozess

18

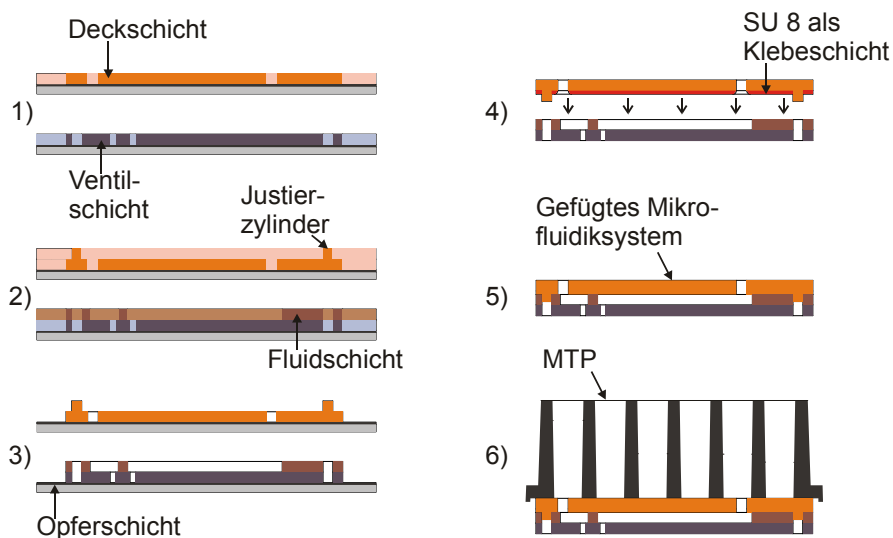
- Bis zu 24 Wells
- 6 Reihen mit je 2 Reservoiren und 4 Wells
- Bis zu 96 Pneumatikanschlüsse



19

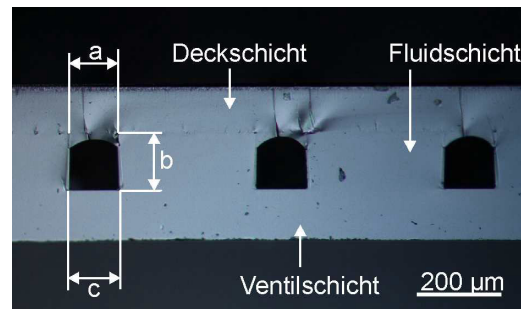
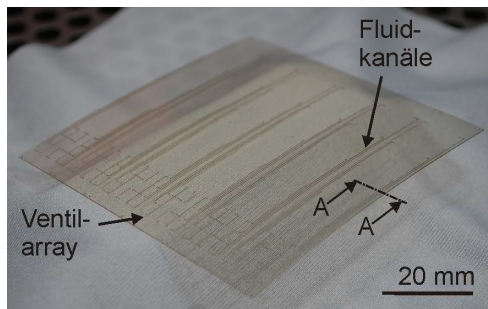
Herstellungprozess

Photolithographischer Herstellungsprozess



20

- Grundfläche 8 cm x 8 cm
- Hohes Maß an Justiergenauigkeit durch formschlüssige Ausrichtung

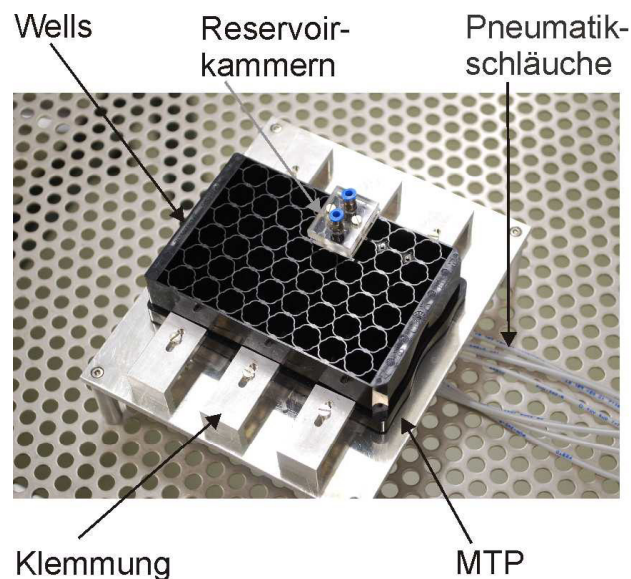


Abmessungen Kanalquerschnitt:
 $a = 115 \mu\text{m}$, $b = 138 \mu\text{m}$, $c = 121 \mu\text{m}$

21

Mikroreaktor

- Träger für Charakterisierungsversuche
- Herstellen der pneumatischen Verbindungen durch Einspannen



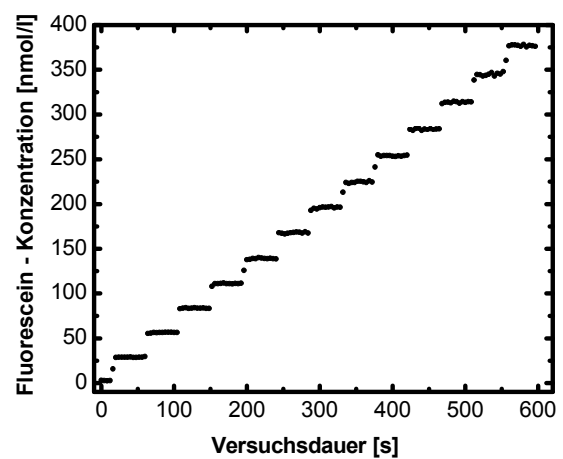
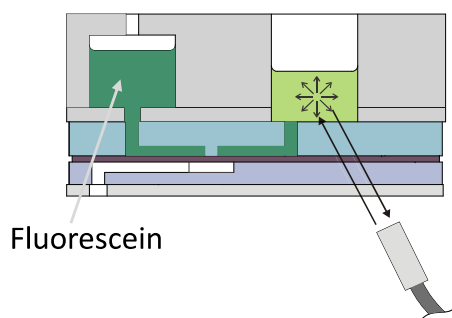
22

Charakterisierung

23

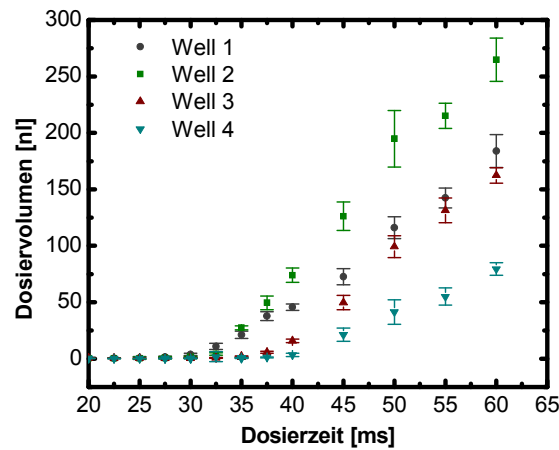
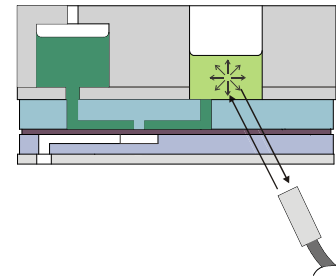
Zeitgesteuertes Dosieren

- Dosieren von Fluorescein
- Messung der Intensität der Fluoreszenz



24

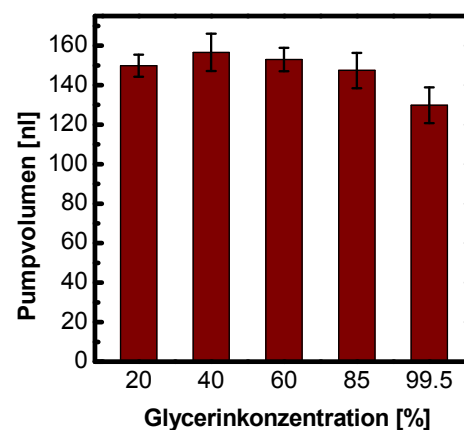
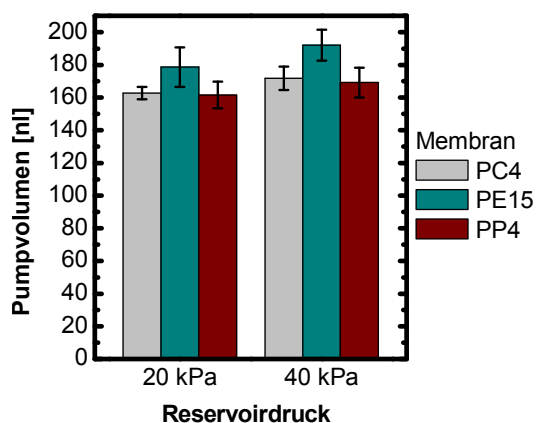
- Kleinste Dosiervolumina unter 5 nl
- Volumenströme bis 9,7 $\mu\text{l/s}$
- Ventilwiderstand klein gegenüber Kanalwiderstand



25

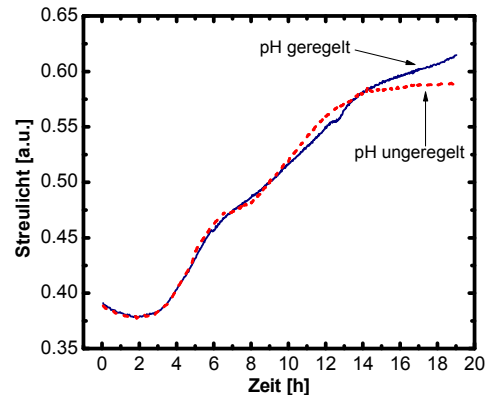
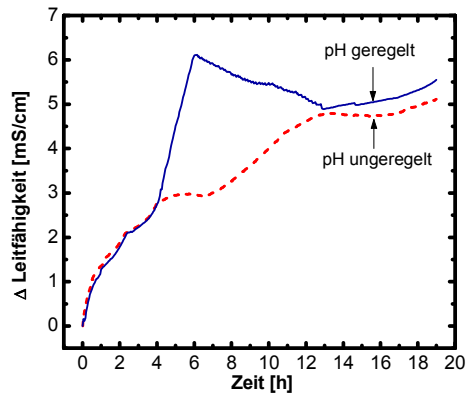
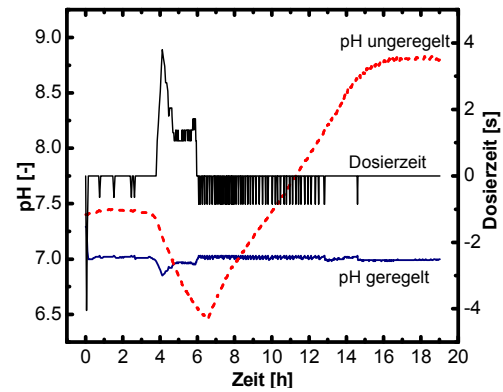
Pumpen

- Mittleres Pumpvolumen 151,7 nl, Standardabweichung 4,9%
- Mittlere Spannweite zwischen den Wells 4,0%
- Dosierdauer pro Well: 6,5 s für 60%ige Glycerinlsg.,
15 s für 85%ige Glycerinlsg



26

- Fermentation von *E. coli* in TB Medium
- pH Regelung mit NaOH und H₃PO₄ (beide 1 mol/l)
- Spannweite pH-Wert in den Kulturen:
 - pH ungeregelt von 6,46 bis 8,83
 - pH geregelt von 6,85 bis 7,03



27

Zusammenfassung und Ausblick

- Eignung des Reaktorkonzepts für pH-geregelte Kultivierungen unter typischen Anwendungsbedingungen
- Mit MTPs vergleichbare Flexibilität, Handhabung und Durchsatz
- Erstmals mit Großreaktoren vergleichbare, pH-geregelte Fed-batch Versuche in einem Mikrobioreaktor erzielbar

- Überführung in Herstellungsprozesse wie Spritzguss
- Elektrische Messungen: Kostengünstige Aufbau- und Verbindungstechnik sowie temporäre Kontaktierung
- Fluidsystem für kontinuierliche Prozesse