



Abschlussbericht

**Designregeln für die Anwendung der Blister-
Verpackungstechnologie zur kostengünstigen
Fertigung mikrofluidischer Lab-on-a-Chip
Systeme für diagnostische Anwendungen
(Blister-Lab)**

AiF-Vorhaben-Nr: 15838 N

Projektlaufzeit: 01.11.2008 – 30.04.2011

HSG-IMIT
Institut für Mikro- und Informationstechnik
der Hahn-Schickard-Gesellschaft e.V.
Wilhelm-Schickard-Strasse 10
78052 Villingen-Schwenningen

Inhaltsverzeichnis

1	Forschungsthema	3
2	Forschungsziel	3
2.1	Angestrebte Forschungsergebnisse	3
2.2	Innovativer Beitrag der angestrebten Forschungsergebnisse	3
3	Zusammenfassung	4
4	Veröffentlichungen	6
5	Durchführende Forschungsstellen	6
6	Förderhinweis	7

1 Forschungsthema

Designregeln für die Anwendung der Blister-Verpackungstechnologie zur kostengünstigen Fertigung mikrofluidischer Lab-on-a-Chip Systeme für diagnostische Anwendungen (Blister-Lab).

2 Forschungsziel

Dieses Forschungsvorhaben hatte das Ziel die Vorteile der makroskopischen Blisterverpackungstechnologie für Mikrostrukturen verfügbar zu machen. Blister sind eine beliebte Methode Tabletten oder andere Konsumartikel in einer thermogeformten Folie zu verpacken. Dabei wird eine Folie zunächst thermogeformt, mit der Ware bestückt und idR. mit einer Siegelfolie verschlossen. Vor allem der geringe Preis pro Verpackung bei hohen Stückzahlen und die individuelle Anpassbarkeit auf das Produkt sind Vorteile der derzeitigen Blisterverpackungstechnologie.

Die Prozessabfolge zur Fertigung von Lab-on-a-Chip (LoaC) Systemen ist ähnlich der Herstellung makroskopischer Blister. Sie besteht aus dem Formen der Mikrostrukturen, ggf. einer Funktionalisierung der Strukturen durch Beschichtungen oder vorgelagerter Reagenzien sowie dem anschließendem Deckeln der Strukturen. Ziel des Vorhabens Blister-Lab ist es, die Prozessführung zur Herstellung von Mikrostrukturen durch die Blister-Technologie zu entwickeln und die Prozesskette um die für mikrofluidische Anwendungen relevanten Eigenschaften zu erweitern.

2.1 Angestrebte Forschungsergebnisse

Als angestrebte Forschungsergebnisse sollte eine Basistechnologie erforscht werden, die es ermöglicht mikrofluidische Testträger mittels Folientechnologie herzustellen. Anders als bei der Verpackung von Tabletten, stellen mikrofluidische Systeme weit höhere Anforderungen hinsichtlich der Materialauswahl, Formtreue der Folienstrukturen und der Siegelgenauigkeit. Diese sollen in dem Vorhaben identifiziert und Möglichkeiten zum Erreichen der gesetzten Anforderungen aufgezeigt werden. Zudem sollen anhand der Prozesscharakterisierung Designregeln abgeleitet werden, die es künftig erleichtern folienbasierte mikrofluidische Systeme aufzubauen. Die entwickelte Folientechnologie soll zudem an zwei Anwendungsszenarien demonstriert werden. Einerseits wird ein Immunoassay implementiert und zum anderen ein Nukleinsäuretest.

2.2 Innovativer Beitrag der angestrebten Forschungsergebnisse

Über den kommerziellen Erfolg von LoaC-Systemen entscheidet die realisierte Anwendung aber auch die kosteneffiziente Herstellbarkeit. Motiviert durch die preiswerte sowie vollautomatisierte makroskopische Blisterverpackungstechnologie, lässt sich potentiell ein Herstellungs-konzept ableiten, welches sich zur Herstellung von LoaC-Systemen eignet. Nach dem Vorbild einer Tablettenverpackung ließen sich Reagenzien in Folien verpacken und mittels Mikrostrukturen miteinander kombinieren. Die Reagenzien können in derartigen funktionellen Verpackungen zunächst gelagert werden und werden bei Gebrauch freigesetzt. Die integrierten mikrofluidischen Operationen können dann die Probe und die Reagenzien nach einem definierten Ablaufprotokoll miteinander reagieren lassen.

Vorteile der folienbasierten LoaC-Systeme gegenüber dem etablierten Mikrospritzguss sind vor allem die dünnen Wandstärken, der geringere Materialverbrauch sowie die mechanische Flexibilität der Lab-on-a-Foil Systeme. Die dünnen Wandstärken sind besonders vorteilhaft für variotherme Anwendungen wie der Polymerase Kettenreaktion (PCR), die ein definiertes und schnelles Thermocycling voraussetzt. Die mechanische Flexibilität der Foliensysteme ist materialabhängig und kann je nach Materialwahl neuartige Designmöglichkeiten für zum Beispiel Freisetzungsmechanismen zulassen.

3 Zusammenfassung

Das Forschungsprojekt Blister-Lab untersuchte die Eignung der makroskopischen Blister-Verpackungstechnologie zum Aufbau folienbasierter mikrofluidischer Lab-on-a-Chip Systeme. Blister sind bereits jetzt eine attraktive Verpackungsform um Tabletten oder andere Waren in einer thermogeformten Folie zu verpacken. Im Rahmen der Basistechnologieentwicklung des Projektes Blister-Lab gelang es diese makroskopischen Fertigungsprozesse auch für Mikrostrukturen verfügbar zu machen und deren Anwendbarkeit anhand zweier mikrofluidischer Beispielanwendungen zu demonstrieren.

Basistechnologie

Im Zuge der Basistechnologieentwicklung konnten Prototyping-taugliche Prozesse entwickelt werden, die es erlauben schnell und kosteneffizient erste Entwicklungsmuster herzustellen. Die erarbeitete Prozesskette umfasst dabei die Herstellung von Formwerkzeugen, das Mikrothermoformen, Oberflächenmodifikationen, Reagenzienvorlagerung, das Einbringen einer fluidisch dichten Festphase und das Deckeln der folienbasierten Mikrostrukturen.

Für das Mikrothermoformen der Folien wurde ein variothermer Prozess in einer modifizierten Heißspräße optimiert und für Disk-Formate bis 140 mm standardisiert. Erreichbare Thermoformergebnisse mit einer COP-Folie sind in Abbildung 1 dargestellt. Die dafür aufgebaute Prozesskette benötigt lediglich 8 - 10 Stunden vom CAD-Design bis zur ersten Folienabformung. Jede weitere Folie benötigt 30 Minuten. Dank der variothermen Prozessführung ist die Formtreue der Strukturen sehr hoch und sogar Strukturen mit wenigen Mikrometern sind abformbar. Ein effizienteres Temperierungskonzept für den Thermoformprozess bleibt jedoch zu erforschen, um die Zykluszeiten des Thermoformprozesses weiter zu reduzieren.

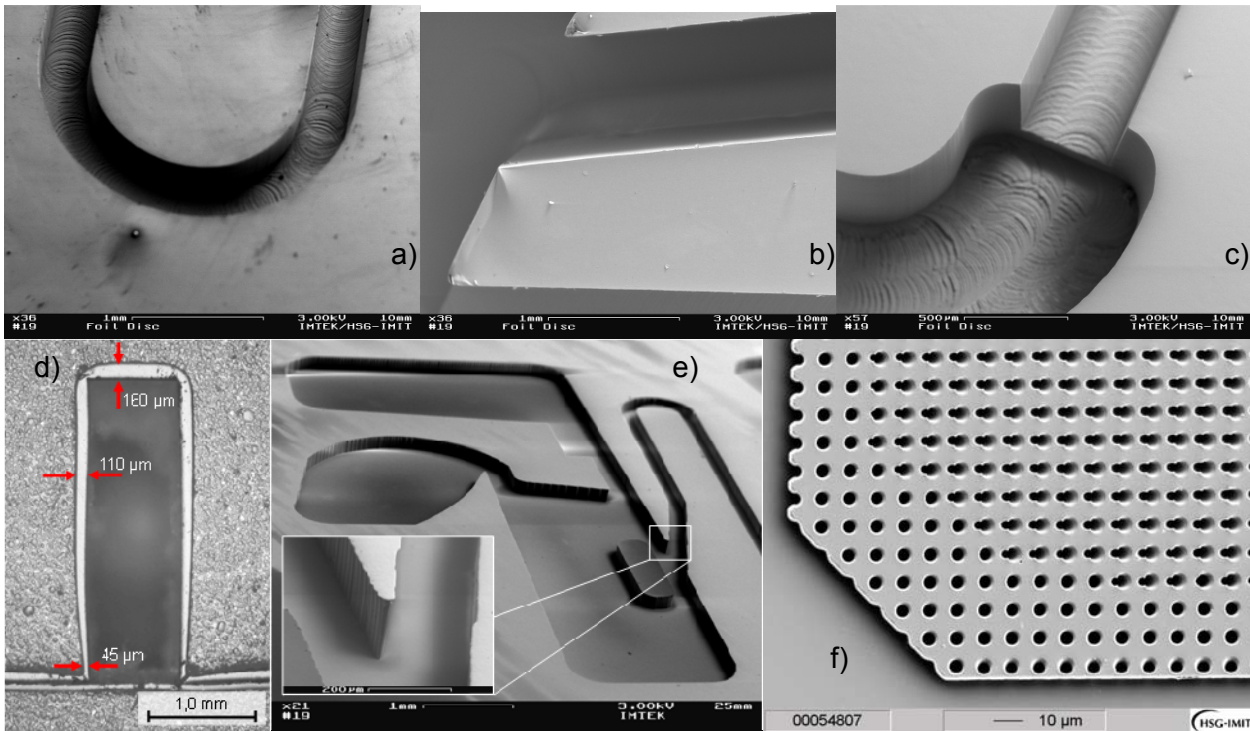


Abbildung 1: Abformergebnisse des optimierten Mikrothermoformprozesses. (a) Siphonkanal mit senkrechten Kanalseitenwänden; (b) Scharfkantiger Zulauf zweier Mikrokanäle in eine Kammer; (c) Kanalaufweitung für Geometrisches Stopventil; (d) Schliffbild eines 3 mm hoher Kanalquerschnitts mit Aspektverhältnis von 3 zeigt Verstreckung und Ausdünnung der Folie; (e) Scharfkantiger Kammerablauf für exaktes Meetering kleinster Volumina. (f) Abformung von Töpfchen mit einem Durchmesser von 8 µm.

Zur Funktionalisierung der Folien wurden sowohl das Aufbringen von Beschichtungen mittels einer Drucktechnik und die Vorlagerbarkeit von Reagenzien untersucht. Dabei konnte für trocken vorgelagerte Reagenzien (Primer und Sonden) eine Haltbarkeit von einem Jahr durch die Zugabe

von Stabilisatoren nachgewiesen werden. Außerdem wurden Flüssigvorlagerungskonzepte in Glaskapillaren und Aluminium-Blistern untersucht.

Für das Deckeln der Mikrostrukturen wurde ein neuartiges Verfahren entwickelt, welches mittels Druckluft die zu fügenden Folien miteinander verpresst. Das Siegelungskonzept kann sowohl für Klebefolien als auch für thermische Verbundfolien eingesetzt werden und ermöglicht es die Mikrostrukturen bis zum Strukturrand zu deckeln.

Anwendungsbeispiele

Der Funktionsnachweis der erarbeiteten Basistechnologie wurde anhand zweier Anwendungen erbracht. So gelang es einen Immunoassay auf Basis magnetischer Beads in eine Mikrofluidik zu integrieren. Unter Verwendung der Designregeln für den Thermoformprozess konnte die Struktur trotz hoher Verstreckungsverhältnisse zwischen den Kammern abgeformt werden. Die Charakterisierung erfolgte anhand der Beadtransporteffizienz (66% \pm 6%) und der Wascheffizienz. Der erreichte Entwicklungsstand der Fluidik eignet sich für eine erste qualitative Analyse. Um quantitative Messungen wie in einer Mikrotiterplatte durchführen zu können, besteht weiterer Fluidikentwicklungs- und Validierungsbedarf.

Der zweite Anwendungsbereich untersuchte die Amplifikation und Detektion von DNA-Sequenzen mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Das dünnwandige Foliensystem (Siehe Abbildung 2) profitiert hierbei besonders von dem verbesserten Wärmeübergang und der geringen thermischen Masse der dünnen Folien. Exemplarisch wurde ein Blutgruppenbestimmungstest implementiert. Nach der Prozessierung in einem real-time PCR-Thermocycler zeigten sowohl das Foliensystem als konventionelle PCR-Tubes vergleichbare PCR-Ergebnisse.

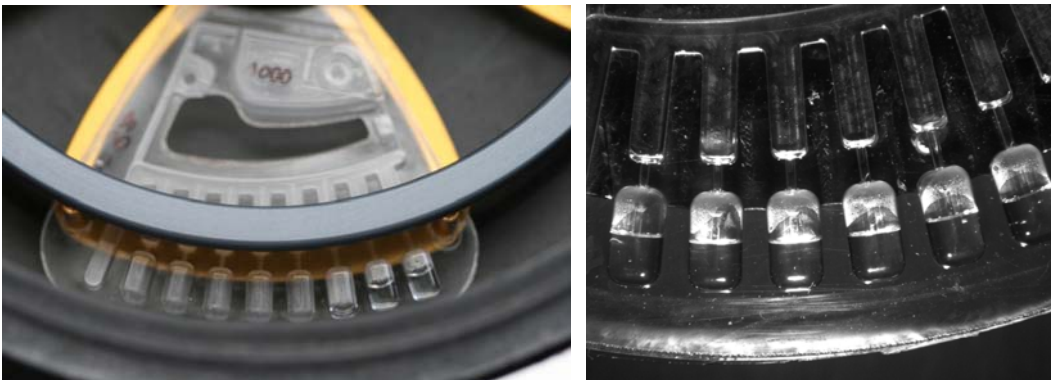


Abbildung 2: Mikrofuidischer Testträger zum Durchführen einer geometrischen Multiplex PCR. (a) Eingebaut in einen Thermocycler (b) Befüllung der Reaktionskammern mit jeweils 20 μ l des PCR-Ansatzes.

Vorbereitung zur Produktion

Abgeleitet aus den Erkenntnissen der Basistechnologieentwicklung und der implementierten Anwendungen konnten erste Richtlinien für die Produktion abgeleitet werden. Einfache Mikrokanäle ohne scharfkantige Kanalquerschnitte lassen sich zum Beispiel bereits mit konventionellen Blisteranlagen fertigen. Anspruchsvolle Mikrofluidiken bedürfen hingegen meist einer definierten Kanalgeometrie, welche sich nur durch eine variotherme Prozessführung erreichen lässt. Für zukünftige Anlagen muss somit ein geeignetes Temperierungskonzept untersucht werden, welches das schnelle Beheizen und Kühlen des Thermoformwerkzeugs erlaubt. Als mögliche Temperierungskonzepte werden dazu IR-Strahlung, Induktion oder Heiz- und Kühlmäandern im Werkzeug vorgeschlagen. Zudem sind die Werkzeugmaterialwahl und die Entlüftung der zwischen Formwerkzeug und Folie eingeschlossenen Luft zu beachten.

Transfer der Forschungsergebnisse

Die im Rahmen des Projektes Blister-Lab erarbeiteten Forschungsergebnisse wurden in geeigneten Journalen [1 - 3] und auf Konferenzen [4, 5] präsentiert. Zudem konnte die Technologie auf Messeauftritten [7 - 9] sowie mittels Fachvorträgen [10 - 13] interessierten Firmen vorgestellt

werden. Zusätzlich bietet das HSG-IMIT über den Lab-on-a-Chip Design und Foundry Service den Zugang zu den erarbeiteten Prototyping-Prozessen zum Herstellen folienbasierter mikrofluidischer Testträger. Dank der Standardisierung dieser Prozesskette kann so das Entwicklungsrisiko für interessierte Firmen signifikant gesenkt werden, da die Vorteile und die Eignung der Folientechnologie direkt anhand eines Musterteils untersucht werden können. Die erarbeiteten Designregeln unterstützen dabei die effektive Umsetzung neuer innovativer folienbasierter Produkte.

4 Veröffentlichungen

Die Ergebnisse des Projektes BlisterLab wurden in folgenden Publikationen veröffentlicht:

- [1] M. Focke, D. Kosse, C. Müller, H. Reinecke, R. Zengerle, and F. von Stetten, "Lab-on-a-Foil: microfluidics on thin and flexible films," *Lab Chip*, vol. 10, no. 11, pp. 1365-1386, **2010**.
- [2] M. Focke, F. Stumpf, B. Faltin, P. Reith, D. Bamarni, S. Wadle, C. Müller, H. Reinecke, J. Schrenzel, P. Francois, D. Mark, G. Roth, R. Zengerle, and F. von Stetten, "Microstructuring of polymer films for highly sensitive genotyping by real-time PCR on a centrifugal microfluidic platform," *Lab Chip*, vol. 10, no. 19, pp. 2519-2526, **2010**.
- [3] M. Focke, D. Kosse, D. Bamarni, S. Lutz, C. Müller, H. Reinecke, R. Zengerle and F. von Stetten, „Microthermoforming by soft lithography (μ TSL) for microfluidic devices: optimization using design of experiments“, JMM, (eingereicht)
- [4] D. Kosse, D. Buselmeier, C. Müller, R. Zengerle, F. von Stetten, „Druckluft-unterstütztes thermischen Deckeln folienbasierter Lab-on-a-Chip Kartuschen“, MST Kongress 2011 Darmstadt; (angenommen)
- [5] D. Kosse, M. Focke, C. Müller, F. von Stetten, R. Zengerle, “Microthermoforming and sealing of COP films to form thin walled lab-on-a-chip cartridges”, 4M Kongress 2011 Stuttgart; (eingereicht)
- [6] Forschungsprojektbeschreibung “Blister-Lab“ als Teil des Internetauftritts vom Lab-on-a-Chip Design- und Foundry-Service: www.loac-hsg-imit.de

Zudem erfolgte der Wissenstransfer in Form von Messeauftritten oder Seminaren:

- [7] 06.10.2009 – 08.10.2009 Messestand auf Biotechnica 2009 (Hannover)
- [8] 05.10.2010 – 07.10.2010 Messestand auf Biotechnica 2010 (Hannover)
- [9] 11.10.2011 – 13.10.2011 Biotechnica 2011 (Hannover)
- [10] 19.02.2009 Übersichtsvortrag Blister-Lab (IGF-Tag 2009 am HSG-IMIT in Freiburg)
- [11] 18.03.2010 Übersichtsvortrag Blister-Lab (IGF-Tag 2010 am HSG-IMIT)
- [12] 11.02.2011 FAM-Workshop Vortrag “Das neue μ TSL Verfahren: Lab-on-a-Chip Prototyping und Reagenzienvorlagerung in mikrofluidischen Blisterverpackungen“
- [13] 12.04.2011 Abschlussvortrag Blister-Lab (IGF-Tag 2011 am HSG-IMIT)

5 Durchführende Forschungsstellen

Forschungsstelle:

Institut für Mikro- und Informationstechnik (HSG-IMIT)

Nr. 15838 N (Abschlussbericht)



Wilhelm-Schickard-Straße 10
78052 Villingen-Schwenningen

Leiter der Forschungsstelle:

Prof. Dr. Reinecke
Prof. Dr. Yiannos Manoli
Prof. Dr. Roland Zengerle

Projektleiter:

Dominique Kosse

6 Förderhinweis

Das IGF-Vorhaben 15838 N der Forschungsvereinigung HSG-IMIT wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung und –entwicklung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Gefördert durch:



Bundesministerium
für Wirtschaft
und Technologie

aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages