

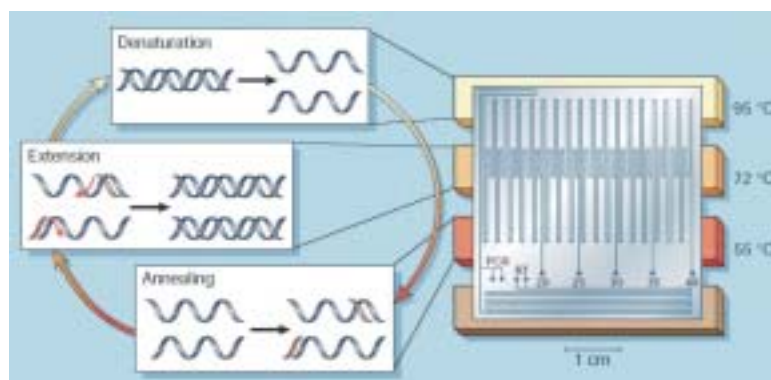


Abb. 1. DeMello et al.^{9,10)} haben einen mikrofluidischen Chip hergestellt, in dem DNS schnell und effizient im Durchfluss mit der PCR vervielfältigt werden kann. Die im PCR-Einlass zugefügte Probe fließt durch Temperaturzonen, die den jeweiligen Reaktionstemperaturen entsprechen. Proben können nach 20, 25, 30, 35 und 40 Zyklen entnommen werden. Indem man den mit „RT“ bezeichneten Einlass benutzt, kann RNS durch Reverse Transkriptase in DNS zurückübersetzt werden, bevor sie in den PCR-Eingang injiziert wird. (Abbildung aus Lit.¹⁰⁾)

Mikrofluidik

◆ Können wir demnächst Messbecher, Kolben und Scheidetrichter aus unseren Laboren verbannen und das Dosieren, Mischen, Synthetisieren und Analysieren einem kleinen Chip überlassen – einem Mikrochip, der statt Nullen und Einsen kleinste Flüssigkeitsmengen verschiebt? In manchen Einsatzgebieten ist dieser Traum schon Wirklichkeit geworden: Diabetiker können ein Blutströpfchen innerhalb von Sekunden mit einem kleinen Gerät auf den Blutzuckergehalt testen und so die Insulindosis individuell bestimmen – eine schon erschwingliche „Lab-on-a-Chip“-Technologie, die die Lebensqualität verbessert.

Der Begriff „Mikrofluidik“ steht für Bauteile und Methoden, Flüssigkeiten auf Längenskalen unterhalb von einem Millimeter zu bewegen, zu kontrollieren und zu analysieren. Entsprechend dringt die „Nanofluidik“ in Submikrometerbereiche vor. Die Eigenschaften von Flüssigkeiten auf kleinen Längenskalen spielen in manchen Fachgebieten schon seit langem eine wichtige Rolle. In den letzten Jahren hat eine stürmische Entwicklung eingesetzt, zu der mehrere Faktoren beitrugen, z. B. die neu-

entwickelten, relativ kostengünstigen Verfahren zur Herstellung mikrofluidischer Bauteile und ein großer Bedarf der Analytik minimaler Probenvolumina in den Lebenswissenschaften.

Inzwischen sind Nano- und Mikrofluidik auf dem besten Weg, Schlüsseltechnologien des 21. Jahrhunderts zu werden. Neue Journale wie *Lab-on-a-Chip*¹⁾ oder *Microfluidics and Nanofluidics*²⁾ tragen dieser Entwicklung Rechnung. Kurz, „The small flow becomes main stream“.³⁾

Im Jahr 2010 soll der weltweite Marktwert mikrofluidischer Bauteile über 2 Milliarden US Dollar betragen,⁴⁾ wobei der Teil, der auf Inkjet-Technologien entfällt (ca. 10 Milliarden US Dollar für 2002⁵⁾) noch nicht mit einbezogen ist.

Das Design mikrofluidischer Chips erfordert das Zusammenspiel vieler Forschungsdisziplinen, da nicht nur kleine Strukturen in ungewöhnlichen Geometrien anzufertigen sind, sondern auch ein Verständnis des Zusammenspiels physikalischer, chemischer und biologischer Aspekte notwendig ist. Interdisziplinarität wird demnach groß geschrieben, und an der mikrofluidischen Forschung und Entwicklung beteiligen sich Wissenschaftler aus nahezu allen naturwissenschaftlichen und technischen Disziplinen.

Mikrofluidik in Aktion: das Lab-on-a-Chip

◆ Die meisten Anwendungen mikrofluidischer Chips findet man in der Chemie, der (Human-)Biologie, oder der Medizin, z. B. zur Dosierung von Arzneimitteln, für DNS-Analysen⁶⁾ oder zur Proteomik.⁷⁾

Die Vervielfältigung von DNS-Sequenzen mit der Polymerase-Kettenreaktion (PCR), erstmals 1986 beschrieben,⁸⁾ ist zu einem unverzichtbaren Werkzeug der Molekularbiologie, der Gensequenzierung und der klinischen Forschung geworden. Herkömmliche Instrumente zur Durchführung der PCR benötigen mehr als 90 Minuten, da die PCR Heiz- und Kühlzyklen verlangt, innerhalb derer die Aufspaltung, Anlagerung und Vervielfältigung erfolgt, und die Reaktionen erst einsetzen, wenn die jeweils erforderliche Temperatur erreicht ist. Um diesen Prozess zu beschleunigen, wird versucht, die Wärmekapazitäten und die Volumina so klein

wie möglich zu halten. Miniaturisierte PCR-Systeme, die diese Reaktionschritte im Fluss durchführen (Abbildung 1), haben so die Reaktionszeiten für 40 PCR-Zyklen auf 5 Minuten verringern können, da Temperaturänderungen in weniger als 100 ms durchgeführt werden können.^{9,10)}

Gegenüber konventionellen Verfahren sind die Lab-on-a-Chip-Techniken vor allem kostengünstiger. Dies liegt zum einen an der Massenfertigung (Batch-Verfahren), zum anderen aber an einer erheblichen Beschleunigung der Prozesse, die mit der Verwendung kleinster Fluidvolumina verbunden ist. Deshalb sind miniaturisierte chemische Analysensysteme, kurz μ TAS (Miniaturized Total Analysis Systems) genannt, heute überall auf dem Vormarsch. Sogar die Haute Cuisine ist auf den Chip gekommen: In den Mikroreaktoren eines Lab-on-a-Chip sollen die letzten Geheimnisse des ultimativen Gaumenkitzels durch „molekulare Gastronomie“ geklärt werden.¹¹⁾

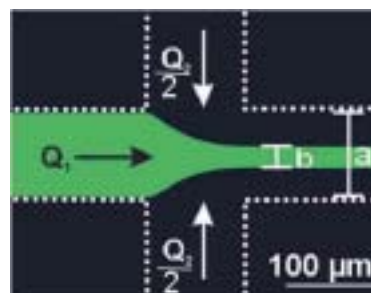


Abb. 3. Beispiel für hydrodynamisches Fokussieren, abgebildet durch Fluoreszenz-mikroskopie. In Kanal 1 fließt eine Fluorescein-Lösung, die im Bereich der Kanalkreuzung durch den Zufluss der beiden anderen Ströme Q_2 eingengt wird. Die Kanalwände sind gestrichelt ange deutet. (Abbildung aus Lit.²⁹⁾)

Herstellung mikrofluidischer Elemente

◆ Meist denkt man beim Schlagwort „Nanotechnologie“ an Silicium-Chips immer größerer Speicherdichte, an die LIGA-Technik (Lithographie-Galvanoformung-Abformung) zur Herstellung filigraner Strukturen oder an die mikro-elektro-mechanischen Systeme (MEMS), die mechanische Elemente, Sensoren, Motoren und elektronische Bauteile auf einem Träger aus Silicium integrieren.

Mit dem Zusammenwachsen der Nano- und Biotechnologie sind in den letzten Jahren weitere neue Industriezweige entstanden. Firmen, die neuartige Bauteile zur Feindosierung von Medikamenten, für Lab-on-a-Chip-Entwicklungen oder zur Analyse minimaler Flüssigkeitsmengen wie DNS oder Blut entwickeln, gewinnen derzeit große Marktanteile.

Obwohl die Herstellung von Ventilen und anderen Bauteilen mit LIGA hochentwickelt und die Branche weiterhin innovativ ist, erlangen in der „mikrofluidischen Nanotechnologie“ zunehmend alternative Herstellungstechniken und Werkstoffe an Bedeutung. Hydrogele,¹²⁾ Kunststoffe und Elastomere¹³⁾ erlauben eine schnelle und kostengünstige Herstellung aktiver und passiver mikrofluidischer Elemente. Insbesondere findet die weiche Lithographie⁷⁾ Anwendung. Hierbei werden polymere Kopien mit Strukturgrößen bis hinab zu 80 nm von einer mikromechanisch hergestellten Druckvorlage (master) abgeformt. Sogar die Fabrikation integrierter dreidimensionaler Kanäle und Reaktionskammern ist relativ einfach möglich (Abbildung 2). Dazu wird

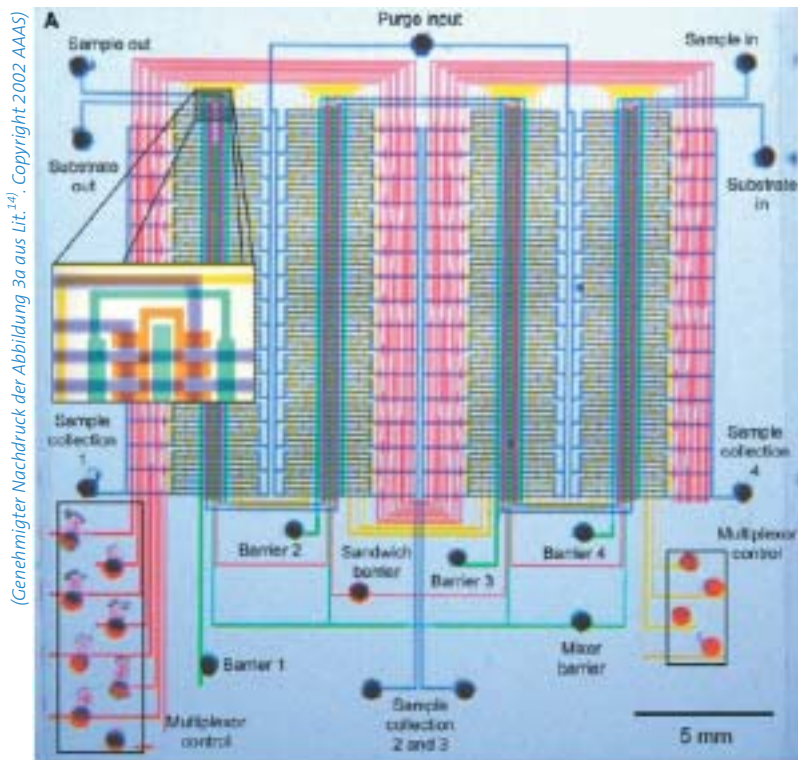


Abb. 2. Mikroskopische Aufnahme eines hochintegrierten mikrofluidischen Bauteils. Die Flüssigkeiten in den unterschiedlichen Einlässen sind mit Lebensmittelfarbe eingefärbt, um die Kanäle und Unterelemente sichtbar zu machen. Mit dem mehrlagigen Aufbau gelang es Thorsen, Maerkl und Quake, den ersten hochintegrierten flüssigen Mikrochip mit weicher Lithographie herzustellen.

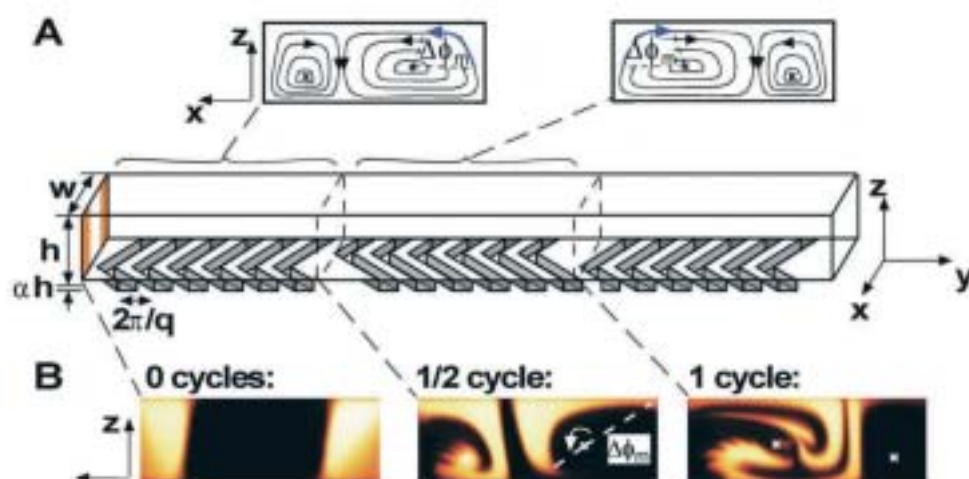


Abb. 4. Mit weicher Lithographie hergestellter Mischer. Das Fischgrätmuster an der Unterseite des Kanals induziert eine Rotationsbewegung der Flüssigkeit senkrecht zur Hauptströmungsrichtung. Das Fischgrätmuster besteht aus zwei aufeinanderfolgenden Bereichen, die sich durch ihre Symmetrie unterscheiden. A) Ein halber und ein ganzer Zyklus in schematischer Darstellung. B) Konfokale Mikroskopieaufnahmen in der xz-Ebene des Originalzustandes, nach einem halben und einem ganzen Zyklus. Zur besseren Sichtbarkeit wurde eine Flüssigkeit mit einem Fluoreszenzfarbstoff eingefärbt. (Genehmigter Nachdruck der Abbildung 2 aus Lit.²⁷). Copyright 2002 AAAS)

das mikrofluidische Bauteil aus mehreren Lagen zusammengesetzt, die jeweils mit weicher Lithographie geformt wurden.^{14,15)}

Selbst Ventile können in den Chip integriert werden. Dabei macht man sich die hohe Elastizität des verwendeten Silicium-Elastomers zu Nutze.¹⁶⁾ Übereinander angeordnete, sich kreuzende Kanäle sind nur durch eine dünne Elastomerschicht getrennt, die sich ausbeult, wenn in einen der beiden Kanäle, in den Steuerkanal, Luft gepresst wird.

Der andere Kanal wird somit geschlossen.

Um eine noch höhere Flexibilität bei der Manipulation von Flüssigkeiten zu erreichen, wird neuerdings auf die Integration aktiver Elemente hingearbeitet. So baut man die Pumpen direkt in den Mikrochip ein,^{17,18)} oder man transportiert die Flüssigkeit mit externen Feldern (z. B. Elektroosmose,¹⁹⁾ Elektrobenetzung,²⁰⁾ akustische Oberflächenwellen²¹⁾ und durch aktive Ventile oder optische Pinzetten.²²⁾

Wie mischen sich Milch und Kaffee auf der Mikroskala?

◆ Das Durchmischen zweier Fluide ist eine wesentliche Vorbedingung für deren chemische Reaktion und eine der Hauptaufgaben der Mikrofluidik. Die Mischung wird durch molekulare Diffusion bewirkt. Für große Moleküle wie DNS oder für Zellen ist dies ein sehr langsamer Prozess. Die Diffusionskonstante für DNS-Moleküle, die eintausend Basenpaare lang sind, liegt im Bereich von $10^{-7} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$.²³⁾ Die DNS-Moleküle benötigen daher eine gute Viertelstunde, um 100 Mikrometer weit zu diffundieren. Auf makroskopischen Skalen ist die Diffusion daher extrem langsam. Das kann jeder erahnen, der einmal darauf gewartet hat, bis sich Milch ohne Rühren mit Kaffee vermischt. Die Mischung wird auf großen Längenskalen also durch die vom Löffel erzeugten Wirbel der Strömung wesentlich beschleunigt. Die Entstehung von Wirbeln wird auf kleinen Längenskalen aber durch den Einfluss der Viskosität gehindert. Die Strömung ist meist laminar. Man kann also nur dafür sorgen, die Diffusion zu begünstigen, indem man die charakteristischen Längenskalen sehr klein hält, z. B. durch hydrodynamisches Fokussieren,²⁴⁾ gezeigt in Abbildung 3, oder durch chaotische Advektion.²⁵⁾ Um dies zu erreichen, kann man den



Karin Jacobs studierte an der Universität Konstanz Physik und war danach am Weizmann Institute of Science in Rehovot, Israel, tätig. 1997 schloss sie

ihre Promotion in Konstanz ab. Sie war von 1997 bis 1999 Postdoktorandin am MPI für Kolloid- und Grenzflächenforschung in Golm, 1999 Assistentin in der Abteilung Angewandte Physik an der Universität Ulm und 2001 Projektleiterin in der Zentralen Forschung der Bayer AG in Leverkusen. Seit November 2002 ist sie Professorin an der Universität des Saarlandes. Sie leitet u. a. das DFG-Schwerpunktprogramm 1164 „Nano- und Mikrofluidik“.



Ralf Seemann studierte Physik an der Universität Konstanz und promovierte 2001 an der Universität Ulm über die Benetzungseigenschaften

komplexer Fluide. Es folgte ein Aufenthalt an der Universität von Kalifornien in Santa Barbara, in dem er sich mit der Mikro- und Nanostrukturierung polymerer Materialien beschäftigte. Seit Ende 2003 ist er Assistent am MPI für Dynamik und Selbstorganisation in Göttingen, wo er eine Forschungsgruppe leitet, die sich unter anderem mit offener Mikrofluidik auf topographischen Oberflächen und digitaler Mikrofluidik befasst.



Hendrik Kuhlmann (geb. 1955) studierte Physik an der Universität Münster und promovierte 1986 an der Uni Saarbrücken mit einer theoretischen

Arbeit zur Taylor-Couette-Strömung bei Manfred Lücke. Als Feodor-Lynen-Stipendiat verbrachte er einen Forschungsaufenthalt an der Arizona State University bei G. Paul Neitzel. Seit 1989 arbeitet er am Zentrum für angewandte Raumfahrttechnologie und Mikrogravitation der Universität Bremen; seit 2003 ist er Professor für Numerische Strömungsmechanik an der Technischen Universität Wien.

Strom zweier paralleler Fluide geometrisch falten, wie in Abbildung 4 dargestellt. Die topographische Strukturierung erzeugt Wirbel, deren Ausdehnung im Bereich der Kanalweite liegt.^{26–28)}

Tropfen als Chemiereaktoren

◆ Auf kleinen Längenskalen werden Grenzflächenspannungseffekte äußerst wichtig. Man kann sie nutzen, um Emulsionströpfchen zu separieren und individuell weiter zu verarbeiten. Auch kann man, wie in Abbildung 5a gezeigt, Tröpfchen als effiziente Mischer verwenden. Die Passage durch einen welligen Kanal kann die zur Unterstützung der Diffusion erforderliche Dehnströmung induzieren. Ein Vorteil der Mischung in Tröpfchen ist, dass – im Gegensatz zum hydrodynamischen Fokussieren – keine axiale Dispersion stattfindet.³⁰⁾ Der Tröpfchenreaktor bietet deshalb eine vielversprechende Möglichkeit, chemische Reaktionen räumlich und zeitlich aufzulösen.

Insbesondere bei der Proteinkristallisation eröffnet die Mikrofluidik mit einzelnen Kompartimenten oder Tröpfchen neue Möglichkeiten.³¹⁾ So lassen sich die Kristallisationsbedingungen sehr flexibel und umfangreich variieren, indem man in einem mikrofluidischen Chip eine hohe Zahl von Tröpfchen mit unterschiedlichen Mischungsverhältnissen herstellt. Durch die Kontrolle der Verdunstungsrate der aus wässrigen Lösungen bestehenden Tröpfchen kann man den zeitlichen Verlauf der Konzentration und damit die Kristallisationsgeschwindigkeiten den Erfordernissen anpassen. Mit der Methode der kompartimentierten Mikrofluidik gelang es kürzlich, bis zu 100 verschiedene Experimente in einer 10 cm langen Kapillare durchzuführen und mit Röntgenstreuung zu analysieren.³²⁾

Herausforderungen

◆ Wie bei den Prozessoren auf Silumbasis kann man auch bei mikrofluidischen Komponenten von einer

Entwicklung zu immer kleineren Abmessungen ausgehen. Mit dem Schrumpfen der Längenskala λ treten jedoch Phänomene in den Vordergrund, die man auf der makroskopischen Längenskala oft vernachlässigen kann: Da die Oberfläche eines Körpers mit λ^2 und das Volumen mit λ^3 skalieren, nimmt die relative Bedeutung von Oberflächeneffekten auf kleinen Skalen mit $1/\lambda$ zu. Dies spielt eine wichtige Rolle bei der Wärmeübertragung. Auch die Haftbedingung von Fluiden an festen Wänden muss modifiziert werden, da ein „Schlupf“ (engl. slippage) auftritt. Über die Mechanismen und die Be-

einflussung des Schlupfs wird derzeit heftig diskutiert, weil die Strömungsbedingungen in Wandnähe das Geschwindigkeitsprofil beeinflussen. Von ihm hängen der Strömungswiderstand sowie die axiale Dispersion ab. Viele Gruppen untersuchen deshalb, wie man die festen Wände beschichten oder welche Zusätze zur Flüssigkeit man verwenden muss, um den Schlupf zu erhöhen.³³⁾

Auf noch kleineren Längenskalen, spätestens auf der Nanometerskala, bricht die Kontinuumschypothese für Flüssigkeiten zusammen und die Stoffe können ganz andere Eigenschaften haben. Zum Beispiel

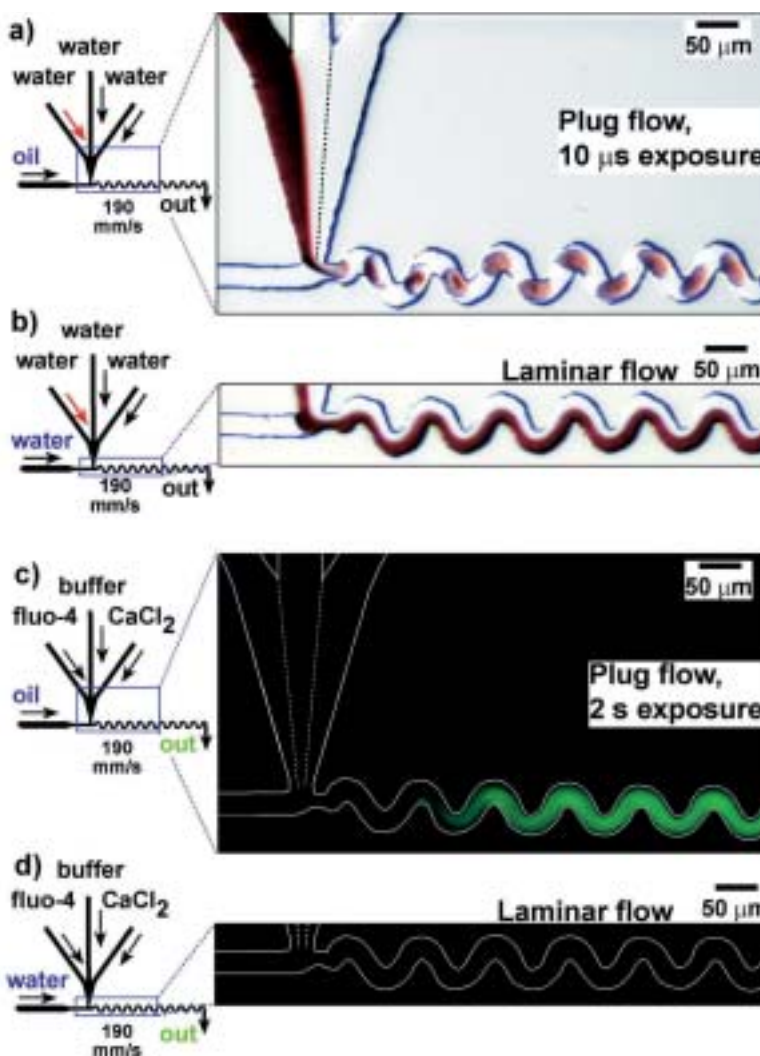


Abb 5. Linke Seite: schematische Darstellung; rechte Seite: mikroskopische Abbildungen. Ein Flüssigkeitsstrom wurde zur besseren Sichtbarkeit eingefärbt. a) Schnelles Mischen in kleinen Tropfen. Die durch den Wandkontakt induzierte Dehnströmung sorgt für schnelles Durchmischen. b) Durch den horizontalen Kanal strömt Wasser anstelle der öligen Phase in den Kanal. Die Flüssigkeit formt keine Tropfen und durchmischt nur rein diffusiv. c) und d) Langzeitbelichtete (2 s) Falschfarbenaufnahmen. Erst wenn Fluo-4- und CaCl_2 -Lösung sich mischen, zeigt sich Fluoreszenz. In c) ist dies der Fall, in d) nicht. (Abbildung aus Lit.³⁰⁾)

kann eine Polymerschmelze in Form eines nur wenige Nanometer dicken Films eine um fünf Größenordnungen reduzierte Viskosität aufweisen.³⁴⁾ In derartig eingeschränkten Geometrien wird der Charakter der Wechselwirkung zwischen einzelnen Molekülen wichtig. Die Mikro- und die „Nano-fluidmechanik“ bewegen sich physikalisch daher im Grenzbereich zwischen einer Kontinuums- und einer Partikelströmung. Bei der Beschreibung von Fluiden mit reiner Kontinuumstheorie und numerischer Modellierung als ein Ensemble diskreter Partikel klappt jedoch eine erhebliche Lücke. Simulationen sind bis heute nur mit sehr begrenzter Partikelzahl möglich. Da Nichtkontinuumseffekte bei hochmolekularen Fluiden schon auf vergleichsweise großen Längenskalen wirksam werden, sind die genannten Probleme von besonderer Bedeutung in der Biotechnologie.

Zum Studium dieser grundlegenden Thematik haben sich in Deutschland Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler im DFG-Schwerpunkt 1164 „Nano- und Mikrofluidik: von der molekularen Bewegung zur kontinuierlichen Strömung“ zusammengeschlossen.³⁵⁾ Ihr Ziel ist es, die Lücke zwischen Partikelbewegung und Kontinuumsströmung zu schließen und die grundlagenwissenschaftliche Basis für weitere Entwicklungen in der Nano- und Mikrofluidik zu legen. Die Vielfalt möglicher technischer

Anwendungen war auch schon einem der Urväter der Mikro- und Nanotechnologie, Richard P. Feynman, bewusst:

„There is plenty of room at the bottom...“

Karin Jacobs

Experimentalphysik

Universität Saarbrücken

k.jacobs@physik.uni-saarland.de

Ralf Seemann

MPI für Dynamik und

Selbstorganisation, Göttingen

rseeman@gwdg.de

Hendrik Kuhlmann

Institut für Strömungsmechanik und

Wärmeübertragung, TU Wien

hk@fluid.tuwien.ac.at

- 1) www.rsc.org.
- 2) www.springeronline.com.
- 3) D. Li, *Microfluid Nanofluid* 2004, 1, 1.
- 4) „EMMA“: Emerging Markets for Microfluidic Applications, Yole Developpement, Lyon, France, www.yole.fr/pagesAn/products/emma.asp.
- 5) *Microfluidics in Europe, Asean Technology Information Program*, Albuquerque, NM, USA, 2002.
- 6) D. D. Bowtell, *Nature Genetics* 1999, 21, 25.
- 7) N. Lion et al., *Electrophoresis* 2003, 24, 3533.; A. D. Weston, L. Hood, J. Proteome Research 2004, 3, 179.
- 8) K. B. Mullins et al., *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 1986, 51, 263.
- 9) M. U. Kopp, A. J. de Mello, A. Manz, *Science* 1998, 280, 1046; P. J. Obeid et al., *Anal. Chem.* 2003, 75, 288.
- 10) A. J. de Mello, *Nature* 2003, 422, 28.
- 11) H. This, *Nature Materials* 2005, 4, 5.
- 12) D. Beebe et al., *Nature* 2000, 404, 588.
- 13) S. K. Sia, G. M. Whitesides, *Electrophoresis* 2003, 24, 3563.

- 14) T. Thorsen, S. J. Maerkl, S. R. Quake, *Science* 2002, 298, 580.
- 15) B. H. Weigl, R. L. Bardell, C. R. Cabera, *Adv. Drug Del. Rev.* 2003, 55, 349.
- 16) M. A. Unger, H.-P. Chou, T. Thorsen, A. Scherer, S. R. Quake, *Science* 2000, 288, 113.
- 17) D. J. Laser, J. G. Santiago, *J. Micromech. Microeng.* 2004, 14, 35.
- 18) D. S. Reichmuth, T. J. Shepodd, B. J. Kirby, *Anal. Chem.* 2004, 76, 5063.
- 19) D. A. Saville, *Annu. Rev. Fluid Mech.* 1977, 9, 321.
- 20) F. Mugele, A. Klingner, J. Buehrle, D. Steinhäuser, S. Herminghaus, *J. Phys. Condens. Matter*, im Druck.
- 21) Z. Gутtenberg, A. Rathgeber, S. Keller, J. O. Rädler, A. Wixforth, M. Kostur, M. Schindler, P. Talkner, *Phys. Rev.* 2004, E 70, 056311.
- 22) D. G. Grier, *Nature* 2003, 424, 810; D. J. Beebe, *Nature* 2000, 404, 588.
- 23) J. S. Bader et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1999, 96, 13165.
- 24) J. B. Knight, A. Vishwanath, J. P. Brody, R. H. Austin, *Phys. Rev. Lett.* 1998, 80, 3863.
- 25) Die Advektion ist die Bewegung des gelösten Stoffes mit der mittleren Richtung und Geschwindigkeit der Strömung. Die molekulare Diffusion hingegen bewirkt, unabhängig von Richtung und Betrag der Strömungsgeschwindigkeit, einen Ausgleich von Konzentrationsunterschieden. Infolge der Brownschen Molekularbewegung gelangen gelöste Stoffe von Orten höherer Konzentration zu Orten mit niedrigerer Konzentration. Die in alle Richtungen wirkende Ausbreitung führt zu einer Vermischung.
- 26) N.-T. Nguyen, Z. Wu, *J. Micromech. Microeng.* 2005, 15, R1; T. H. Solomon, I. Mezic, *Nature* 2003, 425, 376; M. H. Oddy, J. G. Santiago, J. C. Mikkelsen, *Anal. Chem.* 2001, 73, 5822.
- 27) A. D. Stroock et al., *Science* 2002, 295, 647.
- 28) H. A. Stone, A. D. Stroock, A. Ajdari, *Annu. Rev. Fluid. Mech.* 2004, 36, 381.
- 29) T. Pfohl, F. Mugele, R. Seemann, S. Herminghaus, *ChemPhysChem.* 2003, 4, 1291.
- 30) H. Song, J. D. Tice, R. F. Ismagilov, *Angew. Chem.* 2003, 1145, 792.
- 31) P. S. Dittich, M. Jahn, P. Schwill, *Chem-BioChem* 2005, im Druck.
- 32) B. Zheng, J. D. Tice, L. S. Roach, R. F. Ismagilov, *Angew. Chem.* 2004, 116, 2562.
- 33) J. J. Cho, B. M. Law, F. Rieutord, *Phys. Rev. Lett.* 2004, 92, 166102; S. Granick, Y. Zhu, H. Lee, *Nature Materials* 2003, 2, 221; L. Bureau, L. Leger, *Langmuir* 2004, 20, 4523, zit. Lit.
- 34) S. Herminghaus, K. Jacobs, R. Seemann, *Eur. Phys. J.* 2001, E 5, 531; J. L. Keddie, R. A. L. Jones, R. A. Cory, *Europhys. Lett.* 1994, 27, 59.
- 35) www.softmatter.de

