

CHEMOFLUIDISCHE SCHALTKREISE – PLATTFORM ZUR AUTOMATISIERUNG VON MEHRSTUFENPROTOKOLLEN ZUR DIAGNOSE VON ATEMWEGSINFEKTIONEN

CHEMOFLUIDIC CIRCUITS – A PLATFORM FOR AUTOMATING MULTISTEP PROTOCOLS FOR THE DIAGNOSIS OF RESPIRATORY INFECTIONS

Andreas Richter^{1,3}, Mario Menschikowski^{2,3}, Denise Gruner¹, Mohammed Shahadha^{1,3}, Markus Friedemann^{2,3}, Franziska Obst^{1,3}, Theo Spitzner^{1,3}, Johanna Dohndorf¹, Johannes Paul^{1,3}

¹Dresden University of Technology, Chair of Microsystems, Germany, andreas.richter7@tu-dresden.de

²University Hospital Carl Gustav Carus Dresden, Germany, mario.menschikowski@ukdd.de

³Diamics GmbH, Dresden, Germany, Johannes.paul@diamics.com

Kurzfassung

Die COVID-19-Pandemie hat den Bedarf an skalierbaren, dezentralen Point-of-Care-Diagnostikplattformen verdeutlicht. Chemofluidik bietet hierfür ein neuartiges Konzept: Stimuli-responsive Polymere fungieren als chemofluidische Transistoren und ermöglichen die autonome Steuerung mikrofluidischer Prozesse ohne elektronische Off-Chip-Kontrolle. Auf Basis mehrlageriger Integrations- und Drucktechnologien lassen sich komplexe logische und analoge Schaltungen realisieren, mit denen man vollständig integrierte POCT inklusive Probenaufbereitung, isotherme Amplifikation und Multiplex-Detektion auf einem Chip automatisieren kann. Die chemofluidische Hardware-Zeitsteuerung gewährleistet ein robustes, reproduzierbares Ablaufprogramm und zeigt das Potenzial großflächig integrierter, autonom arbeitender Diagnostiksysteme.

Abstract

The COVID-19 pandemic has highlighted the urgent need for scalable, decentralized point-of-care diagnostic platforms. Chemofluidics offers a novel approach in this context: stimuli-responsive polymers act as chemofluidic transistors, enabling autonomous control of microfluidic processes without electronic off-chip regulation. Based on multilayer integration and printing technologies, complex logical and analog circuits can be implemented to automate fully integrated POCT systems, including sample preparation, isothermal amplification, and multiplex detection on a single chip. The intrinsic chemofluidic hardware timing ensures a robust and reproducible workflow, demonstrating the potential of large-scale integrated, self-contained diagnostic systems.

1 Einleitung

Die COVID-19-Pandemie hat verdeutlicht, dass die molekulare Diagnostik ein essenzielles Instrument für das präzise Testen, Überwachen und Eindämmen pandemischer wie epidemischer Ereignisse darstellt [1]. Gleichzeitig zeigte sich jedoch, dass selbst hervorragend ausgestattete Zentrallaboratorien in Industrieländern aufgrund begrenzter Skalierbarkeit, logistischer Abhängigkeiten und komplexer Prozessketten rasch an ihre Kapazitätsgrenzen stoßen können. Diese strukturellen Engpässe führten zu Verzögerungen in der Testauswertung und machten die Verwundbarkeit zentralisierter Diagnostikstrukturen deutlich. Vor diesem Hintergrund ist die Entwicklung dezentraler Point-of-Care-Plattformen, die idealerweise den ASSURED-Kriterien der World Health Organization entsprechen, zu einem prioritären Ziel der Lab-on-Chip-Community für die kommende Dekade geworden [2]. Solche tragbaren Point-of-Care-Tests (POCT) sollen erschwinglich, sensitiv, spezifisch, benutzerfreundlich, schnell, robust, geräteunabhängig und einfach distribuiert sein, sodass sie prinzipiell von jedermann und nahezu überall eingesetzt werden können. Dadurch ließe sich der Flaschenhals

zentralisierter Laborinfrastruktur konzeptionell umgehen und zugleich eine zuverlässige Diagnostik in ressourcenlimitierten Umgebungen ermöglichen.

Trotz intensiver Forschungsaktivitäten existieren bislang nur wenige Plattformen, die tatsächlich portable, feldtaugliche und weitgehend autonom arbeitende Geräte für die molekulare Infektionsdiagnostik bereitstellen [3]. Die Arbeitsgruppe von N. Pamme demonstrierte beispielsweise ein Lab-on-a-Chip-System auf Basis magnetischer Beads mit integrierter RNA-Extraktion und Amplifikation mittels RT-LAMP, das den Nachweis von 470 Kopien genomischer RNA innerhalb einer Stunde ermöglichte [4]. Hinsichtlich Nachweischemie und analytischer Sensitivität nicht unmittelbar vergleichbar ist das vollständig durch Kapillarschaltungen automatisierte SARS-CoV-2-Antikörperassay mit enzymatischer Signalverstärkung auf ELISA-Basis der Gruppe von D. Juncker, das ebenfalls innerhalb von etwa einer Stunde Ergebnisse liefert [5]. Beide Ansätze verdeutlichen die Fortschritte auf dem Gebiet integrierter mikrofluidischer Diagnostik, zeigen jedoch zugleich die anhaltende Abhängigkeit vieler Systeme von externer Instrumentierung oder elektronischer Steuerung.

Eine vielversprechende zusätzliche Alternative zur elektronischen Automatisierung komplexer mikrofluidischer Prozesse stellt die Chemofluidik dar, die im Folgenden als eigenständiges Konzept vorgestellt und diskutiert wird.

2 Chemofluidische Schaltkreise

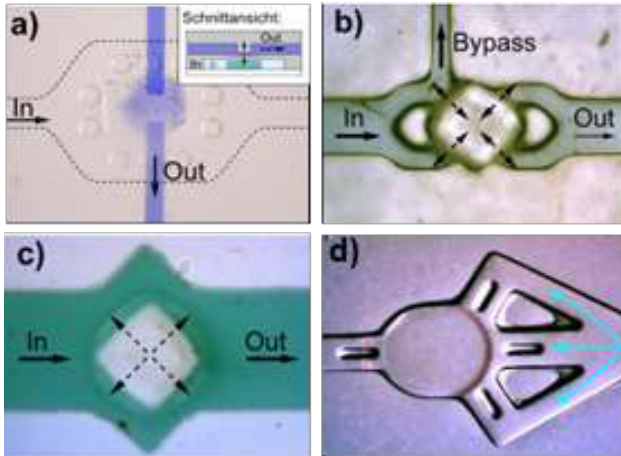


Bild 1 Chemofluidische Bauelemente. a) Membranisolierter Volumenphasenübergangstristor, b) Volumenphasenübergangstristor, c) chemofluidisches Schließventil, d) chemofluidische Diode nach [6-8,18]

Die Chemofluidik als mikrofluidische Lab-on-Chip-Plattform besitzt eine konzeptionelle Alleinstellung, da sie bislang das einzige Schaltkreiskonzept darstellt, das fluidische Prozesse durch unmittelbares Feedback zwischen Bauelement und Prozessmedium steuert und dabei vollständig ohne eine elektronische Off-Chip-Steuerung auskommt. Im Zentrum dieses Ansatzes stehen stimuli-sensitiven Polymere – insbesondere Hydrogele wie PNIPAAmbasierte Systeme sowie lösliche Polymere wie Polyethylenglykol (PEG) – die eine ausgeprägte, reversible Volumen- oder Eigenschaftsänderung in Abhängigkeit von chemischen Stimuli wie Lösungsmittelkonzentration, pH-Wert oder Salzgehalt zeigen. Diese intrinsisch aktiven Materialien fungieren zugleich als Sensor und Aktor und ermöglichen so eine direkte Kopplung zwischen chemischer Informationsdomäne und fluidischer Transportdomäne. Der chemische Zustand des Prozessmediums wird unmittelbar in eine mechanische Antwort – etwa das Öffnen oder

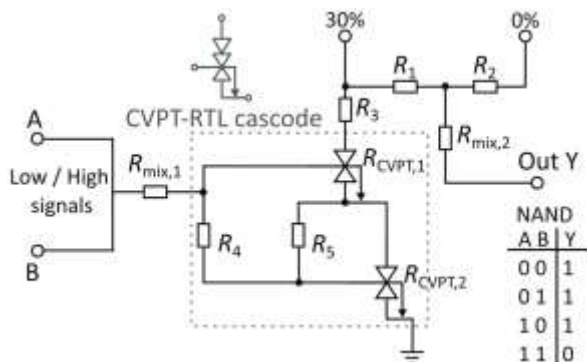


Bild 2 Schaltplan einer chemofluidischen Kaskode auf Basis von chemischen Volumenphasenübergangstristoren nach [8]

Schließen eines Strömungspfad – übersetzt, wodurch chemische Information auf Chipebene verarbeitet werden kann.

Die daraus abgeleitete Bauelementepalette ist außerordentlich breit und umfasst unter anderem hydrogelbasierte Pumpen, Chemostatventile mit einstellbaren Schwellenwerten [9], chemofluidische Transistoren [10], Dioden, abstimmbare Mikrofilter und -poren [11,12], Speicherelemente sowie Analog-Digital-Wandler [13] (siehe auch **Bild 1**). Insbesondere der chemofluidische Transistor – realisiert als Volumenphasenübergangstristor oder als membranisolierter Volumenphasenübergangstristor (MIS-CVPT) – bildet das funktionale Pendant zum elektronischen Transistor und stellt die zentrale skalierbare Komponente einer integrierten chemofluidischen Schaltungstechnik dar. Analog zur Mikroelektronik lassen sich durch geeignete Grundsaltungen Hardwareinstruktionen implementieren; durch Kaskadierung und modulare Verschaltung entstehen komplexe Programmsequenzen mit autonomer Signalpropagation im chemischen und fluidischen Bereich.

Technologisch basiert die Chemofluidik auf einer Mehrlagentechnologie, die strukturell an mikroelektronische Integrationsverfahren erinnert. Fluidische Kanäle, Membranen, Aktorschichten und funktionale Polymerstrukturen werden in übereinanderliegenden Ebenen präzise ausgerichtet und miteinander gekoppelt. Die Integration aktiver Polymerbauelemente kann dabei sowohl photolithografisch – beispielsweise durch *in-situ*-Polymerisation strukturierter Hydrogele in definierten Kammern – als auch mittels additiver Multimaterialdruckverfahren erfolgen. Insbesondere der Multimaterialdruck erlaubt die flexible, maskenlose Herstellung funktionaler Schaltungen mit verschiedenen aktiven Materialien auf großflächigen Substraten und eignet sich damit besonders für die schnelle Prototypisierung und Kleinserienfertigung [14]. Photolithografische Verfahren hingegen bieten hohe laterale Präzision und Reproduzierbarkeit und ermöglichen die Realisierung komplexer, dicht integrierter Schaltungen mit vergleichbaren Toleranzen wie in der Halbleitertechnik [15]. Beide Ansätze eröffnen perspektivisch eine skalierbare Schaltkreisfertigung im Sinne einer chemofluidischen Integrationstechnologie.

Die chemofluidische Schaltungstechnik profitiert dabei in erheblichem Maße von Konzepten der elektronischen

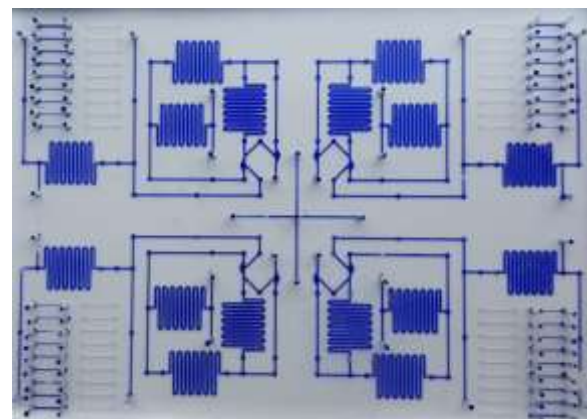


Bild 3 Chemofluidischer Chip mit 4 Kaskoden nach [8]

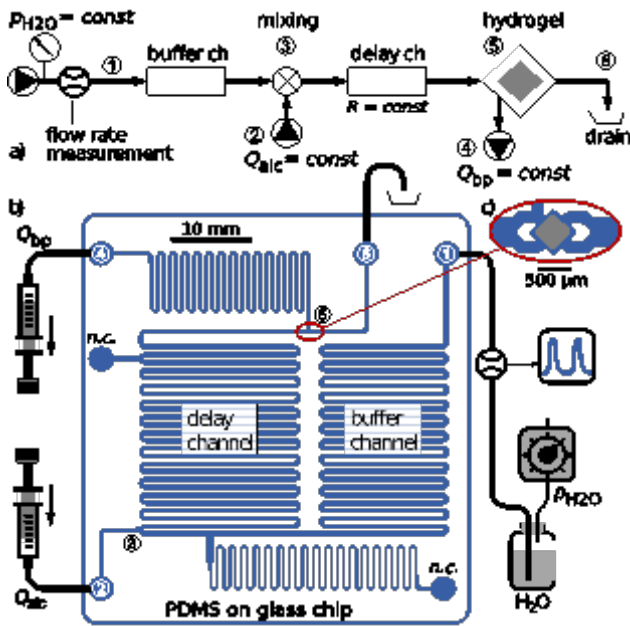


Bild 4 Chemofluidischer Verzögerungsleitungsoszillator nach [16]

Schaltungstheorie. So existieren zwei grundlegende Transistorkonzepte: Der membranisierte Volumenphasenübergangstransistor weist funktionale Analogien zum Feldeffekttransistor (FET) auf, da ein chemisches Steuerungssignal in einem Kontrollkanal den Strömungswiderstand zwischen Source und Drain moduliert. Der nicht-membranisierte Volumenphasenübergangstransistor realisiert hingegen eine direktere Kopplung zwischen chemischer und fluidischer Domäne. In diskreter Schaltungstechnik konnte auf dieser Basis eine resistor-transistor-inspirierte Logik aufgebaut werden, die eine umfangreiche Palette logischer Gatter (INV, AND, OR, NAND, NOR), sequenzielle Logik mit verschiedenen Flipflops sowie autonome Oszillatoren (**Bild 4**) umfasst [7, 8]. Darüber hinaus wurden analoge Schaltungen wie Mischer, Verstärker, Komparatoren und Kaskoden (**Bilder 2 und 3**) demonstriert, wodurch sich die chemofluidische Plattform nicht nur für digitale, sondern auch für kontinuierliche Signalverarbeitung eignet.

Der Übergang von einzelnen Bauelementen zu hochintegrierten chemofluidischen Schaltungen bleibt jedoch eine erhebliche Herausforderung. Ursache hierfür sind ausgeprägte Materialnichtlinearitäten, diffusionsgetriebene Dynamiken sowie komplexe domänenübergreifende Wechselwirkungen auf materialwissenschaftlicher, physikalischer, chemischer und teilweise biologischer Ebene. Die starke Kopplung von Strömungsmechanik, Transportprozessen und nichtlinearer Polymerthermodynamik führt zu dynamischen Effekten wie Hysterese, Schwellenverhalten oder Bifurkationen, die eine rein empirische Auslegung komplexer Schaltungen erschweren. In mehreren Arbeiten erwiesen sich daher ausschließlich experimentelle Optimierungsstrategien als unzureichend, was die frühzeitige Entwicklung domänenübergreifender Simulations- und Entwurfswerkzeuge motivierte. Hierzu zählen netzwerkbaasierte Modellierungsansätze in Analogie zur elektrischen

Schaltungssimulation ebenso wie bifurkationsbasierte Analysen zur Identifizierung stabiler Arbeitspunkte und Oszillationsregime [17]. Erst durch die Kombination aus skalierbarer Mehrlagenfertigung, präziser Integration aktiver Materialien und rechnergestütztem Schaltungsentwurf wird die Perspektive einer großflächig integrierten, autonomen chemofluidischen Schaltungstechnik realistisch [18].

3 Chemofluidischer POCT

Die derzeitigen Goldstandard-Nukleinsäuretests erfordern eine Vielzahl separater Prozessschritte, die durch geschultes Personal an spezifischer Instrumentierung in Laborumgebungen durchgeführt werden müssen. Dazu zählen Probenlyse, Nukleinsäurebindung und -reinigung, Elution, Reagenzvorbereitung, Amplifikation und Detektion – meist verteilt auf mehrere Geräteplattformen. Diese fragmentierte Prozesskette ist zeit- und ressourcenintensiv und limitiert insbesondere bei hoher Testnachfrage die Skalierbarkeit der Diagnostik. Unser mikrofluidischer Testchip integriert und automatisiert diese Schritte vollständig auf einer einzigen Plattform.

Nach Einbringen einer geeigneten Patientenprobe erfolgt zunächst die Freisetzung der Zielnukleinsäuren mittels eines geeigneten Lyse- und Bindsystems sowie deren Anbindung an eine integrierte Festphase innerhalb des Chips. In einem nachgeschalteten Reinigungsschritt werden gebundene Nukleinsäuren durch definierte Waschbedingungen von störenden Matrixbestandteilen und potenziellen Inhibitoren befreit. Anschließend erfolgt die Elution der aufgereinigten Nukleinsäure und deren Überführung in die nachfolgende Prozessstufe. Dort wird das Eluat mit einem isothermen Amplifikationssystem kombiniert, in separate Reaktionskammern dosiert, diese verschlossen und unter konstanten Temperaturbedingungen amplifiziert. Die Plattform ist grundsätzlich für die parallele Detektion mehrerer respiratorischer Zielsequenzen ausgelegt und erlaubt eine zeitnahe Auswertung mit einer analytischen Leistungsfähigkeit, die mit etablierten laborbasierten Referenzmethoden vergleichbar ist.

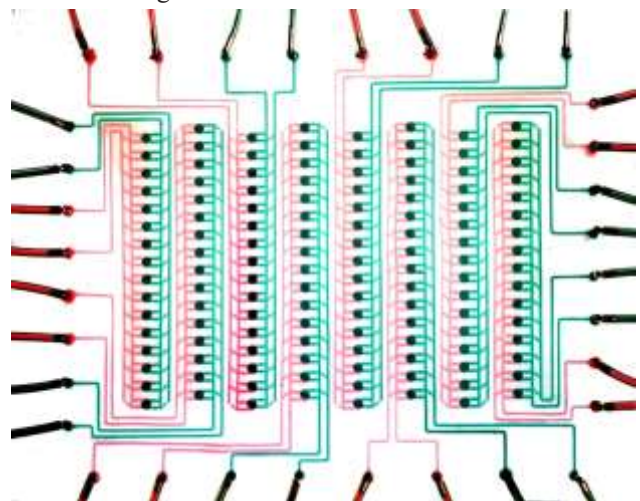


Bild 5 Chemofluidischer Schaltkreis mit 2.096 Schaltelementen und 384 Reaktionskaskaden für äquidistante Untersuchungen von Bioreaktoren nach [18]

Die gesamte Fluidhandhabung der durch eine Druckquelle angetriebenen Flüssigkeiten wird von einem Netzwerk chemofluidischer Schalter [6, 18] gesteuert, das auf stimuli-responsiven Materialien wie Hydrogelen und löslichen Polymeren basiert. Diese intrinsisch aktiven Materialien koppeln chemische Zustandsgrößen direkt an mechanische Schaltvorgänge und ermöglichen dadurch eine autonome Prozessführung ohne elektronische Off-Chip-Steuerung. Die zugrunde liegenden Basisschaltungen [7,8] übernehmen das zeitlich definierte Zu- und Abschalten einzelner Flüssigkeitsströme, das sequentielle Mischen und Dosieren von Reagenzien sowie deren gerichtete Weiterleitung durch das mikrofluidische Netzwerk. Darüber hinaus realisieren sie das zuverlässige Verschließen von Reaktionskammern und Schnittstellen, sodass kontrollierte Reaktionsbedingungen für die Amplifikation gewährleistet sind.

Der zeitliche Ablauf des gesamten Chipprotokolls wird durch die Dynamik der chemofluidischen Schalter und die definierten Strömungsparameter innerhalb des Systems bestimmt. Die materialintrinsische Schaltkinetik fungiert dabei als integrierte „Hardware-Zeitsteuerung“, wodurch ein reproduzierbares und robustes Prozessprogramm entsteht. Das implementierte chemofluidische Ablaufkonzept zeigt eine hohe Stabilität gegenüber moderaten Schwankungen von Betriebsparametern wie Druck, Temperatur oder Probenzusammensetzung.

Obwohl die Chips aus einer Vielzahl funktional differenzierter Lagen aufgebaut sind, lassen sie sich kosteneffizient durch eine Kombination aus Filmstrukturierungs-, Druck- und lithografischen Prozessen herstellen [14]. Diese Mehrlagentechnologie erlaubt die Integration fluidischer Kanäle, funktionaler Membranen, Dichtstrukturen und aktiver Polymerbauelemente in einem skalierbaren Fertigungsprozess und bildet damit die Grundlage für eine wirtschaftliche Realisierung hochintegrierter, autonom arbeitender mikrofluidischer Diagnostikplattformen.

4 Literatur

- [1] Baldeh, M., *et al.*, „Lessons from the pandemic: new best practices in selecting molecular diagnostics for point-of-care testing of infectious diseases in sub-Saharan Africa”, *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 2024, **24** (3), 153.
- [2] N. Pamme, „Microfluidics for clinical diagnostics and environmental analysis in resource-limited settings”, *MicroTAS 2023*, October 13-17, 2023, Katowice, Poland.
- [3] Moetlhoa, B., *et al.*, „REASSURED diagnostics at point-of-care in sub-Saharan Africa: A scoping review”, *PLOS Glob Public Health*, 2023, **3** (6), e0001443.
- [4] Rodrigues-Mateos, P., *et al.*, „A lab-on-a-chip platform for integrated extraction and detection of SARS-CoV-2 RNA in resource-limited settings”, *Analytica Chimica Acta*, 2021, **1177**, 338758.
- [5] Yafia, M., *et al.*, „Microfluidic chain reaction of structurally programmed capillary flow events”, *Nature*, 2022, **605**, 464.
- [6] Beck, A. *et al.*, "Fundamentals of Hydrogel-Based Valves and Chemofluidic Transistors for Lab-on-a-Chip Technology: A Tutorial Review," *Adv. Mater. Technol.*, 2023, **8**, 2200417
- [7] Frank, P., *et al.*, "Autonomous Integrated Microfluidic Circuits for Chip-Level Flow Control Utilizing Chemofluidic Transistors," *Adv. Funct. Mater.*, 2017, **27**, 1700430
- [8] Beck, A. *et al.*, "Logic Circuits Based on Chemical Volume Phase Transition Transistors for Planar Microfluidics and Lab-on-a-Chip Automation," *Adv. Mater. Technol.*, 2022, **7**, 2200185
- [9] Richter, A. *et al.*, „Controlled Double-Sensitivity of Microgels Applied to Electronically Adjustable Chemostats”, *Adv. Mater.*, 2007, **19**, 1109–1112
- [10] Frank, P. *et al.*, Integrated Microfluidic Membrane Transistor Utilizing Chemical Information for On-Chip Flow Control, *PLoS One*, 2016, **11**, 1–17
- [11] Ehrenhofer, A. *et al.*, „Permeation control in hydrogel-layered patterned PET membranes with defined switchable pore geometry - Experiments and numerical simulation,” *Sens. Actuat. B*, 2016, **232**, 499–505
- [12] Haefner, S. *et al.*, „Chemically Controlled Micro-Pores and Nano-Filters for Separation Tasks in 2D and 3D Microfluidic Systems”, *RSC Advances*, 2017, **7**, 49279 – 49289
- [13] Haefner, S. *et al.*, „Smart hydrogels as microfluidic storage elements with sampling readout functionality in discontinuous microfluidic systems”, *Lab Chip*, 2016, **16**, 3977-3989
- [14] Kutscher, A., *et al.*, "Fabrication of Chemofluidic Integrated Circuits by Multi-Material Printing", *Micromachines*, 2023, **14**, 699
- [15] Haefner, S. *et al.*, „High integration of microfluidic circuits based on hydrogel microvalves for MEMS control”, *Adv. Mater. Technol.* 2017, 1700108
- [16] Paschew, G. *et al.*, „Autonomous chemical oscillator circuit based on bidirectional chemical-microfluidic coupling”, *Adv. Mater. Technol.*, 2016, **1**, 1600005
- [17] Páez Chávez, J. *et al.*, „A New Self-Excited Microfluidic Oscillator Based on Stimuli-Responsive Hydrogels: Mathematical Modeling and Dynamic Behavior”, *Appl. Math. Modelling*, 2016, **40**, 9719-9738
- [18] Greiner, R. *et al.*, „Fluidic microchemomechanical integrated circuits processing chemical information”, *Lab Chip*, 2012, **12**, 5034 - 5044