

Kapitel 1

Einleitung

1.1 Biosensoren

Die Entschlüsselung des menschlichen Erbgutes war eine der größten Herausforderungen der letzten Jahrzehnte. Nahezu zeitgleich erreichten unterschiedliche Forschergruppen das gemeinsame Ziel, die Kartierung der Basensequenzen des menschlichen Genoms. Die neue Herausforderung besteht nun darin, Nutzen aus diesen Ergebnissen zu ziehen. Dazu Sensoren zur Identifikation und Charakterisierung biomolekularer Interaktionen, *Biosensoren*, von entscheidender Bedeutung. Einen initialen An Schub lieferten bereits die Entwicklungsarbeiten im Bereich der Biochip-Lesegeräte, die zur Fluoreszenzdetektion der an die Moleküle angehefteten Farbstoffe eingesetzt werden. Je nach Einsatzgebiet der Biosensoren ergeben sich jedoch Fragestellungen, deren Lösung mit *markierungsfreien* Biosensoren deutlich vereinfacht oder überhaupt erst ermöglicht wird. Insbesondere bei kleinen Molekülen ist eine Markierung nicht unproblematisch, da die Reaktionskinetik des Marker-Biomolekül-Komplexes aufgrund der deutlichen Änderung des Molekulargewichtes von derjenigen des isolierten Moleküls abweichen kann.

Die Interaktion von Makromolekülen, beispielsweise Proteinen, mit anderen (Makro-)Molekülen und ihre Charakterisierung stellt einen zentralen Forschungsaspekt in den Biowissenschaften dar. Bei der Suche nach neuen Wirkstoffen besteht die Hauptaufgabe im Nachweis der Interaktion eines Rezeptors, des s.g. Target, mit Biomolekülen aus bestehenden Wirkstoffbibliotheken. Da es sich innerhalb der Bibliotheken um eine beträchtliche Anzahl unterschiedlichster Biomoleküle handelt, unter anderem auch sehr

kleiner Moleküle mit einem Molekulargewicht von weniger als 300 Dalton (small molecules), ist die Markierung dieser zum einem sehr zeitaufwändig und zum anderen teilweise nicht ohne die Beeinträchtigung des Bindungsverhaltens möglich. Die Aufgabenstellung für diesen Anwendungsbereich ist der Nachweis einer Anlagerung der Moleküle an ein Target.

Der Einsatz markierungsfreier Biosensoren erlaubt aber auch die Verfolgung des Bindungsprozesses während der Anlagerung und macht diese Messtechnik insbesondere für kinetische Analysen biologischer Interaktionen interessant, wie sie heute in nachgeschalteten Prozessen in der Wirkstoffsuche durchgeführt werden.

Von Bedeutung sind markierungsfreie Biosensoren auch im Bereich der medizinischen Diagnostik, wo in einem Analyten eine Vielzahl unterschiedlicher Moleküle vorhanden sein kann und nach dem Vorkommen und der Konzentration eines speziellen Molekül gesucht wird. Einsatzgebiet ist hier die Analyse von Vollblut oder Serum hinsichtlich verschiedener Parameter. In diesem Themenkomplex ist die Spezifität der Biosensoren von entscheidender Bedeutung.

1.2 Gliederung der Arbeit

Diese Fragestellungen waren der Anlass für die vorliegende Arbeit. Zunächst wird ein Anforderungsprofil für das Messsystem definiert.

Im ersten Teil dieser Arbeit werden unterschiedliche Konzepte für die markierungsfreie Detektion biomolekularer Interaktionen beleuchtet. Schwerpunkt der Betrachtung ist der Vergleich der Leistungsfähigkeit unterschiedlicher Sensorkonzepte auf der Basis theoretischer, physikalischer Modelle. Dabei stellt die Sensitivität den zentralen Aspekt der Betrachtungen dar. Hierzu ist eine Optimierung unterschiedlichster Parameter für die einzelnen Konzepte erforderlich. Ein weiter wichtiger Aspekt ist die Fehlertoleranz des Systems, insbesondere in Bezug auf anwendungsspezifische Fehlerquellen.

Den theoretischen Ausführungen folgt der praktische Teil, in dem ein Sensor-konzept definiert und in geeignete Demonstratoren umgesetzt wird. Dabei werden zwei unterschiedliche optische Ansätze verfolgt, gekoppelt an unterschiedliche biophysikalische Signalwandler. Neben dem optischen Design des Systems wird im praktischen Teil ein Schwerpunkt auf die unterschiedlichen Prozesstechnologien, die sich prinzipiell für die Herstellung der biophysikalischer Signalwandler eignen, gelegt.

Im letzten Teil der Arbeit wird das aufgebaute Messsystem in verschiedenen Messreihen charakterisiert. Das Auflösungsvermögen des interferometrischen Biosensors wird anhand von refraktiven Messreihen bestimmt. Mit ausgewählten Affinitätsmessungen wird die miniaturisierte Sensorplattform für die markierungsfreie Detektion biomolekularer Interaktionen auf ihre Eignung für heute biologisch relevante Fragestellungen überprüft. Abschließend werden die Ergebnisse der Charakterisierung mit den theoretischen Betrachtungen verglichen und diskutiert.