DNAUTOMAT - INTEGRATED LAB-ON-A-CHIP DEVICE FOR IMPROVED PATHOGEN CHARACTERIZATION



Projektträger:
AIT Austrian Institute of Technology

Wissenschaftliche Leitung:
Christa Nöhammer

Weitere beteiligte Einrichtungen:
ProCon
Biegler

Forschungsfeld:
Infektiologie

Förderinstrument: Projekte Grundlagenforschung

Projekt-ID: LS10-015

Projektbeginn: 01. November 2011

Projektende: folgt

Laufzeit: 36 Monate / beendet

Fördersumme: € 269.500,00

Kurzzusammenfassung:
Infektionskrankheiten verursachen nach wie vor große Probleme in der klinischen Routine, welche zu schwerem Leiden der Patienten und in schlimmen Fällen sogar zum Tod führen können. So ist etwa die Blutstrominfektion die häufigste Todesursache auf Intensivstationen und schwere Lungenentzündungen sind oft die Folge von lang andauernder künstlicher Beatmung. Infektionskrankheiten werden von einer Vielzahl unterschiedlicher Bakterien verursacht und je nach Bakterien-Art und dem Verfügen von Antibiotika-Resistenzen können Infektionen von unterschiedlichem Schweregrad verursacht werden.
Herkömmliche Methoden der Erreger-Identifizierung in der klinischen Routine basieren auf der Kultivierung des Erregers und dessen biochemischen Charakterisierung und benötigen daher bis zu 2 bis 3 Tage bis zur vollständigen Keim-Bestimmung. DNA basierte Methoden führen zwar schneller zu einem Ergebnis, haben aber den Nachteil, dass das Prozedere der DNA Isolierung und des Ansetzen der PCR-Reaktionen viele manuelle Schritte erfordert und zudem das Risiko einer Kontamination in sich birgt. Ergebnisse erhält man bei der schnellsten Methode nach 3 bis 4 Stunden ausgehend von der Blutkultur. Eine zufriedenstellende Sensitivität der PCR kann in der Regel nur für Reaktionen mit einem Primer-Paar erzielt werden. Die Detektion von mehreren verschiedenen Zielgenen würde somit die Durchführung von mehreren PCRs erfordern. Dem gegenüber eröffnet die Microarray Technologie die einzigartige Möglichkeit bis zu mehrere tausend Zielmoleküle in einer Reaktion zu erfassen.
In diesem Projekt-Antrag schlagen wir die Entwicklung und Anwendung eines kost-effektiven Lab-on-a-Chip Geräts vor. Durch die Weiterentwicklung von Rapid-Technologien soll im Rahmen des Projektes eine neue Herstellungstechnologie für Mikroarrays entwickelt werden, die einerseits ökonomisch günstiger und andererseits eine höhere Qualität der Strukturen erreichen soll. Auf diesem Chip soll schlussendlich die DNA Isolation direkt aus der biologischen Probe und die Target-Amplifikation sowie Detektion erfolgen. Hierzu wird ein Mikroarray etabliert auf dem mittels multiplex-PCR parallel verschiedene Markergene vervielfältigt werden und das Amplifikat mit einem Fluoreszenz-Farbstoff markiert wird. Vorzugsweise erfolgt die anschließende Detektion des Marker-Gens über eine LED und Photodioden Kombination. Anhand dieses Tools soll die Pathogen-Identifizierung automatisiert werden und in einem Zeitrahmen von bis zu 2 Stunden ermöglicht werden. Somit wäre dann eine molekularbiologische Methode erstmals sowohl für die Point-of-Care Diagnostik als auch für Hoch-Durchsatz-Anwendungen mit der parallelen Detektion von einer Vielzahl von Zielgenen geeignet.

Schlüsselbegriffe:
Pathogen, Antibiotic resistance, Lab-on-a-Chip, Microfluidic, Infectious diseases,