



Forschungsprojekt:

Halbleitermikrosysteme zur Untersuchung von Hochfrequenzwirkungen auf adhärenente Zellen in physiologischen Medien

Prof. Fuhr, Humboldt Universität Berlin (Biologie)

Prof. Mönich, Technische Universität Berlin (Exposition)

Laufzeit: Juni 1997 – Juni 1999

Ziel

- Entwicklung und Prüfung standardisierbarer, HF-tauglicher Mikrosysteme für Experimente an Zellen im Hz-, MHz- und GHz-Bereich
- Untersuchung der Wirkung starker elektrischer Felder auf anhaftende und suspendierte Zellen in Halbleiter-Mikrostrukturen in Kurz- und Langzeitexperimenten
- Exakte Berechnung der Feldstärke und Temperatur in und an den exponierten Zellen

Ergebnis

- Mikrostrukturen zur Exposition von lebenden Zellen bei 900 MHz und 1,8 GHz wurden entwickelt und erfolgreich getestet.
- Experimente an Zellen im Bereich 100 Hz bis 250 MHz (bis zu 100 kV/m) ergaben exakte Eckdaten, bei denen Zellen nicht, teilweise oder stark geschädigt werden. Temperatureffekte konnten von Feldeffekten eindeutig unterschieden werden.
- Feldparameter am Ort der Zellen waren sehr gut definierbar.

Untersuchungsparameter

- an Zellen:
 - Volumenzunahme
 - Teilungsaktivität
 - Migrationsverhalten
 - diverse Stoffwechselaktivitäten (z.B. Endozytose)
 - Adhäsionsverhalten
 - Veränderungen des Zytoskeletts
 - Stoffwechselaktivität der Mitochondrien
 - Membranpermeabilität und -strömungen
- an den technischen Mikrostrukturen:
 - lokale Temperatur
 - elektrische Güte
 - Rotationsgeschwindigkeit von Partikeln und Levitation (Anhebung von Partikeln) zur exakten lokalen Feldstärkebestimmung



Exposition

Expositionsparameter

Signalquelle/-einkopplung und Trägermaterial für die Zellen	Halbleiterstruktur	Schlitzleitungssystem
Trägerfrequenz	100 Hz bis 250 MHz	900 MHz und 1,8 GHz
Feldstärke	0,1 bis 100 kV/m	bis zu einigen 10 kV/m
Dauer der Exposition	Sekunden bis mehrere Wochen	bis zu 20 Stunden
Temperaturerhöhung unter Expositionsbedingungen	max. 2°C bei sehr hohen Feldstärken	max. 2°C bei sehr hohen Feldstärken

Versuchsaufbau



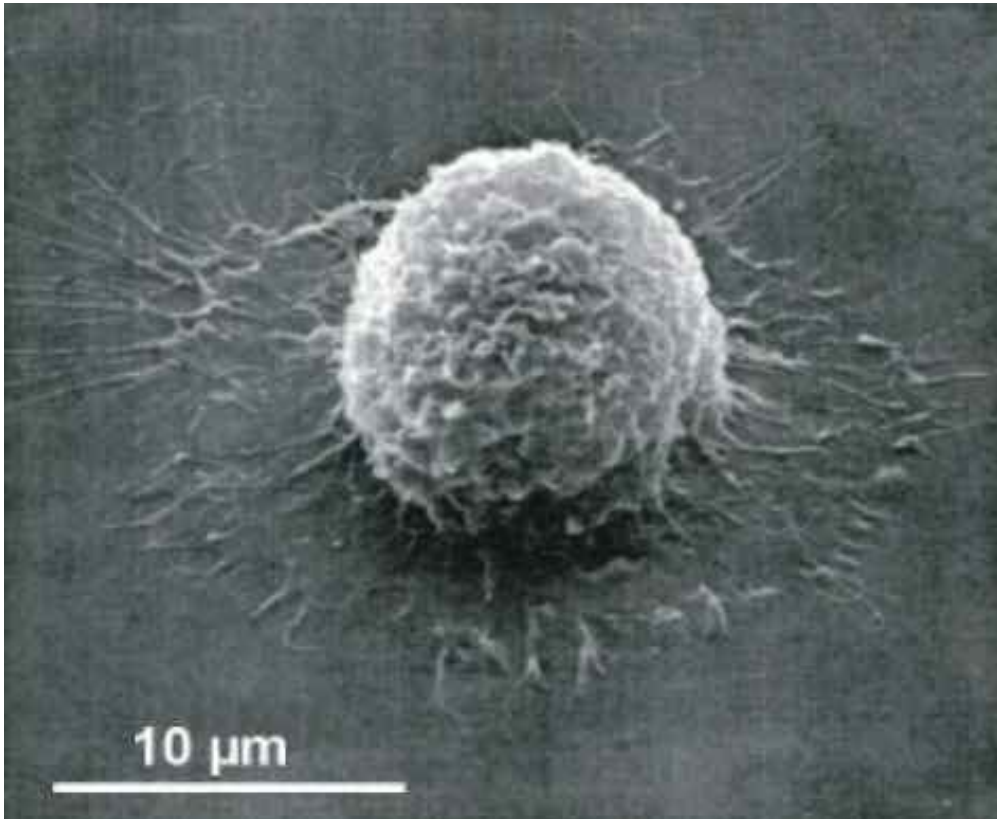
Meßplatzaufbau bestehend aus zwei vollständig separaten Untersuchungssystemen:

- je ein Mikroskop, Thermostat, Meßkammer mit Durchflußsystem und Temperaturerfassung, Überwachungskamera & Monitor, automatisches Langzeitvideosystem, HF-Generator sowie einem Zwei-Kanal-Oszilloskop zur computergestützten Erfassung und Kontrolle der Feldparameter

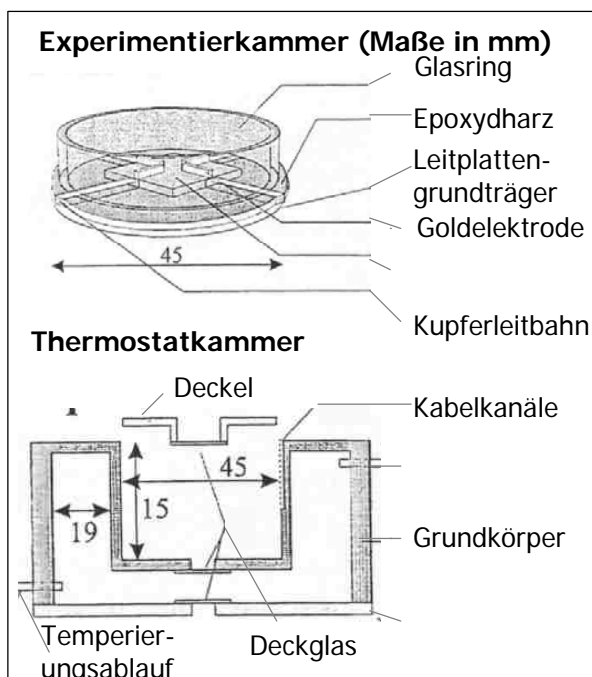


Versuchsobjekt

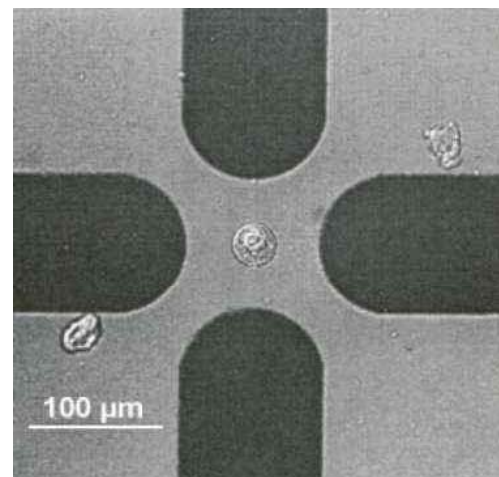
Rasterelektronenmikroskopisches Bild eines abgerundeten Fibroblasten L 929 (Bindegewebszelle der Maus) als Beispiel für eine typische adhärenzte Zelle, wie sie in den Experimenten verwendet wurde; Zelle beginnt sich am Untergrund anzuheften



Halbleiter-Elektrodenchips



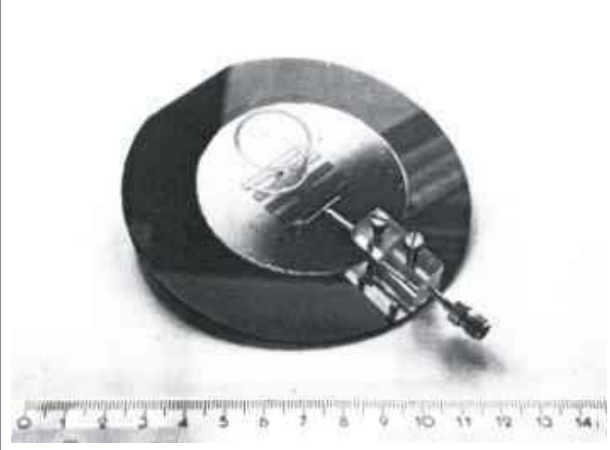
Detailansicht: Aufsicht auf das Zentrum des Quarzglaswafers in der Mitte der Experimentierkammer. Runde Zelle zwischen 4 Elektroden in Quadrupolanordnung



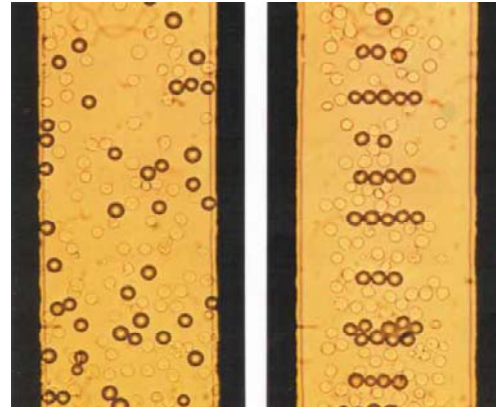


Schlitzleitungssystem

GHz-Kultivierungskammer
 rechts unten: Hochfrequenzeinspeisung
 Mitte: Glasring als Kultivierungskammer



Detailansicht: Lymphozyten und
 Testpartikel (dunkler) im Kanal eines
 Schlitzleitungssystems ohne (links) und
 mit (rechts) angelegtem Feld;
 Breite des Kanals 0,2 mm

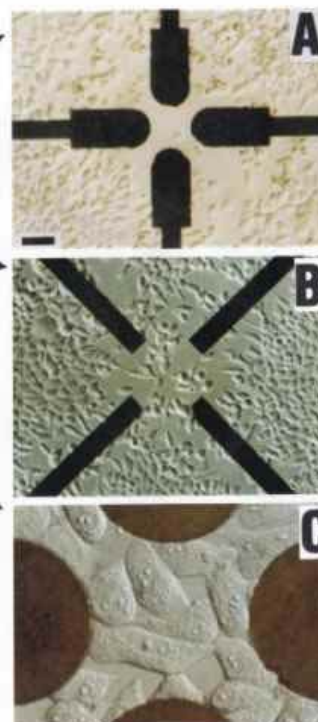
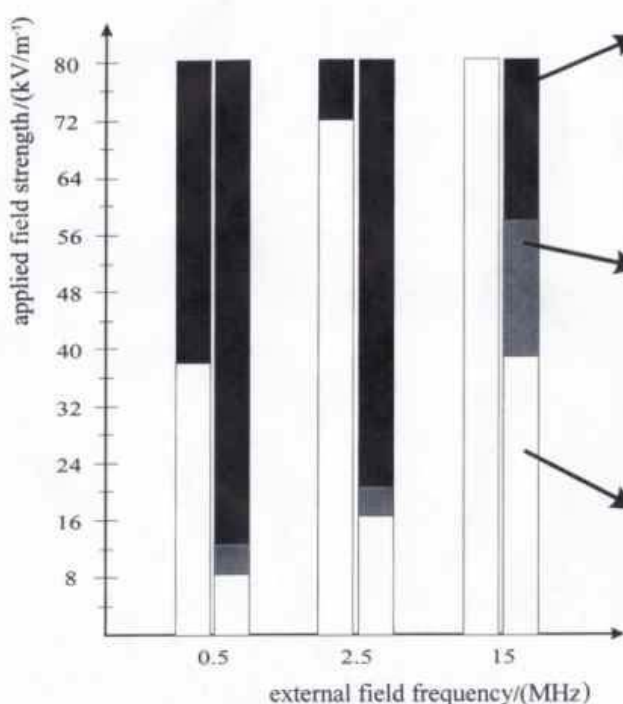


Kurz- und Langzeitexperimente

Darstellung der Wachstumsbeeinflussung von L 929-Zellen unter permanenter Feldeinwirkung
 (500 kHz – 15 MHz, 1 – 80 kV/m):

Linke Säule: kurzzeitige Feldexposition (20 Sek.)

Rechte Säule: langfristige Feldexposition (3 Tage)



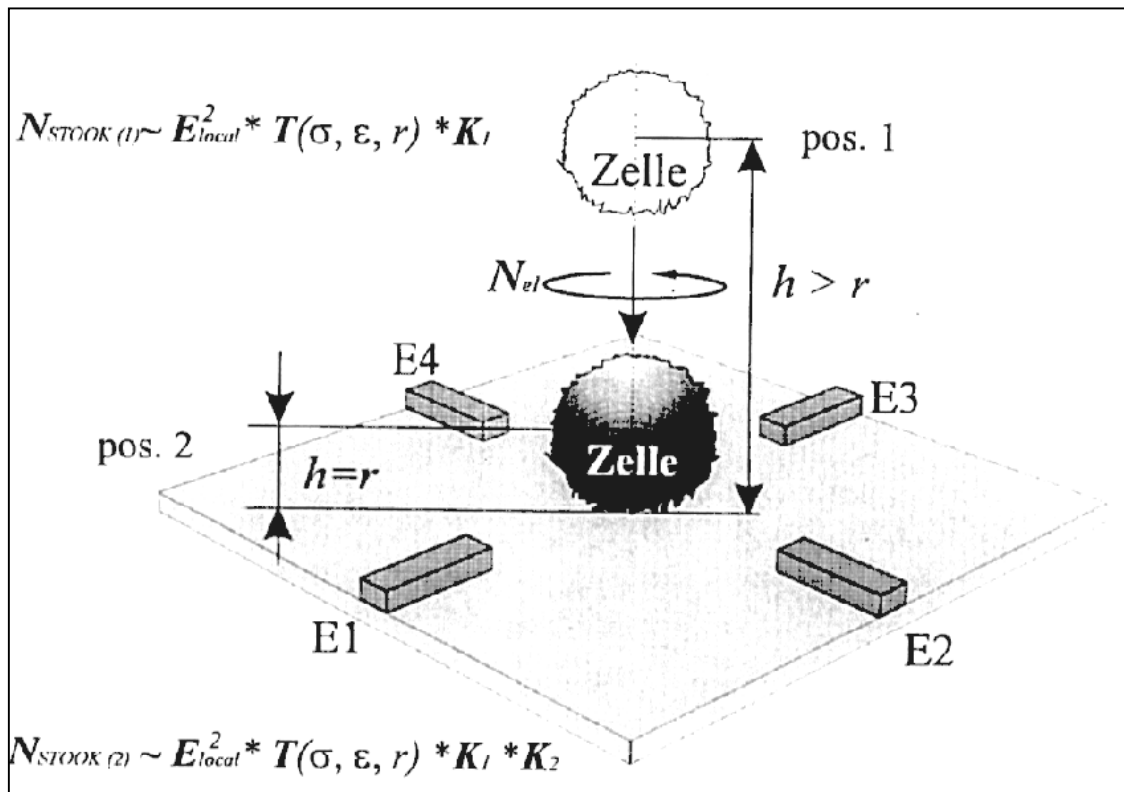
Keine
 überlebenden
 Zellen im
 Zentrum der
 Elektroden

Verringerte
 Wachstumsrate

Keine Schäden



Feldkalibrierung über Rotationsmessung



Messung der Feldkräfte zur anschließenden Berechnung der auftretenden Feldstärke in einer Zelle auf einem Halbleiterelektrodenchip. Darstellung einer Zelle zwischen vier Elektroden (E1-E4), die durch die Kräfte des angelegten rotierenden Feldes angehoben und in Rotation versetzt wird. Zur Eichung wird die Zelle durch eine ebenso große Latexkugel ersetzt.

Publikationen

„High-frequency electric field trapping of individual human spermatozoa.“

Fuhr, G. et al. 1998:

Hum. Reprod. 13(1), Seite 136-141

„Cultivation of cells under strong ac-electric field – differentiation between heating and trans-membrane potential effects.“

Glasser, H. und Fuhr, G. 1998:

Bioelectrochem. Bioenerget. 47, Seite 301-310

„Electric field calibration in micro-electrode chambers by temperature measurements.“

Glasser, H. et al. 1999:

Thermochim. Acta 333, Seite 183-190