



## Semiconductor-based biochips for on-site veterinary diagnosis

Test card equipped with an ASIC capable of analysing aqueous solutions applied directly to the chip. Photograph: IMMS.

### Objectives

Regular health testing of farm animals is a necessity for high-standard food supplies. Up to now, veterinary diagnosis has been possible only after several days or even weeks because it has been necessary to send off samples to a laboratory where they are prepared for and subjected to microbiological analysis. In cases where a potentially dangerous disease is found to be present, viruses or bacteria may have proliferated meanwhile. Depending on the severity of the infection, a farmer's entire stock may be quarantined or even destroyed to prevent the spread of the disease.

IMMS has therefore joined forces with the Leibniz Institute of Photonic Technology in Jena (IPHT) to develop the means whereby epizootic disease can be readily diagnosed. The idea is that a portable electronic device should enable samples from farm stock to be examined for pathogens automatically and rapidly. The affected animals can then be isolated and treated at an early stage, eliminating any risk to consumers, protecting the healthy animals and limiting financial loss.

The IMMS contribution follows the principles of a diagnostic procedure developed by Jenaer BioChip Initiative (JBCI, IPHT Jena) which has enabled foot and mouth disease (FMD) and other diseases to be detected from samples on glass chips.<sup>1</sup> As the procedure relies on a simple and fast evaluation of the electrical conductivity and optical properties of samples, it can be incorporated into a compact on-site diagnostic system. IMMS and JBCI have worked together for the purpose of a highly accurate diagnosis with automated readout. In the GreenSense project, the measurement principles have been implemented on new microelectronic platforms. Bonding technology and system assembly solutions have also been developed. IMMS has, furthermore added to the measurement methodology and laid out the electronic system for an impedance-based procedure. The microelectronic approach offers additional measurement options as an alternative to the original glass plate-based platform. The aim is to use the new devices to keep track on the reactions taking place during diagnosis and to unify the three types of measurement on a single semiconductor biochip.



**IMMS**

WE CONNECT IT TO THE REAL WORLD.

© IMMS GmbH. All rights reserved. Reproduction and publication only with express permission of IMMS GmbH.

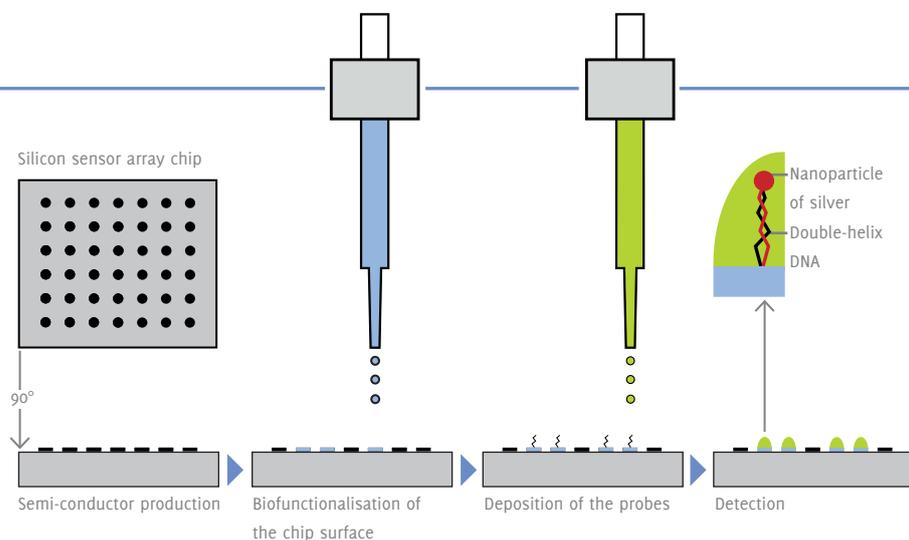


Figure 1:

The JBCI-IPHT diagnostic procedure is the basis for the three ASIC designs developed at IMMS. The three silicon chips each have a different detection method by which the presence of silver nanoparticles is shown. Diagram: IMMS.

### Three new ASICs developed by IMMS

The diagnostic procedure researched and developed in Jena is the starting point of the IMMS contribution by which a planar surface made of glass or other substrate material with pairs of gold electrodes sputtered onto it is first functionalised. Here, the glass chip is first pretreated chemically and then coated between the electrodes with biomolecules specific to the relevant viruses. The molecules will detect the viruses on the lock-and-key principle. The sample for analysis is replicated and conducted through the electrode gap on the glass chip in a system of microfluidic channels. If the DNA sought for is present in the sample, it will react with the 'catcher' molecules. Thereupon, nanoparticles of silver will be deposited, forming a conducting layer, which will bridge the electrode gap and cause a short-circuit. A simple direct current measurement will reveal this as a change in the resistance between the electrodes. There is also the possibility of using optical data capture by determining the level of greyness due to any silver deposit. IMMS has developed three different sensor systems based on CMOS semiconductor technology which allow measurement of new silver nanoparticles directly without the use of the glass plate. The three microelectronic systems will not only register that the particles have been deposited but will also by virtue of their design establish details of the nanoparticle concentration and quality of detection.

In order that the IPHT can subject the samples and controls to the biotechnological tests in parallel, comparing results and using these for further research, IMMS has at this stage implemented the three measurement principles in three separate system versions. As a result, there are two sensor ASICs on which sensors are arrayed as a 6 x 7 matrix comparably to the JBCI chip system. For the third ASIC design there is a set of test structures. The integrated sensors have been so arranged in the electronics that the distances

between them allow sample solutions to be added separately, electrode by electrode. The functions of the microelectronic chips are set up at the IPHT in a similar way to that described above and the samples are prepared as appropriate to the method. In all three of the IMMS systems, the analysis results are dependent on the number of silver nanoparticles deposited on the surface of the ASIC. The concentration of target DNA present is then computed from the nanoparticle result; calibrated measurements serve as a reference.

For the first version, IMMS transferred the IPHT's principle for measuring conductivity onto a microelectronic chip and further extended it. The **resistance** present between two electrodes is measured and evaluated. The design of the ASIC takes into account the maximum amps and voltage to which it is known that the DNA can be exposed, knowledge obtained in prior investigations by JBCI. The ASIC also has four possible amplification settings, as the intention is that there should be digital processing not only of the initial stage of the detection but also of the complete procedure.

In the second chip design, the nanoparticle presence is established by **optical** readout. The sample in this case is exposed to a light source providing homogeneous illumination. With an array of photodetectors which are highly sensitive to light including the visible spectrum, the ASIC registers how the strength of the light is changed by the non-transparent silver nanoparticles in the course of the detection procedure.

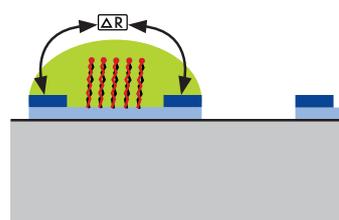


Figure 2: The principle of the ASIC developed by IMMS to detect the presence of nanoparticles of silver by means of resistance measurements. Diagram: IMMS.

Figure 3:

Light source array of photosensors principle of the ASIC developed by IMMS to detect the presence of nanoparticles of silver by optical means. Diagram: IMMS.

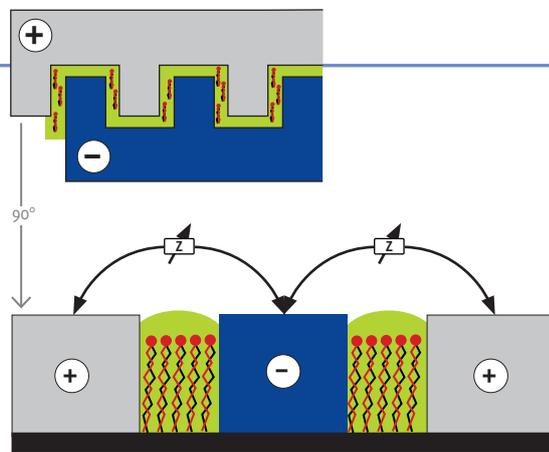
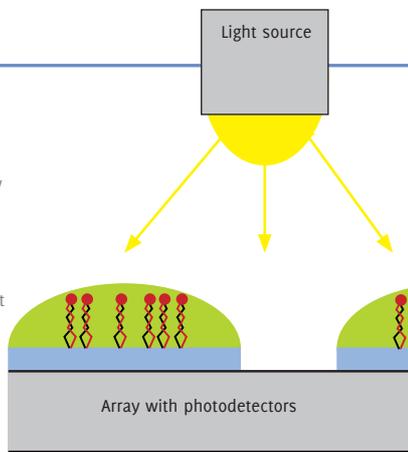


Figure 4: Principle of the ASIC developed by IMMS to register silver nanoparticles from impedance measurement. Diagram: IMMS.

With the aim of achieving the highest possible resolution during readout and also of successfully adapting the amplification chain in the circuit to the variable current output of the photodiodes in real time, IMMS defined 72 settings for the signal amplification system, in three steps. This wide choice of settings is intended to ensure complete optical characterisation for the minimum number of nanoparticles still capable of detection.

A third version is to be constructed in which silver nanoparticles are found from the **impedance** measurements. The Institute has already developed six interdigitated impedance analysis structures. Like the teeth of a comb, the structures have been designed at this preliminary stage with different spacing and width to find the structure with the highest sensitivity so that it can be included in the third ASIC design. The total impedance between the electrodes changes in relation to the settling of the silver between the teeth of the comb. The changes can be registered by means of an AC metering bridge between two combs. The interdigital sensor structure being so precise, the measurements should be even more sensitive. The impedance measuring sensors have the additional advantage of taking more than one type of measurement at once in rapid succession. Their use in the present instance would enable not only the resistance but also, crucially, the change in capacitance

and phase of the signal to be registered: these are important physical values which could be registered simultaneously to assist in bioanalysis if this procedure were followed.

### Summary and future prospects

The applicability of the three different sensor ASIC systems has been under test in joint work with the IPHT since the first quarter of 2015. The biological tests are being run in three stages. On the one hand, this enables the biocompatibility of the materials used in the microelectronics to be tested. On the other hand the effects of the separate procedure steps can only be characterised with respect to the sensor sensitivity by successive measurements. The electronic test and characterisation commenced at IMMS at the beginning of January 2015 has facilitated the start of the first validation measurements for the sensor systems being currently under packaging. It is intended to adapt the work in further veterinary research and to continue the investigation of the reliability of the sensors in succeeding projects. In order to promote active industrial exploitation of the diagnostic system in future, the involvement of customers and small and medium-sized enterprises is envisaged.

#### Contact:

Dr. Balázs Németh, balazs.nemeth@imms.de  
Alexander Hofmann, M.Sc.,  
alexander.hofmann@imms.de

1 Seise, B. et al., Engineering in Life Sciences (2011)  
doi: 10.1002/elsc.201000046

The GreenSense project was funded by the Thüringen Ministry of Economics, Labor and Technology (TMWAT) and the European Social Fund (ESF) under grant no. 2011 FGR 0121.

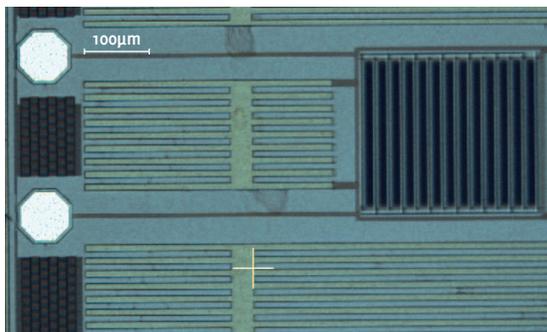


Figure 5: Magnified view of the comb-shaped structures used in the impedance measurement method. Photograph: IMMS.



## Halbleiterbasierte Biochips zur Vor-Ort-Diagnose von Tierseuchen

### Motivation

Qualitativ hochwertige Lebensmittel setzen regelmäßige Gesundheitskontrollen von Nutztieren voraus. Diagnosen können bislang nur mit Verzögerungen von mehreren Tagen oder gar Wochen gestellt werden, da Proben in ein Labor geschickt, dort aufbereitet und mit herkömmlichen mikrobiologischen Analysen untersucht werden. Wird eine Erkrankung mit hohem Gefahrenpotenzial festgestellt, können sich während des Diagnosezeitraums Viren bzw. Bakterien bereits verbreiten. Aus diesem Grund wird je nach Schweregrad der Infektion der gesamte Tierbestand des betroffenen Landwirts gesperrt oder sogar vernichtet, um eine weitere Ausbreitung der Seuche zu verhindern.

Das IMMS bringt sich daher zusammen mit dem Leibniz-Institut für Photonische Technologien Jena (IPHT) in die Entwicklung von Lösungen ein, mit denen künftig Tierseuchen einfach diagnostiziert werden können. Mit einem tragbaren elektronischen Gerät sollen sich Proben eines Viehbestandes unmittelbar vor Ort schnell und automatisiert auf Krankheitserreger untersuchen lassen. So können betroffene Tiere frühzeitig isoliert und behandelt werden mit dem Ziel, Gefahren für Verbraucher zu eliminie-

ren, gesunde Tiere zu verschonen und wirtschaftliche Schäden einzudämmen. Foto: IMMS.

ren, gesunde Tiere zu verschonen und wirtschaftliche Schäden einzudämmen.

Die Entwicklung des IMMS basiert auf einem von der Jenaer BioChip Initiative (JBCI, IPHT Jena) erarbeiteten Diagnoseverfahren, mit dem unter anderem das Maul-und-Klauenseuche-Virus (FDMV)<sup>1</sup> auf Glaschips detektiert werden konnte. Dank einfacher und schnell möglicher Auswertungen der elektrischen Leitfähigkeit und der optischen Eigenschaften von Proben bildet dieses Verfahren die Basis für eine kompakte Vor-Ort-Diagnostik. Um solche Analysen zu präzisieren und mit einer Auswertelektronik zu automatisieren, hat das IMMS in Zusammenarbeit mit der JBCI im Projekt GreenSense die Messkonzepte auf neue mikroelektronische Sensor-Array-Plattformen übertragen, weiterentwickelt und eine spezifische Aufbau- und Verbindungstechnik sowie System-Assembly-Lösungen erarbeitet. Darüber hinaus hat das IMMS die Messmethoden erweitert und das elektronische System auch auf ein impedimetrisches Verfahren ausgelegt. Der mikroelektronische Ansatz bietet als Alternative zur bestehenden glasbasierten Plattform erweiterte Messmöglichkeiten. Ziel ist es, mit diesen Entwicklungen die während der Diagnose ablaufenden Reaktionen in Echtzeit zu verfolgen und die drei Messmethoden auf einem Halbleiter-Biochip vereinen zu können.



**IMMS**

WIR VERBINDEN DIE IT MIT DER REALEN WELT.

© IMMS GmbH. Alle Rechte sind vorbehalten. Vervielfältigung und Veröffentlichung nur mit Genehmigung der IMMS GmbH.

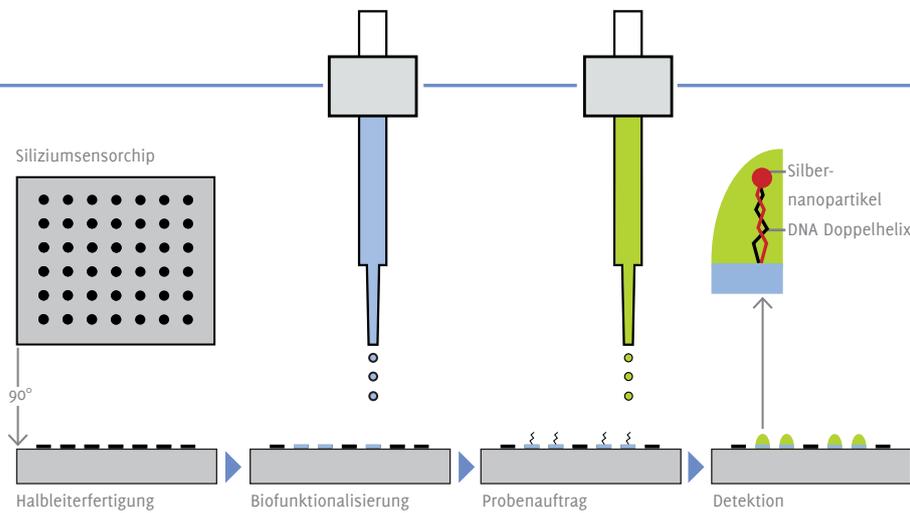


Abbildung 1:

Das Biochip-basierte Diagnoseverfahren des JBCI/IPHT bildet die Basis für die drei ASIC-Entwicklungen am IMMS. Die drei Siliziumchips unterscheiden sich in der Detektionsmethode für den Nachweis von Silbernanopartikeln. Grafik: IMMS.

### Drei ASIC-Entwicklungen des IMMS

Ausgangspunkt der am IMMS entwickelten Lösungen ist das in Jena erarbeitete o.g. Diagnoseverfahren. Eine aus Glas oder einem anderen Substrat bestehende planare Oberfläche mit integrierten Goldelektrodenpaaren wird hierbei zunächst funktionalisiert. Dazu werden auf den chemisch vorbehandelten Glaschip zwischen den Elektroden für die gesuchten Viren spezifische Biomoleküle aufgebracht, die als Fänger nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip dem Nachweis dienen. Die zu analysierende Probe wird vervielfältigt und in einem mikrofluidischen Kanalsystem über die Elektrodenspalte des Glaschips geleitet. Befindet sich in der Probe die gesuchte DNA, reagiert diese mit den Fängermolekülen. In Folge dessen werden Silbernanopartikel abgeschieden, die eine leitfähige Schicht bilden. Diese überbrückt den Elektrodenspalt und verursacht dadurch einen elektrischen Kurzschluss, der sich mit einer einfachen Gleichstrommessung als veränderter Widerstandswert zwischen den Elektroden feststellen lässt. Darüber hinaus kann die Silberschicht mit Hilfe der Grauwertbestimmung im Labor optisch erfasst werden.

Das IMMS hat drei verschiedene Sensorlösungen auf CMOS-Halbleiter-Basis entwickelt, mit denen anstelle eines solchen Glaschips die Bildung von Silbernanopartikeln gemessen werden kann. Mit diesen drei Mikroelektronik-Entwicklungen wird nicht nur erfasst, dass solche Partikel entstanden sind. Das Design bietet darüber hinaus die Möglichkeit, wichtige Aussagen über die Konzentration der Nanoteilchen und die Qualität des Detektionsvorgangs treffen zu können. Um am IPHT die Proben und Kontrollen den biotechnologischen Tests parallel unterziehen, die Ergebnisse vergleichen und für weitere Forschungsarbeiten nutzen zu können, hat das IMMS zunächst die drei genannten Messprinzipien in drei getrennten Ansätzen implementiert. Ergebnis sind zwei Sensor-ASICs, auf denen die Messpunkte für Vergleiche mit dem JBCI-Glaschip-System in einer 6x7-Matrix angeordnet sind,

und Teststrukturen für den dritten ASIC-Entwurf. Die integrierten Sensoren hat das IMMS dabei in solchen Abständen auf der Elektronik arrangiert, dass die Probenlösung jeweils isoliert Elektrode für Elektrode aufgebracht werden kann. Die Mikroelektronik-Chips werden am IPHT analog zum oben beschriebenen Verfahren funktionalisiert und die Proben entsprechend vorbereitet. Die Messwerte sind bei allen drei Methoden von der Anzahl der sich ablagernden Silbernanopartikel auf den ASIC-Oberflächen abhängig. Mit diesem Verhältnis wird in allen drei ASICs die Konzentration der vorhandenen DNA anhand der abgeschiedenen Silbernanopartikel im Vergleich zu kalibrierten Messwerten rechnerisch ermittelt.

Das IMMS hat für den ersten Ansatz das Messprinzip der Leitfähigkeitsmessungen des IPHT auf einen mikroelektronischen Chip übertragen und erweitert. Hierfür wird der aktuelle **Widerstandswert** zwischen zwei Elektroden erfasst und ausgewertet. Das ASIC-Design berücksichtigt die Erkenntnisse der JBCI-Voruntersuchungen hinsichtlich der maximalen Strom- und Spannungswerte, denen die DNA ausgesetzt werden darf. Zudem beinhaltet es vier einstellbare Verstärkungsmöglichkeiten, dank derer sowohl die Anfangsphase des Detektionsvorganges als auch der komplette Verlauf der Detektion mit der Elektronik verarbeitet werden soll.

Bei der zweiten Chip-Entwicklung wird der Nachweis mit einem **optischen** Ausleseverfahren realisiert. Die Probe wird hierfür einer homogen leuchtenden Lichtquelle ausgesetzt. Der ASIC erfasst mit einem Array von Fotodetektoren, die hochempfindlich unter anderem für sichtbares Licht sind, wie sich die Beleuch-

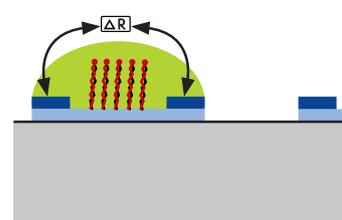
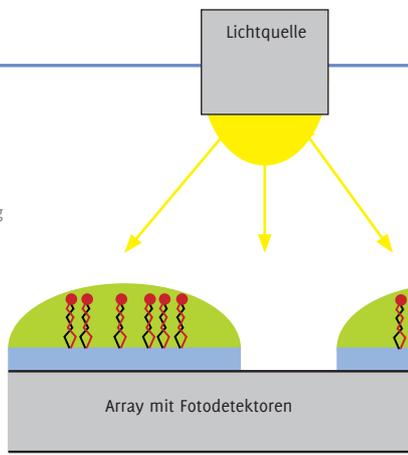


Abbildung 2: Prinzipdarstellung für die ASIC-Entwicklung des IMMS für den Nachweis von Silbernanopartikeln mit Hilfe von Widerstandsmessungen  $[\Delta R]$ . Grafik: IMMS.

Abbildung 3:

Prinzipdarstellung für die ASIC-Entwicklung des IMMS für den optischen Nachweis von Silbernanopartikeln.  
Grafik: IMMS.



tungsstärke durch die intransparenten Silbernanopartikel während des Detektionsvorganges verändert. Um die höchstmögliche Auflösung bei der optischen Signalauswertung zu erzielen sowie die Verstärkungskette der Schaltung an die variablen Ausgangsstromstärken der Fotodioden in Echtzeit anpassen zu können, hat das IMMS für das Signalverstärkungssystem 72 Einstellmöglichkeiten über 3 Stufen definiert. Diese breite Auswahl von möglichen Einstellungen soll eine vollständige optische Charakterisierung des Detektionsverfahrens hinsichtlich der minimalen Anzahl von Nanopartikeln sichern, die noch aufgelöst werden können.

Darüber hinaus sollen in einem dritten Aufbau Silbernanopartikel durch **Impedanzmessungen** ermittelt werden. Das IMMS hat bereits sechs Impedanz-Teststrukturen mit interdigitalem Finger-Aufbau entwickelt. Die kammförmig angeordneten und ineinandergreifenden Finger wurden für diese Voruntersuchungen mit unterschiedlichen Abständen und Breiten entworfen, um die optimale Struktur für die höchste Sensorempfindlichkeit weiter zu verfolgen und in einen dritten ASIC-Entwurf einfließen zu lassen.

Je nach dem Verlauf, mit dem sich Silber zwischen den Kammstrukturen ablagert, ändert sich die Gesamtimpedanz zwischen den Elektroden. Diese Differenzen lassen sich mit einer Wechselspannungsmessbrücke zwischen zwei Kämmen erfassen. Aufgrund dieser speziellen interdigitalen Sensorstruktur ist von einer höheren Sensitivität der Messungen auszuge-

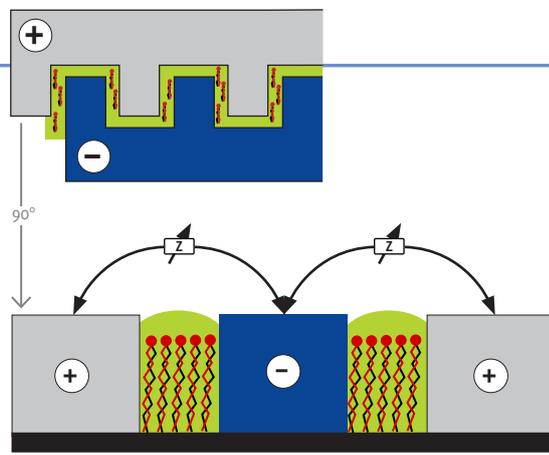


Abbildung 4: Prinzipdarstellung für die ASIC-Entwicklung des IMMS für die impedimetrische (Z) Erfassung von Silbernanopartikeln. Grafik: IMMS.

hen. Darüber hinaus lassen sich mit Impedanzmessensoren mehrere Messgrößen dynamisch erfassen. Für die hier betrachtete Anwendung sind neben dem Widerstand vor allem die Veränderung der Kapazität und der Phase des Messsignals wichtige Größen, die künftig in diesem Messverfahren für die Bioanalytik vereint werden können.

## Zusammenfassung und Ausblick

In Zusammenarbeit mit dem IPHT werden seit dem 1. Quartal 2015 die drei unterschiedlichen Sensor-ASIC-Systeme auf ihre Anwendbarkeit überprüft. Die biologischen Messungen erfolgen in verschiedenen Stufen. Damit kann einerseits die Biokompatibilität der in der Elektronik verwendeten Materialien getestet werden. Andererseits lässt sich nur so die Wirkung der einzelnen Verfahrensschritte hinsichtlich der Sensorempfindlichkeit charakterisieren.

Die im ersten Quartal 2015 am IMMS begonnenen elektronischen Test- und Charakterisierungsarbeiten der im Aufbau befindlichen Sensorsysteme ermöglichen den Start der ersten Validierungsmessungen. Es ist beabsichtigt, dass die Arbeiten für weitere veterinärmedizinische Fragestellungen adaptiert und die Sensorzuverlässigkeit in Folgeprojekten weiter verbessert werden. Darüber hinaus sollen künftig Anwender sowie kleine und mittelständische Unternehmen einbezogen werden, um die industrielle Verwertung des Diagnostiksystems voranzubringen.

### Kontakt:

Dr. Balázs Németh, balazs.nemeth@imms.de  
Alexander Hofmann, M.Sc.,  
alexander.hofmann@imms.de

Literatur: 1 Seise, B. et al., Engineering in Life Sciences (2011)  
doi: 10.1002/elsc.201000046

Das Projekt GreenSense wurde gefördert durch das Thüringer Ministerium für Wirtschaft, Technologie und Arbeit aus Mitteln des Europäischen Sozialfonds unter dem Förderkennzeichen 2011 FGR 0121.

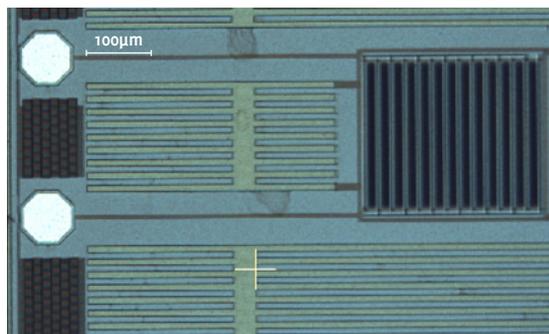


Abbildung 5: Mikroskopaufnahme der gefertigten kammförmigen Strukturen für Impedanzmessungen. Foto: IMMS.