

Abstract

In this work, the combinatorial laser-induced forward transfer, in which nanometer thin polymer spots are transferred from a donor slide to an acceptor slide via laser irradiation with millisecond pulses, is fundamentally analyzed and described. Subsequently, the transfer method is implemented within a self-developed and custom-built high-precision and high-throughput macromolecular synthesizer. Finally, this setup is used to create high-density combinatorial peptide microarrays.

First, strong experimental evidence of a mainly contact-based transfer mechanism of the combinatorial laser-induced forward transfer is presented. Then, through this observation, an analytical solution of the material deposition based on the irradiation energy is derived, which is in good agreement with the measured material deposition (fluorescence imaging and vertical scanning interferometry). Next to the contact-based transfer mechanism, an ejection-based secondary transfer mechanism is observed through fluorescence imaging, which is ≈ 1.5 orders of magnitude weaker than the contact-based mechanism. Subsequently, the material deposition of the ejection process is qualitatively described.

Following the experimental and theoretical analysis, an OpenFOAM-based numerical model of the donor slide without material deposition is developed. This numerical model is in good agreement with the experimentally measured maximum vertical donor slide expansion, but cannot precisely approximate the occurring shape.

After analyzing the transfer mechanisms, the developed macromolecular synthesizer is presented, which comprises a laser transfer, transportation and positioning, and control system. These three systems are responsible for the material deposition, acceptor and donor slide handling, and user interaction, as well as process navigation and control.

To showcase the potential of the combinatorial laser-induced forward transfer, the deposition of 20 proteinogenic amino acids were analyzed and optimized. Finally, the found optimizations were used to create a fully combinatorial high-density ($10000 \frac{\text{spots}}{\text{cm}^2}$) 20 layer peptide microarray using the herein developed synthesizer.

Zusammenfassung

In dieser Arbeit wird der kombinatorische laser-induzierte Vorwärtstransfer, in welchem Nanometer dünne Polymerspots von einem Donor (Mikroskopglasobjekträger) auf einen Akzeptor über Laserbestrahlung mit Millisekunden-Pulsen aufgetragen werden, theoretisch analysiert und beschrieben. Anschließend wird die Transfermethode innerhalb einer selbst entwickelten und aufgebauten hochpräzisen und hochdurchsatzfähigen makromolekularen Synthesemaschine implementiert. Abschließend wird dieser Aufbau zur Erstellung von hochdichten kombinatorischen Peptidmicroarrays verwendet.

Zunächst wird ein aussagekräftiger experimenteller Nachweis eines hauptsächlich auf Kontakt basierenden Transfermechanismus des kombinatorischen laser-induzierten Vorwärtstransfers präsentiert. Aufbauend auf dieser Beobachtung wird eine analytische Lösung des Materialübertrags, basierend auf der Bestrahlungsenergie, hergeleitet, welche eine gute Übereinstimmung mit den Messergebnissen zeigt (Fluoreszenzbildgebung und Interferometrie). Neben dem auf Kontakt basierenden Transfermechanismus wurde ein sekundärer kontaktloser Transfermechanismus durch Fluoreszenzbildgebung beobachtet, welcher ≈ 1.5 Größenordnungen schwächer ist als der auf Kontakt basierende Mechanismus. Anschließend wurde der Materialübertrag dieses Mechanismus qualitativ beschrieben.

Daraufhin wurde ein numerisches Modell der Donorausdehnung ohne Materialübertrag entwickelt (mit Hilfe der Open-Source Software OpenFOAM). Dieses numerische Modell zeigt eine gute Übereinstimmung mit den experimentellen Messungen der maximalen vertikalen Donorausdehnung. Jedoch kann das Modell die auftretende Ausdehnungsform nicht exakt abbilden.

Nach der Beschreibung der Transfermechanismen wird die entwickelte und aufgebaute makromolekulare Synthesemaschine vorgestellt, welche ein Lasertransfer-, Transport- und Positionierungs- und Kontrollsystem beinhaltet. Diese drei Systeme sind verantwortlich für den Materialübertrag, Akzeptor- und Donorträgertransport sowie für die Benutzerinteraktion, Prozessnavigation und Prozesssteuerung.

Um das Potential des kombinatorischen laser-induzierten Vorwärtstransfers aufzuzeigen wird der Materialübertrag der 20 proteinogenen Aminosäurebausteine analysiert und optimiert. Schließlich wurden die gefundenen Optimierungen verwendet um mit der entwickelten Synthesemaschine vollkombinatorische hochdichte ($10000 \frac{\text{Spots}}{\text{cm}^2}$) 20-lagige Peptidmicroarrays zu produzieren.