

DISS. ETH NO. 29115

QUANTITATIVE BIOSENSING

A thesis submitted to attain the degree of
DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH
(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by
YVES BLICKENSTORFER
MSc. ETH Zürich
born on 06.05.1991
citizen of Adliswil, Zürich, Switzerland

accepted on the recommendation of
Prof. Dr. János Vörös, examiner
Prof. Dr. Bernhard Wolfrum, co-examiner
Dr. Christof Fattinger, co-examiner

2023

Abstract

Biosensors measure molecular interactions finding applications in multiple fields. For example, these sensors can be used to understand biochemical interactions and processes, a feature which is applied in drug development. Further, biosensors can detect diverse biomolecules applied for medical diagnostics. This thesis explores different aspects of quantitative biosensing. A quantitative understanding of the performance of a biosensor technology allows to assess different sensor configurations and compare different technologies with each other. Additionally, quantitative information is particularly critical for medical diagnostics where the knowledge about the exact concentration of biomolecules is necessary for a reliable patient assessment.

A critical challenge of quantifying molecular interactions in complex media is distinguishing the specific signal from nonspecific binding in a label free manner. Diffractometric biosensors mitigate the effect of nonspecific interactions by intrinsic optical self-referencing. Only coherent light scattered at specific receptor-target binding events is transduced. This thesis focuses on the fundamental theory to quantify such coherently arranged binding, to enable

the comparison between different diffractometric configurations. In particular, a highly sensitive diffractometric biosensor, molography, is analysed in detail. Different optical configurations are evaluated by theoretical considerations and practical implementation. The result could translate to label-free quantitative biosensors that are applied to explain biological processes and for the development of novel drugs.

In contrast to biosensors for interaction analysis, biosensors for medical diagnostics are often based on labelled assays for reaching better detection limits. Gold nanoparticles are useful label for optical biosensors. To this point, my thesis focused on developing a model to optimize parameters of a nanoparticle labeled assay.

The field of medical diagnostics is moving from centralized testing towards point-of-care or even at-home testing. While molography is ideally suited for interaction analysis, it requires expensive optical equipment which might not be suitable for point-of-care assays. Thus, this thesis investigates a cost-effective optical platform based on dark-field microwells for quantification of a gold nanoparticle assay for microRNA. These wells enable dark field illumination of the assay readout without the need of an expensive microscope and could therefore be translated to point-of-care applications.

However, with the vision of moving diagnostics from point-of-care to at-home testing, the thesis transitions to an electrochemical readout of gold nanoparticles with a more cost-effective hardware. The electrochemical readout is compatible with lateral flow assays which are already applied in at-home testing but are not quantitative and lack sensitivity. The electrochemical readout gives a quantitative result and it was shown that gold particles in lateral flow assays can be detected at orders of magnitude lower concentration compared to optical methods. Advancing the field of quantitative biosensing, especially in the area of at-home testing will lead to improved diagnostics for better human health.

Zusammenfassung

Biosensoren messen die Interaktionen zwischen Molekülen, was verschiedene Anwendungen findet. Zum Beispiel können diese Sensoren gebraucht werden, um biochemische Interaktionen und Prozesse besser zu verstehen, was wichtig ist für die Medikamenten Entwicklung. Zusätzlich können Biosensoren verschiedenen Biomoleküle detektieren, weshalb diese Sensoren in der medizinischen Diagnostik Anwendung finden. Diese Doktorarbeit behandelt verschiedene Aspekte von quantitativen Biosensoren. Ein quantitatives Verständnis von Biosensortechnologien erlaubt es, verschiedene Biosensoren zu beurteilen und miteinander zu vergleichen. Zusätzlich ist quantitative Information kritisch für viele diagnostische Anwendung, wo die genaue Konzentration von Biomolekülen wichtig ist, um Patienten zu beurteilen.

Eine kritische Herausforderung der Quantifizierung molekularer Interaktionen in komplexen Medien ist, Label frei zwischen spezifischen und nicht-spezifischen Bindungen zu unterscheiden. Diffraktometrische Biosensoren mitgliedern den Effekt von nicht-spezifischen Interaktionen durch inhärentes optisches referenzieren. Nur Licht welches Kohärent an spezifischen Bindungen

gestreute wird, erzeugt ein Signal. Diese Doktorarbeit behandelt die Theorie des Quantifizierens dieser kohärent angeordneten Bindungen und ermöglicht das Vergleichen verschiedener diffraktometrischen Konfigurationen. Molographie, eine diffraktometrische Technologie mit hoher Genauigkeit, wird im Detail analysiert. Verschiedene optische Konfigurationen werden in theoretischen und praktischen Aspekten beurteilt. Die Resultate könnten zu labelfreien quantitativen Biosensoren führen, welche angewendet werden könnten, um biologische Mechanismen zu erklären oder um neue Medikamente zu entwickeln. Im Gegensatz zu Biosensoren für die Analyse von biochemischen Interaktionen, Biosensoren für die medizinische Diagnostik basieren häufig auf gelabelten Assays um bessere Detektionslimiten zu erreichen. Gold nanopartikel sind labels mit guten Eigenschaften für optische Biosensoren. Darum wird in dieser Doktorarbeit ein Model behandelt, welches zur optimierung von parametern in einem nanopartikel assay gebraucht werden kann.

Neue Entwicklungen in medizinischer Diagnostik tendieren weg vom zentralisierten Testen in die Richtung von point-of-care Anwendungen und zu Tests für zu Hause. Während Molographie ideal für Interaktionsanalyse ist, könnten die hohen Anforderung an die Optik die Technologie zu teuer für point-of-care Anwendungen machen. Darum wird in dieser Doktorarbeit eine kosten günstige optische Technologie basierend auf Dunkelfeldmikrowannen für die Quantifizierung von MikroRNA mit Goldnanopartikel beschrieben. Diese Wannen ermöglichen Dunkelfeldbeleuchtung des Assays ohne ein teures Mikroskop und könnten darum für point-of-care Anwendungen eingesetzt werden.

Mit der Vision diagnostischer Tests für zu Hause vor Augen beschreibt diese Doktorarbeit eine weitere Biosensor Technologie basierend auf Elektrochemie und sehr günstiger Hardware. Diese elektrochemische Technologie ist kompatibel mit Lateral-Flow-Tests, welche bereits für Heimtests eingesetzt werden. Konventionelle Lateral-Flow-Tests sind allerdings nicht empfindlich genug für viele Anwendungen und geben kein quantitatives Resultat. Die elektrochemische Technologie gibt ein quantitatives Signal und kann kleinste Mengen von Goldnanopartikellabels in Lateral-Flow-Tests detektieren. Solche Entwicklun-

gen im Gebiet der quantitativen Biosensoren, vor allem im Feld der Heimtests, könnte zu besserer Diagnostik führen und die Gesundheit vieler Menschen erhöhen.