

FRAUNHOFER-INSTITUT FÜR ANGEWANDTE FESTKÖRPERPHYSIK IAF

SCIENCE FOR SYSTEMS

No. 15

Stefan U. Schwarz

BIOFUNKTIONALISIERUNG UND -SENSORIK MIT AIGaN/GaN-FELDEFFEKTTRANSISTOREN



Fraunhofer-Institut für Angewandte Festkörperphysik IAF

Science for Systems

Band 15

Stefan U. Schwarz

Biofunktionalisierung und -sensorik mit AlGaN/GaN-Feldeffekttransistoren

FRAUNHOFER VERLAG

Kontaktadresse:

Fraunhofer-Institut für Angewandte Festkörperphysik IAF Tullastraße 72 79108 Freiburg Telefon 0761/5159-0 Telefax 0761/5159-400 E-Mail info@iaf.fraunhofer.de URL www.iaf.fraunhofer.de

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über http://dnb.d-nb.de abrufbar. ISBN (Print): 978-3-8396-0640-7

D 25

Zugl.: Freiburg, Univ., Diss., 2013

Umschlaggestaltung: Fraunhofer IAF Druck: Mediendienstleistungen des Fraunhofer-Informationszentrum Raum und Bau IRB, Stuttgart

Für den Druck des Buches wurde chlor- und säurefreies Papier verwendet.

© by FRAUNHOFER VERLAG, 2013

Fraunhofer-Informationszentrum Raum und Bau IRB Postfach 80 04 69, 70504 Stuttgart Nobelstraße 12, 70569 Stuttgart Telefon 07 11 9 70-25 00 Telefax 07 11 9 70-25 08 E-Mail verlag@fraunhofer.de URL http://verlag.fraunhofer.de

Alle Rechte vorbehalten

Dieses Werk ist einschließlich aller seiner Teile urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung, die über die engen Grenzen des Urheberrechtsgesetzes hinausgeht, ist ohne schriftliche Zustimmung des Verlages unzulässig und strafbar. Dies gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen sowie die Speicherung in elektronischen Systemen. Die Wiedergabe von Warenbezeichnungen und Handelsnamen in diesem Buch berechtigt nicht zu der Annahme, dass solche Bezeichnungen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und deshalb von jedermann benutzt werden dürften. Soweit in diesem Werk direkt oder indirekt auf Gesetze, Vorschriften oder Richtlinien (z.B. DIN, VDI) Bezug genommen oder aus ihnen zitiert worden ist, kann der Verlag keine Gewähr für Richtigkeit, Vollständigkeit oder Aktualität übernehmen.

Biofunktionalisierung und -sensorik mit AlGaN/GaN-Feldeffekttransistoren

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Technischen Fakultät der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg im Breisgau

vorgelegt von

Stefan U. Schwarz

11. April 2013

Dekan: Referent: Koreferent: Prof. Dr. Yiannos Manoli Prof. Dr. Oliver Ambacher Prof. Dr. Gerald Urban

Datum der Promotion: 08. Oktober 2013

Die dieser Arbeit zugrunde liegenden wissenschaftlichen Tätigkeiten wurden am Fraunhofer Institut für Angewandte Festkörperphysik IAF in der Abteilung Mikro- und Nanosensoren durchgeführt.

Betreuer am IAF: PD Dr.-Ing. habil. Volker Cimalla

« Un scientifique dans son laboratoire est non seulement un technicien : il est aussi un enfant placé devant des phénomènes naturels qui l'impressionnent comme des contes de fées. »

"Ein Wissenschaftler in seinem Labor ist nicht nur ein Techniker, er steht auch vor Naturphänomenen wie ein Kind vor einer Märchenwelt."

Marie Curie

Inhaltsverzeichnis

1.	Einfi	ührung	1
	1.1.	Biosensorik – der Schlüssel zu erfolgreicher Biotechnologie	1
	1.2.	Eine kurze Geschichte der halbleiterbasierten Biosensorik	2
	1.3.	Der Schritt zu Verbindungshalbleiter-Transistoren	3
	1.4.	An der Schnittstelle – GaN-Oberflächenfunktionalisierung	4
		1.4.1. Nichtkovalente Funktionalisierungen	4
		1.4.2. Kovalente Funktionalisierungen	5
	1.5.	(GaN/)AIGaN/GaN-basierte Affinitätsbiosensoren	7
	1.6.	Alternative Sensorkonzepte	9
		1.6.1. Optische Messungen	9
		1.6.2. Elektrochemische Messungen	10
		1.6.3. Mikromechanische Messungen	11
	1.7.	Zielsetzung der Arbeit	12
2.	The	pretische Grundlagen	13
	2.1.	Biosensorik mit Feldeffekttransistoren	13
		2.1.1. Elektrisch geladene Biomoleküle	13
		2.1.2. Das Schlüssel-Schloss-Prinzip	15
		2.1.3. Ladungssensorik mit Fluid-Gate-Feldeffekttransistoren	18
	2.2.	AIGaN/GaN High-Electron-Mobility-Transistoren	24
		2.2.1. AIGaN/GaN Heterostrukturen	24
		2.2.2. High-Electron-Mobility-Transistoren	30
	2.3.	Funktionalisierung von GaN-Oberflächen mit 1-Alkenen	32
		2.3.1. Direkte Gallium-Kohlenstoff-Bindung	32
		2.3.2. Halbleiter-Sauerstoff-Kohlenstoff-Bindung	33
	2.4.	Zusammenfassung der theoretischen Grundlagen	34
3	Fntv	vicklung des Versuchsaufhaus	35
•	31	Anforderungen	35
	3.2	Sensorchin	36
	0.2.	3.2.1 Heterostrukturen	36
		3.2.2 Prozessierung	38
	33	Messzelle	44
	3.4	Rechnergestützte Ansteuerung	47
	3.5.	Zusammenfassung der Entwicklung des Versuchsaufbaus	49

4.	Funl	ctionalisi	ierung von Galliumnitridoberflächen	51
	4.1.	Funktio	nalisierungsmoleküle	52
		4.1.1.	10-Trifluoroacetamid-1-decen	52
		4.1.2.	5-Bromo-1-penten	54
		4.1.3.	Sulfo-Succinimidyl-4-[N-maleimidomethyl] cyclohexan-1-carboxylat	55
		4.1.4.	Sondenmoleküle	55
	4.2.	Charakt	erisierung funktionalisierter Oberflächen	56
		4.2.1.	Schichtmorphologie	56
		4.2.2.	Bindungsfestigkeit	56
		4.2.3.	Schichtdicke	58
		4.2.4.	Chemische Zusammensetzung	58
		4.2.5.	Oberflächendichte	60
	4.3.	Photoch	hemische Funktionalisierung von Galliumnitrid mit 1-Alkenen	62
		4.3.1.	Funktionalisierungsprozess	62
		4.3.2.	Kritische Prozessparameter	65
	4.4.	Thermis	sche Funktionalisierung von Galliumnitrid mit 1-Alkenen	66
		4.4.1.	Funktionalisierungsprozess	67
		4.4.2.	Kritische Prozessparameter	68
	4.5.	Vergleic	ch der Funktionalisierungsprozesse	69
		4.5.1.	Morphologie der Funktionalisierungsschichten	69
		4.5.2.	Chemische Oberflächenanalyse	71
		4.5.3.	Weitere Eigenschaften	78
	4.6.	Biofunk	tionalisierung	78
	4.7.	Zusamn	nenfassung Funktionalisierung von Galliumnitridoberflächen	81
5	Rios	ensorik ı	mit AIGaN/GaN HEMTs	83
5.	5 1	Allaeme	eine Sensorcharakteristika	83
	0.1.	5 1 1	Zulässiger Betriebsbereich	83
		512	Transferkennlinien	85
		513	Ausgangskennlinienfeld	87
	52	Messme	ethoden und -arößen	89
	0.2.	521	Konstantspannungsmessungen	89
		522	Konstantstrommessungen	90
		523	Transferkennlinien	91
		5.2.5. 5.2.4	Referenzpotentialmessungen	03
		52.4.	Wheatstone-Brückenschaltungen	95
		526	Zeitkonstanten hei Rechteckanregung	99
	53	$DN\Delta_H$		103
	5.5.	531		103
		532	Hybridisierung von 15 bn Seguenzen	103 104
		J.J.∠. 5	Hybridisierung von 30 hp Sequenzen	104
		5.5.5. 5 3 /	Kontrollmessungen	100
		5.5.4. 5 3 5	Wiederverwendbarkeit der Sensoren	111
		5.5.5. 5 2 6	Reproduzierbarkeit bei identischem Sensor	110
		5.5.0. 5.3.7	Reproduzierbarkeit bei identisch prozessierten Sensoren	112
		5.5.7. 5.3.2	Detektionslimit	11/
		J.J.U.		T T H

	5.4.	5.3.9. 5.3.10. 5.3.11. Antikör 5.4.1.	Inverse Messsignale	115 117 118 118 119
		5.4.2.	CCL2-Detektion mit Referenzpotentialmessungen	120
		5.4.3. 5.4.4	CCL2-Detektion mit Zeitkonstanten bei Rechteckanregung	124
		5.4.4.		121
6.	Zusa	ammenfa	assung	129
Α.	Biol	ogische S	Sequenzen	131
	A.1.	Gensequ	uenz HBB-001	131
	A.2.	Experim	nentell verwendete Oligonukleotidsequenzen	132
	A.3.	Aminos	äurensequenz CCL2	132
B	Duff	orlösung	on	122
Б.	R 1	Phosnh	cii atnuffer	133
	B 2	100 mM	/ Triethanolaminnuffer pH 7.0	133
	B.3.	2x SSP	E/0.2% SDS Puffer pH 7.4	134
	B.4.	8,3 M L	Jrealösung	134
С.	Stan	dardfun	ktionalisierungsprozesse	135
0.	C.1.	Photoch	hemische Funktionalisierung von Galliumnitrid mit TFAAD	135
	C.2.	Thermis	sche Funktionalisierung von Galliumnitrid mit TFAAD	136
	C.3.	Biofunk	tionalisierung	137
D.	Mes	ssoftwar	e	139
	D.1.	Referen	zstrom-Messung	141
	D.2.	Transfe	rkennlinien-Messung	142
	D.3.	Ausgang	gskennlinien-Messung	143
	D.4.	Referen	zpotential-Messung	144
	D.5.	Zeitkon	stanten-Messung	146
Ab	kürzı	ingsverz	eichnis	147
Lit	eratu	rverzeicl	hnis	153
Ab	bildu	ngsverze	eichnis	167
Та	beller	verzeicł	nnis	171
Pu	blikat	tionsverz	zeichnis	173
Da	nksa	gung		177

1. Einführung

1.1. Biosensorik – der Schlüssel zu erfolgreicher Biotechnologie

Stellt man die Frage nach den wichtigsten Technologien, die in den nächsten Jahrzehnten unser Leben und Wirtschaften zunehmend prägen werden, so erhält man oft die Antworten Informations- und Kommunikationstechnologie, Nanotechnologie, nachhaltige Energieversorgung – und Biotechnologie. Doch wie kann es dazu kommen, dass ausgerechnet die Biotechnologie, ein seit Jahrtausenden genutzter Wirtschaftszweig, als hoffnungsvoller Kandidat für eine Schlüsseltechnologie der Zukunft gilt?

Biotechnologie, also die "Verwendung eines Organismus oder seiner Komponenten in industriellen oder wirtschaftlichen Prozessen und die Entwicklung damit verbundener Verfahren" [1], ist schon lange ein – wenn auch unbewusster – Bestandteil der menschlichen Zivilisation. Prozesse wie die Verarbeitung von Milch zu Joghurt und Käse, das Gerben von Häuten in der Lederherstellung, oder die Herstellung von alkoholischen Getränken wie Bier und Wein sind schon seit dem Altertum bekannt. Die biologischen Mechanismen, die dabei wirken, waren aber lange Zeit unbekannt. Erst mit der Entwicklung der modernen biologischen und medizinischen Forschung und den daraus gewonnenen Kenntnissen über die Mikro- und Molekularbiologie sind die theoretischen Beschreibungen dieser Verfahren möglich.

Eine entscheidende Entdeckung ist dabei die Aufklärung der Struktur der Desoxyribonukleinsäure (engl. deoxyribonucleic acid, DNA) durch Watson und Crick 1953 [2]. Nachdem die Biotechnologie lange Zeit auf zufällige Entdeckungen angewiesen war, konnte nun zielgerichtet nach neuen Anwendungen geforscht werden. Innerhalb weniger Jahrzehnte entwickelte sich die Biotechnologie zu einem eigenständigen Wirtschaftszweig. Als wichtigste Triebfedern haben sich dabei drei Anwendungsfelder herauskristallisiert:

- Bei der weißen Biotechnologie werden Mikroorganismen und Enzyme dazu genutzt, im industriellen Maßstabe Roh- und Kraftstoffe zu erzeugen. Beispiele dafür sind die Biogas- und Bioethanolproduktion, die Produktion von Feinchemikalien und Enzymen und die Herstellung von Lebensmittelzusätzen wie Vitaminen und essentiellen Aminosäuren.
- Die grüne Biotechnologie nutzt insbesondere molekularbiologische Methoden, um Nutzpflanzen zu modifizieren. So werden Pflanzensorten entwickelt, die Resistenzen gegen bestimmte Krankheiten aufweisen, schneller oder unter schwierigeren Bedingungen reifen können. Die Verwendung gentechnischer Methoden wird hierbei, vor allem in Deutschland und dem restlichen Europa, aus ethischen Gründen oft kritisch betrachtet. In anderen Teilen der Welt, insbesondere auf dem amerikanischen Kontinent sowie in Asien, sind der Anbau gentechnisch veränderter Soja-,

Mais-, Raps- oder Baumwollpflanzen so weit verbreitet, dass im Jahr 2010 etwa 150 Millionen Hektar, also etwa 10% des weltweit kultivierten Ackerlandes, mit gentechnisch modifizierten Pflanzen bewirtschaftet wurden [3].

 Unter dem Begriff rote Biotechnologie werden all diejenigen biotechnologischen Aktivitäten zusammengefasst, die medizinischen Zwecken dienen. In der Diagnostik werden beispielsweise Gentests für Vaterschaftstests, die Detektion von Erbkrankheiten in der Pränataldiagnostik oder für eine individualisierte Therapie durchgeführt. Auch in der Therapie selbst sind durch die Gentherapie sowie die biotechnologische Produktion pharmazeutischer Wirkstoffe neue Möglichkeiten entstanden.

Allen diesen Teilbereichen ist gemeinsam, dass nur durch eine genaue Kontrolle und Überwachung der Prozesse deren Sicherheit und Qualität gewährleistet werden kann. Dafür ist die Detektion und Quantifizierung biologischer Substanzen nötig. Hierfür werden zunehmend Biosensoren eingesetzt, also "Geräte, die immobilisierte biologische Elemente verwendet, um chemische [inkl. biologische] Substanzen nachzuweisen oder zu messen" [1]. Das biologische Element kann dabei aus dem gesamten Spektrum der Biologie stammen, vom hochentwickelten Organismus (historisch: Grubengasdetektion mit Kanarienvögeln) bis hin zu einzelnen Biomolekülen wie DNA oder Proteinen.

Durch den Aufschwung der Biotechnologie in den vergangenen Jahrzehnten hat sich auch die Biosensorik zu einem wirtschaftlich sehr bedeutenden Feld entwickelt. So werden Biosensoren aktuell für Forschungszwecke, Point-of-Care Diagnostik, Heimdiagnostik, industrielle Prozessüberwachung, Umweltüberwachung sowie Gefahrstoffdetektion in sicherheitskritischen Bereichen verwendet. Biosensorik ist dabei aktuell ein stark wachsender Markt. Ausgehend von einem Marktvolumen von 6,72 Mrd. \$ 2009 wird ein Wachstum auf 14,42 Mrd. \$ im Jahr 2016 erwartet [4]. Das Wachstum wird dabei durch neue Innovationen gestützt, insbesondere der vermehrten Einführung halbleiterbasierter Biosensoren im medizinischen Umfeld und in der Umweltüberwachung [5].

1.2. Eine kurze Geschichte der halbleiterbasierten Biosensorik

Chemo- und Biosensorik mit Halbleitern gibt es schon seit den 70er Jahren des 20. Jahrhunderts, der endgültige Durchbruch der Technologie auf dem Biosensorikmarkt hat sich jedoch insbesondere aufgrund von Stabilitätsproblemen immer wieder verzögert. Ausgangspunkt ist die Entwicklung des ISFETs (ionensensitiven Feldeffekttransistors) durch Bergveld 1970 [6]. Kernelement dieser Entwicklung ist ein MOSFET (Metalloxid-Halbleiter-Feldeffekttransistor, engl. metal oxide semiconductor field-effect transistor), bei dem anstelle des Gate-Kontaktes das Gateoxid direkt mit einer wässrigen Lösung kontaktiert wird. Ionen adhärieren an diesem Oxid und beeinflussen über ihre Ladung die Leitfähigkeit des Kanals. Neben der Verwendung als Ionensensor wies Bergveld damals bereits auf die mögliche Anwendung des Prinzips im direkten biologischen Kontext hin, beispielsweise für die Ableitung von Nervensignalen [6,7].

In den darauf folgenden Jahren konnte der Einsatzbereich durch definierte Funktionalisierungen der aktiven Sensoroberfläche erweitert werden. Nach einem von Janata *et al.* 1976 publizierten Ansatz [8] entstanden zunächst Sensoren, die das von Clark und Lyons entwickelte Prinzip der biokatalysierten Sensoren [9] auf ISFETs übertrugen. Derartige EnFETs (Enzym-Feldeffekttransistoren) wurden zur Detektion von Penicillin mit Penicillinase [10], Glukose mit Glukoseoxidase [11], Harnstoff mit Urease [11] und vielen weiteren enzymatisch reagierenden Molekülen entwickelt. Gemeinsam ist diesen Sensoren, dass das Sensorsignal nicht direkt durch das Analyt, sondern durch ein bei der enzymatischen Reaktion entstehendes (Neben-)produkt erzeugt wird, was zu systembedingten Querempfindlichkeiten führt.

Alternativ dazu wird an ISFET-basierten Sensoren geforscht, welche selektive biologische Erkennungsmechanismen nutzen, um die Analytmoleküle auf der aktiven Fläche zu binden und direkt über intrinsische Ladungen nachzuweisen. Insbesondere DNA (Hybridisierung) und Proteine (Antikörper-Antigen-Wechselwirkung) sind potentielle Analytmoleküle für diese Sensoren. Eine praktische Realisierung des 1978 von Schenck beschriebenen Konzepts [12] erwies sich jedoch als schwierig. Da elektrische Abschirmungseffekte der Ionen in den verwendeten Elektrolytlösungen einen Einfluss der intrinsischen Ladungen auf den Transistorkanal minimieren, wurden derartige Konzepte zwischenzeitlich *per se* abgelehnt [13, 14]. So dauerte es bis 1997, dass Souteryand *et al.* erstmals direkt die Hybridisierung von DNA mit einem Feldeffekttransistor nachweisen konnten [15], ein direkter Nachweis von Proteinen wird 2005 von Park berichtet [16].

Ein dritter Ansatz, Biosensorik mit Feldeffekttransistoren zu verknüpfen, sind mit Zellen bewachsene CPFETs (Zellpotentials-Feldeffekttransitoren, engl. cell potential field-effect transistors), um extrazelluläre Potentiale im direkten Kontakt mit den Zellen zu bestimmen. Einsatzgebiete derartiger Sensoren sind die Analyse von neuronalen Aktionspotentialen [17, 18] und die Überwachung von Vitalparametern und Stoffwechselaktivität einzelner Zellen oder Zellkulturen [19].

1.3. Der Schritt zu Verbindungshalbleiter-Transistoren

Für den praktischen Einsatz von Biosensoren ist es von großem Vorteil, wenn der Analyt direkt in der unbehandelten Probe nachgewiesen werden kann und somit komplexe Probenaufbereitungsschritte entfallen können. Der Sensor muss also "biokompatibel" sein. Nach der Definition von Williams bedeutet dies, dass das Sensormaterial "im spezifischen Anwendungsfall bei einer bestimmten Reaktion der biologischen Umgebung eine gewünschte Funktion [...] erfüllen" [1] muss. Für die behandelten Sensoren hat dies folgende Konsequenzen:

- Der Sensor darf die biologischen Elemente nicht negativ beeinflussen, d. h. Biomoleküle dürfen in Ihrer Struktur nicht geändert werden, die Vitalität von Zellen im Kontakt mit dem Sensor nicht wesentlich verringert werden.
- Der Sensor muss seine Funktion im Kontakt mit Analytmedien wie Pufferlösungen, Zellkulturmedium, Blut, Speichel oder Atemkondensat aufrecht erhalten können.

Beide Punkte werden von siliziumbasierten Transistoren nicht erfüllt: Silizium ist geringfügig toxisch gegenüber Zellen [20] und in aggressiven Umgebungen nicht ausreichend stabil [21, 22].

Besser für diese Anwendungen geeignet sind Sensoren auf Basis der III/V-Halbleiter Aluminiumgalliumnitrid (AlGaN) und Galliumnitrid (GaN) [20-22]. Im Zuge der Entwicklung der blauen Leuchtdiode, die auf GaN basiert [23], wurde GaN-Elektronik in den 1990er Jahren eine Disziplin intensiver Forschung. 1993 publizierten Khan et al. erstmals den AIGaN/GaN High Electron Mobility Transistor (HEMT) [24]. In der Folge konzentrierte sich die Forschung auf diesem Gebiet zunächst auf die Anwendung des neuen Transistortyps in der Hochfrequenz- und Leistungselektronik, da der Transistor auch auf diesem Gebiet aufgrund höherer erreichbarer Grenzfrequenzen und geringerer Verlustleistung dem Silizium MOSFET überlegen ist. Nach ersten Versuchen, pH-Sensoren mit GaN Oberflächenkanalfeldeffekttransistoren zu realisieren [25] ist es vor allem der Ansatz der Arbeitsgruppe um Prof. Stutzmann am Walter-Schottky-Institut der TU München, AIGaN/GaN HEMTs mit fluidischem Gatekontakt (SGFETs) als Biosensoren zu verwenden [26], der Biosensorik mit AlGaN/GaN Feldeffekttransistoren in den Fokus der Forschung rücken ließ. In der Folge wurden die vom Silizium-ISFET bekannten Sensorprinzipien auf die AIGaN/GaN HEMT Sensoren übertragen. Entsprechend entstanden pH-Sensoren [27], zellbasierte Biosensoren [28], Protein-Affinitätssensoren [29], enzymbasierte Sensoren [30] und DNA-Hybridisierungssensoren [31] auf der Basis von AlGaN/GaN Heterostruktur-Feldeffekttransistoren.

1.4. An der Schnittstelle – GaN-Oberflächenfunktionalisierung

Ein entscheidender Punkt bei der Entwicklung von DNA-Hybridisierungs- und Protein-Affinitätssensoren, wie sie in dieser Arbeit behandelt werden, ist die Funktionalisierung der aktiven Fläche, also die Immobilisierung des Sondenmoleküls auf der Oberfläche des Halbleitermaterials. Hierbei gibt es zwei prinzipielle Gruppen von Techniken, die zu diesem Zweck eingesetzt werden: Funktionalisierungen, die auf nichtkovalenten Mechanismen basieren, und solche, bei denen das Sondenmolekül über kovalente Bindungen an den Halbleiter angebunden wird.

1.4.1. Nichtkovalente Funktionalisierungen

Weit verbreitet für die Funktionalisierung von Oberflächen ist die Verwendung von selbstorganisierenden Monoschichten (SAM, engl. self-assembled monolayer) von Thiolen (-SH) auf Goldoberflächen [32]. Hierbei wird die zu funktionalisierende Oberfläche vergoldet und eine Lösung von Thiolen auf die Oberfläche gegeben. Gold ist als Edelmetall inert gegen chemische Reaktionen mit vielen Substanzen, reagiert bei Kontakt mit Thiolen jedoch unter Ausbildung eines nichtkovalenten Thiol-Gold-Komplexes (Au--S).

Um eine biologische Funktionalisierung der Oberfläche zu erhalten, wird eine Lösung von Biomolekülen mit intrinsischen oder durch die Methoden der organischen Chemie hinzugefügten Thiolgruppen auf die goldbeschichtete Oberfläche gegeben. Die Schichtbildung erfolgt bei Normalbedingungen selbsttätig und stoppt, sobald alle Thiolmoleküle gebunden sind oder die Goldoberfläche mit einer Monolage der Thiole komplett bedeckt ist.

Die Technik der Funktionalisierung mit selbstorganisierenden Thiol-Monoschichten auf

Gold wird auch für die Sensorik verwendet. Ein Beispiel hierfür ist die Funktionalisierung eines Silizium-MOSFETs zur Detektion von ribosomalen Proteinen, die von Park *et al.* beschrieben wird [16].

Für den dauerhaften Einsatz im Biosensorkontext besitzt die Methode jedoch einige Nachteile. Die Bindungsenergie der Komplexbindung ist mit 126 kJ mol⁻¹ [33] zwar ausreichend hoch, dass die Stabilität der Monolagen bei Lagerung an Luft über eine lange Zeit gewährleistet ist, beim Einsatz im Biosensorkontext ist diese Dauerhaftigkeit jedoch aufgrund der aggressiven biologischen Medien nicht gewährleistet. Neben der Lösung der Thiol-Gold-Komplexe kann dabei je nach Prozessierung auch die Ablösung der Goldbeschichtung von der Halbleiteroberfläche problematisch werden. Darüber hinaus hat die Technik bei III/V-Halbleitern noch den Nachteil, dass die optische Transparenz des Chips durch die Beschichtung mit Gold verloren geht. Parallele durchlichtoptische und elektrische Messungen werden somit unmöglich.

1.4.2. Kovalente Funktionalisierungen

Besser geeignet für die langzeitstabile Funktionalisierung von Halbleiteroberflächen erscheinen Funktionalisierungsprozesse, bei denen die Funktionalisierungsmoleküle über eine direkte kovalente Bindung an das Halbleitermaterial angebunden wird. Von diesen Prozessen wurden in den vergangenen Jahrzehnten eine große, vielfältige Anzahl publiziert, wobei die folgenden Prozesse für die Funktionalisierung von Galliumnitridoberflächen genutzt werden:

UHV-Prozesse

Die ersten beschriebenen Funktionalisierungsprozesse für Galliumnitrid stammen von Bermudez, der in Ultrahochvakuumprozessen Galliumnitridoberflächen unter anderem mit Anilin [34], 3-Pyrrolin [35] und 1-Oktanthiol [36] funktionalisierte. Aufgrund des hohen experimentellen Aufwands sind diese Prozesse für den praktischen Einsatz im Biosensorkontext jedoch nicht von Bedeutung.

Organosilane

Am weitesten verbreitet ist die Funktionalisierung von Halbleiteroberflächen mit Organosilanen wie 3-Aminopropyltriethoxysilan (APTES, Abb. 1.1) oder Octadecyltrimethoxysilan (ODTMS). Dieser Prozess wurde 1980 von Sagiv *et al.* erstmals für die Funktionalisierung von Silizium beschrieben [37]. Souteyrand *et al.* nutzten diese Technik 1997 erstmals für die Funktionalisierung von ISFET-basierten Biosensoren [15] und Kang *et al.* übertrugen den Prozess 2005 auf Galliumnitrid [29]. Dass die Funktionalisierung hierbei wirklich kovalent erfolgt, beschrieben Baur *et al.* im selben Jahr [38].

Die Funktionalisierungsreaktion erfolgt durch das definierte Herausziehen der oxidierten Halbleiteroberfläche aus einem Bad mit dem in organischen Lösungsmitteln gelösten Organosilan. Dabei bilden sich drei Bindungen von den oxidierten Alkylresten des Silans zu je drei oxidierten Oberflächengalliumatomen aus [29, 38]. Es resultiert eine geschlossene Monolage von Funktionalisierungsmolekülen auf der Oberfläche.



Abb. 1.1.: Funktionalisierung von GaN-Oberflächen mit Organosilanen [29]

1-Alkene

Die Funktionalisierung von Halbleiteroberflächen mit 1-Alkenen (Abb. 1.2) wie 10-Trifluoracetamid-1-decen (TFAAD) wurde erstmals 1995 von Linford *et al.* für wasserstoffterminierte Siliziumoberflächen beschrieben [39]. Die Eignung des Prozesses für Halbleiter mit großer Bandlücke wurde 2006 von Nebel *et al.* mit der Funktionalisierung von wasserstoffterminiertem Diamant mit [40] und von Kim *et al.* mit der Funktionalisierung von Galliumnitridoberflächen [41] gezeigt.

Der Standardprozess bei der Funktionalisierung mit 1-Alkenen basiert im Gegensatz zu den anderen Prozessen auf einer photochemischen Reaktion: Die Reaktion zwischen dem in flüssiger Phase vorliegenden 1-Alken und der Halbleiteroberfläche wird durch Bestrahlung mit ultraviolettem Licht mit einer Wellenlänge von 254 nm initiiert. Die resultierende Funktionalisierungsschicht kann somit – im Gegensatz zu den konkurrierenden Techniken – durch die Bestrahlungsintensität, -dauer und -geometrie beeinflusst werden. Aufgrund dessen wird dieser Prozess auch in dieser Arbeit für die Funktionalisierung von Galliumnitridoberflächen genutzt (Kap. 4).

Die Funktionalisierung mit 1-Alkenen ist zusätzlich zum photochemischen Prozess auch thermisch aktivierbar. Dies zeigten Hoeb *et al.* 2010 mit der thermischen Alkylierung von oxidiertem Diamant [42]. Auch dieser Ansatz erlaubt die Beeinflussung der resultierenden Monolage, indem Reaktionsdauer und Temperatur geändert werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurde dieses Prinzip erstmals auf Galliumnitrid transferiert (Kap. 4.4).



Abb. 1.2.: Funktionalisierung von GaN-Oberflächen mit 1-Alkenen

Organophosphorsäuren

Ein weiterer Ansatz zur Funktionalisierung von Galliumnitridoberflächen ist die thermische Funktionalisierung mit Organophosphorsäuren (Abb. 1.3) wie Octadecylphosphorsäure

(ODPA, engl. octadecylphosphonic acid) oder Hydroxyundecylphosphorsäure (HO-UDPA, engl. hydroxyundecylphosphonic acid). Dieser Prozess wurde erstmals von Gawalt *et al.* 1999 für die Funktionalisierung von Metalloxiden beschrieben [43]. Hanson transferierte den Prozess 2003 erstmals auf Halbleitermaterial, indem er Silizium mit verschiedenen Organophosphorsäuren reagieren ließ [44]. Auf Galliumnitrid wurde der Prozess erstmals 2008 von Kim *et al.* publiziert [45].

Die Bindung erfolgt ähnlich wie bei den Organosilanen durch ein Bad in einer Lösung von Organophosphorsäuren in Tetrahydrofuran. Durch Erhitzung und Verdunstung des Lösemittels wird die oxidierte Halbleiteroberfläche entlang des Flüssigkeitsmeniskus kovalent mit den Organophosphorsäuremolekülen funktionalisiert [44], wobei pro Funktionalisierungsmolekül drei Bindungen zwischen der Phosphatgruppe und den Hydroxygruppen der oxidierten Halbleiteroberfläche gebildet werden [45]. Wie bei den Organosilanen entsteht somit eine geschlossene Monolage von kovalent gebundenen Funktionalisierungsmolekülen auf der Halbleiteroberfläche.



Abb. 1.3.: Funktionalisierung von GaN-Oberflächen mit Organophosphorsäuren [45]

1.5. (GaN/)AIGaN/GaN-basierte Affinitätsbiosensoren

In den vergangenen Jahren haben neben dem Fraunhofer IAF verschiedene weitere Arbeitsgruppen an der Verknüpfung von (GaN/)AIGaN/GaN HEMTs mit bioaffinen Sondenmolekülen geforscht und dabei vielfältige Ergebnisse publiziert.

- Die Arbeitsgruppe um Prof. Fan Ren am Department of Chemical Engineering der University of Florida, Gainesville, USA: Von besonderer Bedeutung ist die erste Publikation eines kovalent funktionalisierten Affinitäts-Biosensors auf HEMT-Basis [29]. Darüber hinaus wurden weitere Sensoren [31, 46, 47] und verschiedene Reviewartikel zum Thema publiziert [21, 60, 61].
- Die Arbeitsgruppe um Prof. Wu Lu am Department of Electrical & Computer Engineering der Ohio State University, Columbus, USA, die u. a. eine Vielzahl von Proteindetektionen mit HEMT-Affinitätssensoren publiziert hat [48–56].
- Die Arbeitsgruppe um Prof. Minseo Park am Physics Department der Auburn University, Auburn, USA: Die Arbeitsgruppe hat Publikationen zu DNA-Hybridisierungssensoren auf HEMT-Basis veröffentlicht [57, 58].

Beim Blick auf die Ergebnisse (Tab. 1.1) zeigt sich, dass diese aufgrund sehr knapp gehaltener Angaben zu den durchgeführten Experimenten, unterschiedlicher Randbedingungen und der meist exklusiven Angabe der geometrie- oder strukturabhängigen Drainstrommessungen nur sehr eingeschränkt miteinander vergleichbar sind.

Quelle	[29]	[31]	[46]	[46]	[47]	[47]	[48]	[48]	[49]	[50]	[50]	[51]	[52]	[53]	[54]	[55]	[55]	[26]	[27]	[57]	[58]	n große
Kontrolle ²	×	>	>	>	>	>	×	×	×	>	>	×	>	×	×	×	×	>	×	×	>	zeiger
Funktiona- lisierung	APTES	AuS	AuS	AuS	AuS	AuS	AuS	AuS	AuS	AuS	APTES	AuS	AuS	APTES	APTES	APTES	APTES	APTES	AuS	AuS	AuS	oiosensoren
Analytkon- zentration ¹	0,3 mM	1μM	0,35 pM	35 pM	0,23 µM	$0,51\mu M$	32 pM	3,2 nM	6,9 pM	k. A.	59,5 µM	k. A.	$1 \mu M$	4,73 pM	4,73 nM	4,73 pM	4,73 nM	0,43 μM	4 μM	1μM	1μM	en Affinitätsl
Analytvolumen	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	2 µl	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	15μ l	k. A.	k. A.	5μl	basierte
Matrix	Phosphatpuffer	u.a. 1 M NaCl	PBS	PBS	Forellenbarschserum	Forellenbarschserum	PBS	PBS	PBS	k. A.	0,15 mM NaCI PBS	Meerwasser	u.a. 1 M NaCl	$0,25 \times PBS$	$0,25 \times PBS$	$0,25 \times PBS$	$0,25 \times PBS$	PBS	u.a. 1 M NaCl	u.a. 1 M NaCl	0,1× PBS	t der AlGaN/GaN-HEMT
Oberflächenpo- tentialänderung	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	$-19 \mathrm{mV}$	—44 mV	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	^r dem Gebie
Referenz- elektrode	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	Pt	Pt	Pt	Pt	Pt	k. A.	k. A.	k. A.	ionen auf
Signal	-4 μA (-0,2%)	—115 µА (—5,8%)	—64 nA (—0,03%)	—6,6 µА (—3%)	+0,7 µA (+0,1%)	+3,0 µA (+0,6%)	-0,2 μA (-0,1%)	—9,2 μΑ (—6,4%)	-2,8 μA (-0,6%)	-1,3%	-0,7%	—60 µА (—0,5%)	-100 μA (-8,5%)	-11,7 nA (-11%)	—64,9 µА (—67%)	$+10\mathrm{mV}$	+44 mV	+22%	—980 µА (—98%)	-6,9 μΑ (-14%)	-25 μA (-2,1%)	ektbiosensoren: Publikat
Messmethode	$l_{\rm D}(t)$	$l_{\rm D}(t)$	$l_{ m D}(t)$	$l_{ m D}(t)$	$l_{\rm D}(t)$	$l_{ m D}(t)$	$l_{D}(t)$	$l_{ m D}(t)$	$l_{ m D}(t)$	$l_{ m D}(t)$	$l_{\rm D}(t)$	$l_{\rm D}(t)$	$l_{D}(t)$	$I_{\rm D}(U_{\rm DS})$	$I_{\rm D}(U_{\rm DS})$	$I_{\rm D}(U_{\rm ref})$	$I_{\rm D}(U_{\rm ref})$	$I_{\rm D}(U_{\rm DS})$	$I_{\rm D}(U_{\rm DS})$	$I_{\rm D}(U_{\rm DS})$	$l_{D}(t)$	ionen Feldefi
Ziel-/Sondenmolekül	Streptavidin/Biotin	DNA (15bp)	PSA/Antikörper	PSA/Antikörper	Vitellogenin/Antik.	Vitellogenin/Antik.	KIM-1/Antikörper	KIM-1/Antikörper	BoNT/Antikörper	DNA (12bp)	Streptavidin/Biotin	PMA/Antikörper	DNA (25 bp)	Streptavidin/Biotin	Streptavidin/Biotin	Streptavidin/Biotin	Streptavidin/Biotin	hCXCL9/Antikörper	DNA (22 bp)	DNA (22 bp)	DNA (22 bp)	Tab. 1.1.: Referenzpublikat

1.6. Alternative Sensorkonzepte

Um die Forschungsergebnisse einordnen zu können, ist es auch nötig, sie mit alternativen Sensorkonzepten zu vergleichen. Auf dem Gebiet der Affinitätsbiosensorik sind es insbesondere drei Gruppen von Sensoren, die zur direkten elektrischen Detektion in Konkurrenz stehen: Optische, elektrochemische und mikromechanische Sensoren.

1.6.1. Optische Messungen

Microarrays

Die heute am stärksten vertretenen DNA-und Proteinbiochips (Abb. 1.4a) nutzen Fluoreszenzfarbstoffe, die entweder vor der Detektion als Label an das Analytmolekül angebracht werden, in einem zweiten Affinitätsschritt mit dem immobilisierten Zielmolekül reagieren (z. B. enzyme linked immunosorbent assay, ELISA), oder – bei DNA-Detektion – in die Doppelhelix interkalieren. Sie sind dementsprechend als direkte Weiterentwicklung des Blottens zu sehen, bei denen auch bereits die Affinität von biologischen Molekülen zur Detektion von DNA (Southern Blot [62]), Ribonukleinsäure (RNA, engl. ribonucleic acid; Northern Blot [63–65]) und Proteinen (Western Blot [66, 67]) genutzt wurde.



Abb. 1.4.: Optische Nachweise: a) Biochip mit Fluoreszenzfarbstoff: Nur wenn das über das Zielmolekül gebundene Fluoreszenzlabel vorhanden ist, kann Licht der Emissionswellenlänge des Labels detektiert werden. b) Oberflächenplasmonenresonanz: Der unterschiedliche Brechungsindex hybridisierter bzw. nichthybridisierter Oberflächen resultiert in unterschiedlichen Resonanz-frequenzen des Oberflächenplasmons. Dadurch ändert sich der für den Resonanzfall nötige Einstrahlwinkel.

Unpassende und daher nicht bindende Moleküle bzw. nicht eingelagerter Farbstoff wird analog zum Blotting vor der Auswertung vom Testfeld abgespült. Bei der Testdurchführung wird das Assay mit monochromatischem Licht bestrahlt, der über das Zielmolekül gebundene Fluoreszenzfarbstoff emittiert daraufhin Licht mit einer erhöhten Wellenlänge, das über ein Filter vom anregenden Licht separiert und detektiert wird. Bei modernen Ausführungen dieser Sensoren wird die Intensität der Fluoreszenz durch eine CCD-Kamera gemessen und am Rechner als Falschfarbenbild dargestellt. Durch lange Belichtungszeiten bei der Auswertung der Assays sind enorm niedrige Detektionsgrenzen von weniger als 100 Kopien des Zielmoleküls möglich. Darüber hinaus zeichnen sich die Sensoren durch einen sehr einfachen Aufbau der Einmaltests (engl. disposable) aus, so dass diese sehr günstig produziert werden können. Als Trägermaterial werden oft günstige Polymer- oder Glassubstrate verwendet. Ein wesentlicher Nachteil dieser Sensoren ist jedoch, dass die Analytsequenzen mit einem Label versehen werden müssen, was einen zusätzlichen Arbeitsschritt darstellt, der nur von ausgebildetem Fachpersonal und mit hohem apparativen Aufwand durchgeführt werden kann. Entsprechend werden derartige Systeme vor allem für Analysen in großen Laboren mit hohem Durchsatz verwendet.

Bei den fluoreszenzbasierten Sensoren dient das Substrat lediglich der mechanischen Befestigung der Beschichtung. Als vorteilhaft erweist sich bei der Messung die Transparenz der Substrate im sichtbaren Spektrum. Gläser und Polymere haben somit gute Eigenschaften für diese Anwendungen und sind zusätzlich sehr kostengünstig. Verfahren für die kovalente Anbindung von Sonden sind sowohl auf Glas- [68, 69] als auch auf Polymersubstraten [70, 71] vorhanden. Aufgrund der kostengünstigen Substratmaterialien und der sicheren Vermeidung von Querkontaminationen im Test werden die Assays jedoch häufig als Einwegartikel verwendet, entsprechend werden meist nichtkovalente Anbindungen wie Nadel- und Tropfendruckverfahren [72] angewandt. [73]

Oberflächenplasmonenresonanz

Ein weiterer Transduktionsmechanismus, der auf optischen Eigenschaften beruht, ist die Oberflächenplasmonenresonanz (Abb. 1.4b). Bei der Bestrahlung eines dünnen Metallfilms mit einem Laser werden die Valenzelektronen des Metalls in Schwingungen parallel zur Oberfläche versetzt. Da hierbei ein exponentiell abfallender Teil des elektrischen Felds der Lichtwelle auch in das angrenzende Medium eintaucht, wird das Schwingungsverhalten auch durch den Brechungsindex des Fluids in unmittelbarer Nähe der Grenzschicht beeinflusst. In der Praxis zeigt sich bei einem bestimmten Einfallswinkel ein Absorptionspeak, bei dem die Energie des eintreffenden Lichts auf die dann zu einer resonanten Schwingung angeregten Elektronen, das Oberflächenplasmon, übertragen wird [74]. Dieser Winkel zeigt eine starke Abhängigkeit vom Brechungsindex der angrenzenden Schicht, der wiederum vom Bindungszustand der Sonden in der Lösung beeinflusst ist.

Die Immobilisierung der Sonden an die Oberfläche erfolgt über eine Thiol-Gold-Bindung. Im Gegensatz zur fluoreszenzbasierten Detektion entfällt bei diesem Prinzip die Notwendigkeit des Labels. Nachteile des Prinzips sind der aufwändige Messaufbau und die Querempfindlichkeit auf weitere im Fluid vorhandene Stoffe, die den Brechungsindex ebenfalls ändern. [73]

1.6.2. Elektrochemische Messungen

Millan und Mikkelsen beschrieben 1993 das Prinzip des elektrochemischen Nachweises der Hybridisierung von DNA basierend auf der höheren Affinität eines Redoxlabels zu ds-DNA gegenüber ss-DNA [75]. Zwischen einer Referenz- und der Arbeitselektrode mit der immobilisierten Sonde wird eine Spannungsrampe angelegt (Abb. 1.5a). Erreicht diese einen für das Redoxlabel charakteristischen Wert, wird dieses reduziert bzw. oxidiert, je nach vorhandener Menge des Labels ergibt sich ein Redoxstrom, der sich als Peak im Cyclovoltammogramm zeigt. Eine Auswertung der Peakfläche ermöglicht zusätzlich auch eine quantitative Aussage.

Auf diesem Prinzip aufbauend existiert heute eine große Variation von elektrochemischen Sensoren, die mit Redoxlabels arbeiten. Analog zu den fluoreszenzbasierten Sensoren ist jedoch auch hier die Notwendigkeit des Labels mit zusätzlichem materiellem und personellem Aufwand als Nachteil zu sehen. Ansätze zur labelfreien elektrochemischen Detektion von DNA, die auf der Oxidation von Guanin beruhen [76], versuchen dieses Problem zu lösen, benötigen aber Sonden, bei denen sämtliche Guaninnukleotide durch eine chemisch ähnliche Base ersetzt sind, um den Redoxpeak amperometrisch eindeutig feststellen zu können.

Da die Sensoroberfläche gleichzeitig als Elektrode dient, ist die vorwiegend genutzte Oberflächenchemie die Anbindung von thiolmodifizierten DNA-Sonden auf Gold [77]. Alternative Methoden, wie die von Millan und Mikkelsen verwendete Anbindung an oxidierte Carbon-Elektroden [75], sind wenig verbreitet. [73]



Abb. 1.5.: Elektrochemische und mikromechanische Nachweise: a) Elektrochemische Sensoren: Nur wenn das über das Zielmolekül gebundene Redoxlabel vorhanden ist, kann im Cyclovoltammogramm der entsprechende Redoxpeak detektiert werden. b) Quarz-Mikrowaage: Die Anbindung des Zielmoleküls führt zu einer Massenänderung und somit zu einer Abnahme der Resonanzfrequenz des Schwingquarzes.

1.6.3. Mikromechanische Messungen

Mit der 1959 von Sauerbrey entwickelten Quarzmikrowaage [78] lassen sich Massenänderungen im Bereich einiger Femtogramm durch die Änderung der Resonanzfrequenz von Schwingquarzen ermitteln. Werden auf einem metallbeschichteten Schwingquarz DNA-Sonden immobilisiert, so ändert sich die schwingende Masse und damit die Resonanzfrequenz in Abhängigkeit vom Hybridisierungszustand (Abb. 1.5b).

Mit diesem Prinzip können theoretisch 20-basige DNA-Einzelstränge bis zu einer Anzahl von etwa 100 Kopien erkannt werden. In der Praxis ist dieser Idealfall aufgrund der Dämpfung mechanischer Schwingungen in den für die Biosensorik nötigen fluidischen Medien nicht erreichbar. Als Standardmetallisierung hat sich Gold bewährt, da es neben seiner chemischen Stabilität gegenüber biologischen Proben mit der Thiol-Gold-Bindung [32] eine einfache Funktionalisierungsmethode gibt.

Neben der klassischen Quarzmikrowaage gibt es noch weitere mikromechanische Sensoren, die beispielsweise mit schwingenden Cantilevern arbeiten [79]. Weiterhin nutzen SAW-Sensoren (akustische Oberflächenwellen, engl. surface acoustic waves) den Einfluss der auf

der Oberfläche gebundenen Masse auf die Schallgeschwindigkeit auf der Sensoroberfläche. Durch die Ermittlung der Resonanzfrequenzen kann in diesem Fall auf die Konfiguration der Sonden rückgeschlossen werden [80, 81]. [73]

1.7. Zielsetzung der Arbeit

Im Gegensatz vor allem zu den etablierten fluoreszenzbasierten Microarrays sind die Eigenschaften feldeffektbasierter Affinitätsbiosensoren nur sehr unzureichend und nicht im Zusammenhang beschrieben. Ziel dieser Arbeit ist es daher, ein tieferes Verständnis der Biosensorik mit GaN/AlGaN/GaN-heterostrukturbasierten Feldeffekttransistoren zu erreichen. Insbesondere sollen dazu die Chemie der Oberflächenfunktionalisierung genauer analysiert werden, der Transduktionsmechanismus mit einem theoretischen Modell überprüft werden und die Eignung verschiedener Messkonfigurationen und -größen untersucht werden.

Um dies zu erreichen, werden zunächst in Kapitel 2 notwendige theoretische Hintergründe zur Affinitätsbiosensorik, zum HEMT und zur Funktionalisierung mit 1-Alkenen erläutert. Im anschließenden experimentellen Teil wird in Kapitel 3 die Entwicklung eines neuen, speziell für diese Anwendung ausgelegten HEMT-Designs, eines darauf angepassten Sensormoduls und -messplatzes sowie einer variablen Software zur Steuerung und Messwertaufzeichnung aufgezeigt. Auf diesen Transistoren und vergleichbaren, unprozessierten Heterostrukturen wird danach in Kapitel 4 die Funktionalisierung mit 1-Alkenen, die aufgrund ihrer variablen Moleküldichte für die Herstellung der Sensoren gewählt wird, sowie die Biofunktionalisierung mit biologischen Sondenmolekülen betrachtet. In Kapitel 5 werden die auf Basis dieser Erkenntnisse entstandenen Bioaffinitätssensoren untersucht und schließlich für die Detektion von DNA-Oligonukleotiden und einem Signalprotein eingesetzt. Dabei werden neben den in den meisten Referenzpublikationen verwendeten Drainstrommessungen weitere Messgrößen erfasst, um detailliertere Erkenntnisse über die Hintergründe der Transduktion zu gewinnen.

Zum Abschluss folgt in Kapitel 6 eine kompakte Zusammenfassung der Ergebnisse der Arbeit.

2. Theoretische Grundlagen

Um im wissenschaftlichen Kontext Biosensorik mit AlGaN/GaN-basierten Sensoren zu betreiben, ist ein tieferes Verständnis der zugrunde liegenden Theorie nötig, die im folgenden Kapitel erörtert wird. Zunächst wird in Kapitel 2.1 die Biosensorik mit Hilfe des Feldeffekts elektrisch geladener Biomoleküle anhand eines Modells von Poghassian, Schöning *et al.* [82] erläutert; anschließend erfolgt in Kapitel 2.2 eine Abhandlung über die Eigenschaften von III/V-Halbleitern und deren Nutzung zur Herstellung von High-Electron-Mobility-Transistoren (HEMTs) nach Ambacher *et al.* [83]. Diese beiden Punkte sind zum Verständnis des Transduktionsmechanismus nötig und resultieren in einem theoretischen Modell der Signalgeneration. Danach folgen mit der Beschreibung der Funktionalisierungschemie von Galliumnitrid in Kapitel 2.3 die Grundlagen zur Verbindung von Feldeffekttransistor und biologischen Erkennungsmechanismen.

2.1. Biosensorik mit Feldeffekttransistoren

Biosensoren auf Basis von Feldeffekttransistoren sind ein vielversprechender, aber auch komplexer Ansatz für eine neue Generation von labelfreien biologischen und chemischen Sensoren [84]. Bei diesen Sensoren wird das Signal direkt aus elektrischen Ladungen des zu detektierenden Stoffs generiert, indem sie das Gate- bzw. Oberflächenpotential des Halbleiters beeinflussen und somit die Leitfähigkeit des Transistorkanals ändern. Da auch die im Rahmen dieser Arbeit behandelten Sensoren auf dem Feldeffekt der

Biomoleküle aufbauen, müssen für das Verständnis der Signalgeneration daher zunächst die folgenden drei Fragestellungen beantwortet werden:

- Welche Biomoleküle weisen elektrische Ladungen auf?
- Wie können diese Biomoleküle spezifisch erkannt und immobilisiert werden?
- Welchen Einfluss haben die geladenen Biomoleküle auf den Feldeffekttransistor?

Antworten auf diese Fragen zu finden war und ist Gegenstand einer großen Anzahl von wissenschaftlichen Veröffentlichungen, deren wesentlichen Erkenntnisse im folgenden zusammengefasst sind.

2.1.1. Elektrisch geladene Biomoleküle

Im Gegensatz zu DNA- und Proteinbiochips, die auf mit Fluoreszenzmarkern (engl. label) markierte Biomoleküle angewiesen sind, verfolgt die Biosensorik mit Feldeffekttransistoren das Ziel, Biomoleküle labelfrei durch das elektrische Feld ihrer inhärenten Ladungen nachzuweisen. Dazu sind entsprechend nur solche Moleküle geeignet, die Ladungen aufweisen. Dies ist jedoch für die meisten interessanten Moleküle der Fall.

DNA

Die Desoxyribonukleinsäure ist das Biomolekül, das die Erbinformation des Organismus (das Genom) beinhaltet. Die Rolle der DNA, die in jeder Zelle vorhanden ist, ist in der Biologie so grundlegend, dass keine natürliche Lebensform ohne DNA oder anderer eng verwandter Nukleinsäuren wie der RNA existiert.

Bei näherer Betrachtung der Struktur der DNA erkennt man, dass sie aus zwei in Form einer Doppelhelix aneinandergelagerten Strängen besteht. Jeder Strang für sich ist wiederum ein Polymer aus vier unterschiedlichen Monomeren – den Nukleotiden, die von der DNA-Polymerase in einer definierten Abfolge aneinandergehängt werden (Abb. 2.1). Die Sequenz der Nukleotide kodiert dabei die Erbinformation. Die Nukleotide bestehen ihrerseits aus drei Untereinheiten: Einer (vor der Polymerisation auch mehrere) Phosphatgruppe, einem Saccharid (Desoxyribose) und einer der vier Nukleobasen Adenin, Thymin, Guanin oder Cytosin. [85]



Abb. 2.1.: Chemische Struktur der DNA: DNA ist ein Polymer aus veresterten Nukleotiden. Diese bestehen jeweils aus einer der vier Nukleobasen Adenin, Thymin, Guanin oder Cytosin, sowie dem Saccharid Desoxyribose und einer Phosphatgruppe. [86]

Die DNA ist eine Säure nach Brønsted, da die Phosphatgruppen unter den *in vivo* gegebenen Bedingungen ($pH \approx 7$) jeweils deprotoniert sind. Die Phosphatgruppen sind entsprechend einfach negativ geladen, der gesamte Strang weist eine von der Anzahl der Nukleotide abhängige Ladung auf (Gl. 2.1):

$$Q_{\mathsf{DNA}} = -n \cdot e. \tag{2.1}$$

Diese Ladungen können durch das von ihnen induzierte elektrisches Feld mit Feldeffekt-Biosensoren detektiert werden.

Im hybrdisierten Zustand ist die Geometrie der DNA, insbesondere bei kurzen Sequenzen mit < 100 Basenpaaren relativ starr. Die Stränge bilden eine Doppelhelix mit einem Durchmesser von $r_{\text{DNA}} = 2,0$ nm und einer Steigung der Helix von $m_{\text{DNA}} = 3,4$ Å pro Basenpaar [85].

Proteine

Proteine sind eine Gruppe von biologischen Molekülen, die vielfältige Aufgaben im Organismus übernehmen. Zu diesen gehören die Immunabwehr (Antikörper), mechanische Aufgaben (Kollagene im Bindegewebe, Aktin/Myosin im Muskel), Metabolismus (Enzyme), Informationsübertragung (einige Neurotransmitter und Hormone) und viele weitere mehr. Proteine sind, analog zur DNA, ebenfalls Polymere. Die Monomere der Proteine sind α -Aminosäuren (Abb. 2.2), die im Zuge der Proteinsynthese nach einer bestimmten, aus dem Genom translatierten Sequenz zu einem Polypeptid verknüpft werden.



Abb. 2.2.: Chemische Struktur der Aminosäuren: Am α -Kohlenstoffatom neben der Carboxylgruppe sind eine Aminogruppe und ein für die jeweilige Aminosäure charakteristischer Rest R angebunden.

Entscheidend für die Ladung von Proteinen sind die im Protein vorliegenden Amino- und Carboxylgruppen. Neben den endständigen, nicht in eine Peptidbindung überführten Aminound Carboxylgruppen der Peptidkette sind zusätzlich noch die Gruppen aus den Resten von bestimmten Aminosäuren von Bedeutung. Diese sind bei folgenden Aminosäuren vorhanden:

- Lysin, Arginin, Histidin (basische Aminosäuren mit zweiter Aminogruppe)
- Asparaginsäure, Glutaminsäure (saure Aminosäuren mit zweiter Carboxylgruppe)

In wässriger, ausreichend saurer Lösung werden die Aminogruppen zu $-NH_3^+$ -Gruppen protoniert, in ausreichend basischer Umgebung die Carboxylgruppen zu $-COO^-$ -Gruppen deprotoniert. Proteine können somit sowohl als Brønsted-Säure als auch als Brønsted-Base reagieren, sind also Ampholyten. Die Gesamtladung des Proteins kann entsprechend durch den pH-Wert reguliert werden: Eine Erniedrigung des pH-Werts führt zur Protonierung von Amino- und Säurerestgruppen und somit zur Reduzierung negativer und Generation positiver Ladungen. Analog führt eine Erhöhung des pH-Werts zur Deprotonierung von $-NH_3^+$ - und -COOH-Gruppen und somit zur Reduzierung positiver und Generation negativer Ladungen.

Für einen bestimmten pH-Wert, den isoelektrischen Punkt, gleichen sich die positiven und negativen Ladungen im Protein aus – es resultiert ein ungeladenes Makromolekül. Für die Biosensorik mit Feldeffekttransistoren ist dies unerwünscht, da der Einfluss von Ladungen auf den Feldeffekttransistor Grundlage des Sensorprinzips ist. Daher muss für die Detektion des Proteins ein pH-Wert gewählt werden, der ungleich dem isoelektrischen Punkt ist, bei dem das Protein aber dennoch nicht denaturiert wird.

2.1.2. Das Schlüssel-Schloss-Prinzip

In der realen Anwendung liegen Biomoleküle oft in einer komplexen Matrix vor, die neben dem gewünschten Molekül noch zahlreiche weitere, auch geladene Biomoleküle und Ionen enthält. Um einen selektiven Sensor für ein bestimmtes Molekül zu erhalten, ist also ein Mechanismus nötig, um den Einfluss der gewünschten Moleküle von den parasitären Effekten der Matrix zu trennen.

Solche Erkennungsmechanismen sind auch in der Biologie wichtig, um die Existenz von Molekülen zu detektieren. Entsprechend gibt es dort Sondenmoleküle, die andere Moleküle anhand ihrer Morphologie und Ladungsverteilung binden. Diese Mechanismen sind meist hoch selektiv, so dass die Sondenmoleküle oft nur ein spezifisches Zielmolekül binden. Aufgrund dieser Selektivität werden diese Bindungsmechanismen auch bildlich als nach dem "Schlüssel-Schloss-Prinzip" funktionierend zusammengefasst. Auch für die Sensorik können diese Mechanismen verwendet werden, indem das Sondenmolekül auf der Oberfläche immobilisiert wird. Das Zielmolekül wird dann auf der Oberfläche immobilisiert, während andere Stoffe in der Matrix nicht gebunden werden und durch einen Spülvorgang aus dem sensitiven Bereich entfernt werden können.

DNA-Hybridisierung

Für die Erkennung von einzelsträngigen DNA-Sequenzen (ssDNA, engl. single stranded DNA) wird das Phänomen genutzt, dass diese mit der entsprechenden komplementären Sequenz zu einer Doppelhelix (dsDNA, engl. double stranded DNA) hybridisieren (Abb. 2.3). Treibende Kraft dabei ist die Ausbildung von zwei Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem Basenpaar Adenin und Thymin bzw. drei zwischen Guanin und Cytosin (Abb. 2.1).



Abb. 2.3.: Immobilisierung von DNA: Die Oberfläche wird mit Sonden-DNA, deren Sequenz komplementär zur Ziel-DNA ist, funktionalisiert. Die Ziel-DNA kann nun mit der Sonden-DNA hybridisieren, nicht komplementäre DNA in der Matrix wird nicht gebunden.

Ob die Doppelhelix stabil ist, hängt von der Anzahl der Basen (n_A , n_T , n_G , n_C) in den DNA-Sequenzen, der Umgebungstemperatur und dem Salzgehalt der Elektrolytlösung ($c(Na^+)$) ab. Ist die Temperatur der Lösung höher als die Schmelztemperatur T_m der DNA-Sequenzen, so liegen auch komplementäre Sequenzen als Einzelstränge vor und hybridisieren nicht. Die Schmelztemperatur in °C kann dabei empirisch abgeschätzt werden. In dieser Arbeit wird dafür der Ansatz von Howley *et al.* (Gl. 2.2) verwendet, der im Gegensatz zu anderen Ansätzen den Einfluss der Ionen in der Lösung mit einbezieht [87, 88]:

$$T_{\rm m} = 100,5^{\circ}\,{\rm C} + \frac{41^{\circ}\,{\rm C}\cdot(n_{\rm G}+n_{\rm C}) - 820,0^{\circ}\,{\rm C}}{n_{\rm A}+n_{\rm T}+n_{\rm G}+n_{\rm C}} + 16,6^{\circ}\,{\rm C}\cdot\log_{10}\left(\frac{c({\rm Na}^+)}{1\,{\rm mol}\,{\rm I}^{-1}}\right).$$
(2.2)

Neben der Zunahme der negativen Ladungen hat die Hybridisierung noch einen weiteren Effekt auf die DNA-Stränge: Während die Einzelstränge sehr flexible Ketten bilden, sind die hybridisierten Doppelhelices relativ starr. Insbesondere bei dichten Funktionalisierungen ist deren Beweglichkeit dann stark eingeschränkt.

Theoretisch ist eine erfolgreiche Hybridisierung maximal bis zu dem Punkt möglich, an dem eine dicht gepackte Schicht von senkrecht auf der Oberfläche stehenden Doppelhelices erreicht ist. Damit kann aus dem Durchmesser der Doppelhelix von $r_{DNA} = 2,0$ nm [85] nach Gleichung 2.3 eine Obergrenze für eine sinnvolle Funktionalisierungsdichte mit DNA-Einzelsträngen abgeleitet werden:

$$\sigma_{\max} = \frac{1}{A_{\text{DNA}}} = \frac{1}{A_{\odot}} = \frac{1}{2\sqrt{3}r_{\text{DNA}}^2} = \underline{3.46 \cdot 10^{-14} \,\text{cm}^{-2}}.$$
 (2.3)

Antikörper-Antigen-Wechselswirkung

Bei Proteinen führen elektrostatische und van-der-Waals-Kräfte sowie Disulfidbrücken dazu, dass diese sich nach einem definierten Muster falten. Dies geschieht auf zwei Ebenen. Zum einen gibt es in der Primärstruktur des Proteins, der Aminosäurensequenz, Teilsequenzen, die sich zu Sekundärstrukturen organisieren. Beispiele hierfür sind die α -Helix, eine röhrenförmige Wendelstruktur, und das β -Faltblatt, eine flache Teilstruktur (vgl. Abb. 5.32). Über diese charakteristischen Teilstrukturen hinaus gibt es noch die Tertiärstruktur, die die räumliche Anordnung des gesamten Proteins darstellt.



Abb. 2.4.: Immobilisierung von Proteinen: Die Oberfläche wird mit zielproteinspezifischen Antikörpern funktionalisiert. Das Zielprotein wird vom Antikörper mit den spezifischen F_{ab}-Enden als Antikörper-Antigen-Komplex gebunden, andere Proteine in der Matrix werden nicht gebunden.

Aus der Tertiärstruktur resultiert eine Oberfläche mit einer hochspezifischen Morphologie und Ladungsverteilung, die nicht nur dem Protein seine biologische Funktion ermöglicht, sondern auch dazu genutzt werden kann, das Protein zu erkennen und immobilisieren (Abb. 2.4). Zu diesem Zweck werden Antikörper benutzt. Diese Y-förmigen Moleküle bestehen aus dem kristallisierbaren Fragment F_c und zwei antigenbindenden Fragmenten F_{ab} . Die antigenbindenden Fragmente sind so strukturiert, dass die Morphologie passend zur Oberfläche des Antigens ist und die Ladungsverteilung die Ausbildung von bindenden elektrostatischen und van-der-Waals-Kräften zum Antigen herbeiführt.

Ist nun in der Probe das Zielprotein enthalten, wird es vom Antikörper immobilisiert. Andere Proteine und sonstige Moleküle werden nicht gebunden und können durch einen Spülvorgang entfernt.

2.1.3. Ladungssensorik mit Fluid-Gate-Feldeffekttransistoren

Der Einfluss elektrisch geladener Biomoleküle im Bereich des fluidischen Gates auf die Leitfähigkeit des Transistorkanals ist äußerst komplex und im Detail letztlich nicht endgültig geklärt. Entscheidend ist vor allem, dass die Ladungen nicht wie bei einem konventionellen Transistor direkt einem definierten Gatepotential des Transistors entsprechen, sondern durch die Entfernung von der Oberfläche und den Einfluss des Elektrolyts abgeschwächt werden.

Ladungsabschirmung in Elektrolytlösungen



Abb. 2.5.: Potentialverlauf in verschiedenen Medien: Berechnete Werte für eine Punktladung von +1 *e* nach Gleichung 2.4 (Vakuum) bzw. 2.5 (andere).

Elektrische Ladungen führen in ihrer Umgebung zur Ausbildung eines spezifischen Potentialverlaufs (Abb. 2.5). Ohne freie Ladungsträger in der Umgebung bildet sich nach Gleichung 2.4 ein Potentialtopf gemäß dem coulombschen Gesetz aus, der nur von der Ladung Q, der Permittivität des Mediums $\epsilon_0 \epsilon_r$ und dem Abstand von der Ladung rabhängig ist:

$$\Phi(r) = \frac{1}{4\pi\epsilon_0\epsilon_r} \cdot \frac{Q}{r}.$$
(2.4)

In der Gegenwart von weiteren freien Ladungsträgern ziehen die Ladungen aufgrund dieses Coulomb-Potentials weitere Ladungen an – zunächst gegenpolige, diese dann wieder identisch geladene – so dass sich eine elektrochemische Doppelschicht von Ladungen um die ursprünglichen Ladungsträger herum ausbildet. Der Potentialabfall ist dadurch nicht mehr rein hyperbolisch, sondern beinhaltet einen zusätzlichen exponentiellen Term. Dies wird von der Debye-Hückel-Theorie [89] beschrieben. Für das abgeschirmte Potential ergibt sich Gleichung 2.5 [90]:

$$\Phi(r) = \frac{1}{4\pi\epsilon_0\epsilon_r} \cdot \frac{Q}{r} \cdot e^{-\frac{r}{\lambda_D}}.$$
(2.5)

Für die Praxis entscheidend ist die Debye-Länge λ_D , die angibt, in welchem Abstand von der Ladung das Potential durch den exponentiellen Term auf das $\frac{1}{e}$ -fache abgefallen ist. Gleichzeitig entspricht sie definitionsgemäß der Dicke der gebildeten elektrochemischen Doppelschicht. Die Debye-Länge λ_D ist somit ein Richtwert für den Abstand von der Transistoroberfläche, in dem ein geladenes Biomolekül noch detektiert werden kann. Im Elektrolyten gilt dabei der in Gleichung 2.6 beschriebene Zusammenhang [90]:

$$\lambda_{\rm D} = \sqrt{\frac{\epsilon_0 \epsilon_{\rm r} k_{\rm B} T}{2N_{\rm A} e^2 I}}.$$
(2.6)

Die Gleichung zeigt, dass die Debyelänge λ_D nur durch zwei Variablen beeinflusst werden kann, der Temperatur T und der Ionenstärke I. Alle weiteren Elemente in der Gleichung sind als konstant anzusehen: Die relative Permittivität ϵ_r ist durch die Wahl von Wasser als Lösungsmittel festgelegt, die Permittivität des Vakuums ϵ_0 , die Boltzmannkonstante k_B , die Avogadrokonstante N_A sowie die Elementarladung e sind Naturkonstanten. Da die Temperatur im Bereich der Biosensorik durch den Taupunkt von Wasser und die Denaturierungstemperatur von Biomolekülen stark begrenzt ist, ist eine effektive Einflussnahme auf die Debyelänge nur durch die Ionenstärke der Lösung möglich. Diese ist nach Gleichung 2.7 durch die Molaritäten c_i und Ladungszahlen z_i der im Elektrolyt vorhandenen Ionen definiert:

$$I = \frac{1}{2} \sum_{i} c_{i} \cdot z_{i}^{2}.$$
 (2.7)

Es ist zu beachten, dass auch die Ionenstärke nicht beliebig verändert werden kann, da beispielsweise die Hybridisierung von DNA oder die Stabilität der Tertiärstruktur von Proteinen von Ionen in der Lösung abhängig ist. Bei der DNA sind die Ionen nötig, um die repulsiven Coulombkräfte zwischen den beiden negativ geladenen Einzelsträngen abzuschwächen, bei Proteinen ebenfalls, um identisch geladene Teilstrukturen zu stabilisieren. Praxisrelevante Werte für die Debyelänge sind daher nur in einem begrenzten Intervall möglich. Eine Auswahl von Debyelängen unterschiedlicher Flüssigkeiten ist in Tabelle 2.1 aufgelistet.

Theoretische Sensorsignale

Beim klassischen Ansatz, Biosensoren auf der Basis von Feldeffekttransistoren zu realisieren, wird das Potential der Elektrolytlösung mittels einer Referenzelektrode definiert. Zu diesem addiert sich das Coulombpotential der immobilisierten Ladungen (Kap. 2.1.3), was

Flüssigkeit	DI-Wasser	Phosphat- puffer 1 mM	Phosphat- puffer 10 mM	Phosphat- puffer 100 mM	physio- logische Lösung (Ringerlö- sung) [91]
c _i [mol l ⁻¹]	H ₃ O ⁺ : 10 ⁻⁷ OH ⁻ : 10 ⁻⁷	H ₂ PO ⁻ : 5,8 · 10 ⁻⁴ HPO ²⁻ : 4,2 · 10 ⁻⁴ Na ⁺ : 1,42 · 10 ⁻³	H ₂ PO ⁻ : 5,1 · 10 ⁻³ HPO ²⁻ : 4,9 · 10 ⁻⁴ Na ⁺ : 1,49 · 10 ⁻³	H ₂ PO ⁻ : 0,035 HPO ²⁻ : 0,065 Na ⁺ : 0,165	Na ⁺ : 0,147 K ⁺ : 4,0 · 10 ⁻³ Ca ² : 2,2 · 10 ⁻³ Cl ⁻ : 0,156
/ [mol l ⁻¹]	10 ⁻⁷	$1,83 \cdot 10^{-3}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	0,23	0,158
λ_{D} [nm]	974	7,20	2,19	0,64	0,78

Tab. 2.1.: Debyelängen verschiedener Flüssigkeiten bei Raumtemperatur (T = 300 K), Puffer berechnet für pH 7,0.

zu einer Verschiebung des Oberflächenpotentials des Transistors führt. Diese Verschiebung $\Delta \phi$ kann mit einem entsprechenden Messaufbau (indirekt) als Sensorsignal gemessen werden.

Eine Abschätzung, welche Potentialänderungen am Gate durch geladene Biomoleküle innerhalb der Doppelschicht erzeugt werden, liefern Poghassian, Schöning *et al.* [82,84,92]. Als Modell dient hierbei eine einfache Reihenschaltung der Kapazitäten der elektrochemischen Doppelschicht C_{dl} und der Barriere der Heterostruktur C_i . Ein geladenes Biomolekül, das auf der Oberfläche immobilisiert wird, entspricht in diesem Modell einer Ladung Q_h , die zwischen die beiden Kapazitäten eingebracht wird (Abb. 2.6).

Die Ladung kann sich nach dem Modell auf die beiden Kapazitäten aufteilen, wobei effektiv nur der Anteil 0 < x < 1 der Gesamtladung Q_h , der der Barrierekapazität zugeordnet ist, zur Generation des Sensorsignals beiträgt (Gl. 2.8). Der Rest der Ladung wird der Doppelschichtkapazität zugeordnet und von dieser abgeschirmt (Gl. 2.9):

$$Q_{\rm i} = x \cdot Q_{\rm h} \text{ und} \tag{2.8}$$

$$Q_{\rm dl} = (1-x) \cdot Q_{\rm h}. \tag{2.9}$$

Betrachtet man die Energie, die dadurch in den Kapazitäten gespeichert wird, so erhält man die Gleichungen 2.10-2.12 [93]:

$$E_{\rm i} = \frac{Q_{\rm i}^{2}}{2C_{\rm i}} = \frac{(x \cdot Q_{\rm h})^{2}}{2C_{\rm i}}, \qquad (2.10)$$

$$E_{\rm dl} = \frac{Q_{\rm dl}^2}{2C_{\rm dl}} = \frac{((1-x) \cdot Q_{\rm h})^2}{2C_{\rm dl}}$$
, sowie (2.11)

$$E = E_{i} + E_{dl} = \frac{(x \cdot Q_{h})^{2}}{2C_{i}} + \frac{((1 - x) \cdot Q_{h})^{2}}{2C_{dl}}.$$
 (2.12)



Abb. 2.6.: Modell Ladungsverteilung: Eine auf der Oberfläche immobilisierte Ladung teilt sich so auf Doppelschicht- und Barrierekapazität auf, dass die in den Kapazitäten gespeicherte elektrische Energie minimal ist.

Die Ladung wird sich dabei so verteilen, dass die in den Kapazitäten gespeicherte Energie minimal ist. Unter Annahme physikalisch sinnvoller Werte für die Ladung und Kapazitäten $(Q_h^2, C_{dl}, C_i > 0)$ ergibt sich in Abhängigkeit von x ein globales Minimum der Gesamtenergie E bei einem Wert von x gemäß Gleichung 2.13:

$$x = \frac{C_{\rm i}}{C_{\rm i} + C_{\rm dl}}.\tag{2.13}$$

Das Einsetzen dieses Wertes in Gleichung 2.8 liefert die Formel von Blackburn [94], die einen Zusammenhang zwischen der absoluten Ladungsänderung Q_h im Fluid und der entsprechenden effektiven Ladung an der Barrierekapazität Q_i herstellt (Gl. 2.14):

$$\frac{Q_{\rm i}}{Q_{\rm h}} = \frac{C_{\rm i}}{C_{\rm i} + C_{\rm dl}}.\tag{2.14}$$

Die Kapazität der elektrochemischen Doppelschicht kann mit einem typischen Wert von $C_{dl} = 20 \,\mu\text{F} \,\text{cm}^{-2}$ angenommen werden [95]. Die Barrierekapazität C_i ist im Falle von GaN/AlGaN/GaN-HEMTs durch die seriell verschalteten Kapazitäten von GaN-Cap und AlGaN-Barriere bestimmt [96], wobei die relative Permittivität von AlGaN als anteilsmäßig gewichtetes Mittel der relativen Permittivitäten von AlN (8,5) und GaN (10,0) [97] genähert werden kann [98]. Für eine Heterostruktur mit 3 nm GaN-Cap und 22 nm Al_{0,2}Ga_{0,8} N resultiert der in Gleichung 2.15 berechnete Wert:

$$C_{\rm i} = \frac{1}{\frac{d_{\rm GaN}}{\epsilon_{\rm AIGaN}} + \frac{d_{\rm AIGaN}}{\epsilon_{\rm AIGaN}}} = \underbrace{0.345\,\mu\rm F\,\,cm^{-2}}_{=}.$$
(2.15)

Das Einsetzen dieses Wertes in Gleichung 2.14 liefert ein Verhältnis der effektiven Ladung Q_i zur hinzugefügten Gesamtladung Q_h von 1,70%.

Bei der Ladung der Biomoleküle darf nur der Anteil berücksichtigt werden, der sich innerhalb der Doppelschicht befindet. Ladungen, die weiter als λ_D von der Oberfläche entfernt sind werden annähernd vollständig abgeschirmt, ihr Einfluss muss somit vernachlässigt werden. Da die charakteristischen Molekülabmessungen von Biomolekülen und die Debyelängen typischer Flüssigkeiten jeweils in der Größenordnung von wenigen Nanometern



Abb. 2.7.: Einfluss der Molekülposition auf das Sensorsignal: Ein an ein Linkermolekül gebundener hybridisierter DNA-Strang kann je nach Position und Ausrichtung eine unterschiedliche Anzahl von Ladungen im sensitiven Bereich des Feldeffekttransistors aufweisen. a) Maximal von der Oberfläche entfernter DNA-Strang. b) Senkrecht direkt auf der Oberfläche stehendes DNA-Molekül.
 c) Direkt auf der Oberfläche aufliegende DNA. Die Debyelänge in der Darstellung entspricht dem Wert von 10 mM Phosphatpuffer.

liegen, sind eine Positionierung des Biomoleküls möglichst nahe an der Sensoroberfläche und eine günstige Ausrichtung enorm wichtig für das generierte Signal (Abb. 2.7). Exemplarisch wird hier die Situation für senkrecht, direkt auf der Halbleiteroberfläche stehende DNA-Sondenmoleküle (Abb. 2.7b) dargestellt (Gl. 2.16):

$$Q_{\rm h} = \frac{-e\lambda_{\rm D}}{m_{\rm DNA}} \cdot \sigma \,\alpha \,(1-\theta). \tag{2.16}$$

Der Bruchterm am Anfang spiegelt den Anteil der Ladung der DNA-Sequenz wider, der sich innerhalb der Debyelänge λ_D befindet (*e* ist die Elementarladung und m_{DNA} die Steigung pro Nukleotid in der Doppelhelix, vgl. Kapitel 2.1.1). σ ist die Dichte der Sondenmoleküle auf der Halbleiteroberfläche, α der Anteil der hybridisierten Sonden und θ der Anteil der Ladung, der bereits durch in der Doppelhelix eingelagerte positive Ionen abgeschirmt ist.

Alternativ ergibt sich für flach auf der Oberfläche aufliegende DNA-Moleküle mit n_{bp} Basenpaaren (Abb. 2.7c) folgende Situation (Gl. 2.17):

$$Q_{\rm h} = -n_{\rm bp} e \cdot \sigma \,\alpha \,(1-\theta). \tag{2.17}$$

Mit der Definitionsgleichung der Kapazität kann nun aus Gleichung 2.14 und 2.16 ein Wert

für das Sensorsignal (die induzierte Änderung des Potentials am Gate $\Delta \phi$) bei senkrecht direkt auf der Oberfläche stehenden DNA-Molekülen bestimmt werden (Gl. 2.18):

$$\Delta \Phi = \frac{Q_{\rm i}}{C_{\rm i}} = \frac{-e\lambda_{\rm D}}{m_{\rm DNA}} \cdot \sigma \,\alpha \,\frac{(1-\theta)}{C_{\rm i} + C_{\rm dl}}.\tag{2.18}$$

Berechnete Werte des theoretischen Sensorsignals nach Gleichung 2.18 für unterschiedliche Sondenmoleküldichten σ und Hybridisierungseffizienzen α sind in Tabelle 2.2 aufgeführt.

ασ	$1,0\cdot 10^{11}{ m cm^{-2}}$	$1,0\cdot 10^{12}{ m cm}^{-2}$	$1,0\cdot 10^{13}cm^{-2}$
1%	-12,2 μV	$-122\mu\text{V}$	$-1,22\mathrm{mV}$
10%	$-122\mu\text{V}$	$-1,22\mathrm{mV}$	$-12,2\mathrm{mV}$
20%	−244 µV	$-2,44\mathrm{mV}$	$-24,4\mathrm{mV}$
50%	−609µV	-6,09 mV	$-60,9{ m mV}$
100%	$-1,22\mathrm{mV}$	$-12,2\mathrm{mV}$	-122 mV

Tab. 2.2.: Theoretische Sensorsignale (1/2): Berechnete Verschiebung des Oberflächenpotentials $\Delta \Phi$ durch senkrecht direkt auf der Oberfläche angeordnete DNA-Stränge (Abb. 2.7b) mit typischen Werten für die Doppelschichtkapazität ($C_{dl} = 20 \,\mu\text{F cm}^{-2}$) und den Ladungsausgleichskoeffizienten ($\theta = 0.76$ [82]), sowie den ermittelten Werten für die Barrierekapazität ($C_i = 0.345 \,\mu\text{F cm}^{-2}$) und die Debyelänge von 10 mM Phosphatpuffer bei pH 7 ($\lambda_D = 2.19 \,\text{nm}$).

Für den Fall direkt auf der Oberfläche anliegender DNA-Moleküle ergibt sich durch Verwendung von Gleichung 2.17 die folgende Situation (Gl. 2.19):

$$\Delta \Phi = -n_{\rm bp} e \cdot \sigma \, \alpha \, \frac{(1-\theta)}{C_{\rm i} + C_{\rm dl}}.\tag{2.19}$$

Für eine DNA-Sequenz mit $n_{bp} = 15$ Basenpaaren ergeben sich in diesem Fall aus Gleichung 2.19 – unter Verwendung der identischen Werte für den Ladungsausgleichskoeffizienten, die Barriere- und Doppelschichtkapazität wie in Tabelle 2.2 – die in Tabelle 2.3 angegebenen Sensorsignale.

ασ	$1,0\cdot 10^{11}{ m cm}^{-2}$	$1,0\cdot 10^{12}cm^{-2}$	$1,0\cdot 10^{13}{ m cm}^{-2}$
1%	-28,3 μV	−283 µV	
10%	—283 μV	−2,83 mV	geometrisch
20%	-567 μV	−5,67 mV	
50%	−1,42 mV	$-14,2\mathrm{mV}$	nicht möglich
100%	−2,83 mV	$-28,3\mathrm{mV}$	

Tab. 2.3.: Theoretische Sensorsignale (2/2): Berechnete Verschiebung des Oberflächenpotentials $\Delta \phi$ durch direkt auf der Oberfläche aufliegende DNA-Stränge (Abb. 2.7c) mit 15 Basenpaaren.

Die Ergebnisse zeigen, dass für geringe Sondendichten oder Hybridisierungseffizienzen Signale $< 10 \,\text{mV}$ erwartet werden, die schwierig gegenüber Drift und Querempfindlichkeiten des Sensors abzugrenzen sind.

Querempfindlichkeiten

Neben der gewünschten Beeinflussung durch die Konzentration geladener Biomoleküle gibt es noch weitere parasitäre Einflüsse und Ungenauigkeiten, die sich auf die Leitfähigkeit des Transistorkanals auswirken [82]:

- Zunächst ist die bereits bei der Berechnung des Sensorsignals genannte Position und Ausrichtung des Biomoleküls zu nennen. Wie in Abb. 2.5 dargestellt, kann bereits eine Änderung des Abstands der Ladungen von der Transistoroberfläche im Subnanometerbereich Schwankungen des Oberflächenpotentials hervorrufen, die einem Großteil des Sensorsignals entsprechen. Da die Anbindung der Sondenmoleküle oft flexibel über Linkermoleküle realisiert ist, sind sie in einem gewissen Rahmen frei beweglich und können somit auch dynamische Effekte hervorrufen.
- Ein weiterer parasitärer Einfluss ist die Umgebungstemperatur. Zusätzlich zum bereits genannten Einfluss auf die Debyelänge der Elektrolytlösung hat diese auch einen direkten Einfluss auf die Ladungsträgeranzahl und/oder -mobilität im Transistorkanal [99].
- Das Sensorsignal ist bei teilweise oxidierten Halbleiteroberflächen beispielsweise bei GaN-basierten Fluid-Gate-HEMTs – stark vom pH-Wert des Elektrolyts abhängig. Das auf der GaN-Cap-Oberfläche bei Kontakt mit Wasser gebildete Oberflächenoxid wird dabei in Abhängigkeit vom pH-Wert protoniert (pH < 7) bzw. deprotoniert (pH > 7) [100, 101]. Die mögliche Sensitivität für pH-Änderungen liegt in der Nähe des nernstschen Limits von 59,2 mV pH⁻¹ [102]. Dieser Wert wurde in der Praxis auch mit als pH-Sensor verwendeten HEMTs bestätigt [103].
- Auf der Sensoroberfläche können Zellen oder andere Substanzen aus der Matrix unspezifisch adhärieren. Durch ihre eigene Ladungsverteilung und die Verdrängung des Elektrolyts ergibt sich auch hier ein Einfluss auf das Oberflächenpotential des Halbleiters. [92]
- Bei AlGaN/GaN-HEMTs zeigt sich auch eine Abhängigkeit von der Bestrahlung der aktiven Fläche mit sichtbarem und ultraviolettem Licht. Es treten dabei sowohl reversible als auch persistente Photoströme, sowohl zwischen Source und Drain als auch als Gateleckströme zwischen Elektrolyt und Kanal, auf [104].

Bei der Biosensorik mit Feldeffekttransistoren gibt es also eine Reihe von Querempfindlichkeiten, die es zu beachten gilt, um belastbare Messungen zu erzielen. Einige dieser Einflüsse können allerdings durch intelligentes Design des Messaufbaus umgangen werden (vgl. Kap. 3 und 5).

2.2. AIGaN/GaN High-Electron-Mobility-Transistoren

2.2.1. AIGaN/GaN Heterostrukturen

Während in vielen Einsatzbereichen für Feldeffekttransistoren die sehr günstig zu produzierenden Silizium MOSFETs eingesetzt werden, gibt es für einige Anwendungen mit speziellen Anforderungen auch noch Lösungen mit Transistoren auf der Basis von III/V-Verbindungshalbleitern. Die hohe Ladungsträgermobilität und die guten thermischen Eigenschaften haben dazu geführt, dass sich rauscharme Verstärker, Hochfrequenz- und Leistungsanwendungen mit AIGaN/GaN HEMTs etabliert haben [105]. Neben diesen Anwendungen ist das Materialsystem in den letzten Jahren auch für die Feldeffekt-Biosensorik in den Fokus geraten, da Silizium einerseits negative Auswirkungen auf biologische Systeme haben kann [20] und andererseits in biologischen Lösungen nicht ausreichend korrosionsstabil ist [21, 22].

AlGaN/GaN High-Electron-Mobility-Transistoren sind Silizium-FETs in diesen Punkten überlegen und werden daher in dieser Arbeit als Grundlage für die Sensoren gewählt. Ein tieferes Verständnis der theoretischen Hintergründe des Transistor ist dabei für erfolgreiche Biosensorik essentiell. Diese werden deshalb im Folgenden dargestellt.

Wurtzitische Kristallstruktur

Grundlage des AlGaN/GaN HEMTs ist eine Heterostruktur aus einer GaN-Pufferschicht, einer AlGaN-Barriereschicht und meist einer GaN-Deckschicht, die auf einem Saphiroder SiC-Substrat epitaktisch in [0001]-Richtung gewachsen wird. Alle in dieser Arbeit gewachsenen Schichten liegen in einem wurtzitischem Kristallgitter vor. Die metastabile Zinkblendestruktur spielt keine Rolle.



Abb. 2.8.: Kristallgitter der Wurtzitstruktur: Entlang der [0001]-Richtung ist die Struktur nicht inversionssymmetrisch. [106]

Die Wurtzitstruktur ist ein hexagonales Kristallsystem, das durch die Gitterparameter *a* und *c* beschrieben werden kann (Abb. 2.8). Bei III/V-Halbleitern, wie im vorliegenden Fall, ist jedes Atom der III. Hauptgruppe (hier: Aluminium, Gallium) tetraederförmig an vier Atome der V. Hauptgruppe (hier: Stickstoff) gebunden und umgekehrt. Es ergibt sich in [0001]-Richtung eine Abfolge von reinen Metall- und Stickstoffebenen, innerhalb der Höhe einer Einheitszelle sind vier derartige Ebenen als ineinander verschachtelte dichteste Kugelpackungen erkennbar.
Die Schichtabfolge bei den vorliegenden Strukturen ist in [0001]-Richtung immer $A_{AI, Ga}A_NB_{AI, Ga}B_N$. Die in [0001]-Richtung sehr eng zusammenliegenden Doppelebenen $A_NB_{AI, Ga}$ bzw. $B_NA_{AI, Ga}$ sind also immer so ausgerichtet, dass die Metallebene in Richtung der Oberfläche und die Stickstoffebene in Richtung des Substrats weist, die Wachstumsrichtung wird entsprechend auch als Ga-face bezeichnet.

Die verschiedenen wurtzitischen III/N-Halbleitermaterialien (AIN, GaN, InN) weisen aufgrund der unterschiedlichen Atomradien und Elektronegativitäten unterschiedliche Gitterparameter auf (Tab. 2.4). Bei ternären Verbindungen wie $Al_xGa_{1-x}N$ können die Gitterparameter nach Gleichungen 2.20 und 2.21 als linear zwischen den jeweiligen binären Verbindungen verlaufend angenähert werden. Es gilt: [83, 107]

$$a_{\mathsf{AI}_x\mathsf{Ga}_{1-x}\mathsf{N}} = x \cdot a_{\mathsf{AIN}} + (1-x) \cdot a_{\mathsf{GaN}} \text{ und}$$
(2.20)

$$c_{\mathsf{AI}_x\mathsf{Ga}_{1-x}\mathsf{N}} = x \cdot c_{\mathsf{AIN}} + (1-x) \cdot c_{\mathsf{GaN}}.$$
(2.21)

Material	Kristallgitter	a ₀ [Å]	c ₀ [Å]	$P_{\rm sp} [\rm C \ cm^{-2}]$
GaN	hexagonal (wurtzitisch)	3,1896	5,1855	-0,034
AIN	hexagonal (wurtzitisch)	3,112	4,982	-0,090
$AI_{0,2}Ga_{0,8}N$	hexagonal (wurtzitisch)	3,174	5,145	-0,045

Tab. 2.4.: Gitterparameter und spontane Polarisation von GaN, AlN und AlGaN (Al_{0,2}Ga_{0,8}N linear approximiert) [98]

Polarisation von wurtzitischen Kristallen

Da die Anordnung der Atome im wurtzitischen Kristallgitter nicht inversionssymmetrisch in [0001]-Richtung ist, treten entlang der *c*-Achse Polarisationseffekte auf. Die Metallund Stickstoffatomebenen, die in dieser Richtung abwechselnd vorliegen, sind aufgrund der höheren Elektronegativität des Stickstoffs ($\chi = 3,0$ [108]) gegenüber den Metallatomen ($\chi_{Ga} = 1,8, \chi_{AI} = 1,6$ [108]) polar, die Stickstoffebenen sind negativ geladen, die Metallebenen positiv. Diese Effekte heben sich im Kristallinneren auf, an den Ober- und Grenzflächen des Kristalls jedoch nicht, so dass insgesamt eine spontane Polarisation P_{sp} des Materials festgestellt werden kann. Diese ist umso stärker, je höher der Aluminiumanteil in der Verbindung ist. Beim ternären $Al_xGa_{1-x}N$ kann näherungsweise ebenfalls analog zu Gleichung 2.20 eine lineare Abhängigkeit vom Aluminiumanteil x angenommen werden (Tab. 2.5).

Bei den für die Sensorik verwendeten Heterostrukturen wird eine dünne $AI_xGa_{1-x}N$ -Barriereschicht epitaktisch auf spannungsfreiem Galliumnitrid in [0001]-Richtung gewachsen. Die verwendete Schichtdicke muss dabei so gering sein, dass die Schicht nicht relaxiert, um eine möglichst hohe piezoelektrische Polarisation P_{pe} zu erhalten. Aufgrund des geringeren Gitterparamters *a* der ternären Verbindung resultiert dies in einer in der Wachstumsebene isotrop tensil vorgespannten ($\epsilon_x = \epsilon_y > 0$) $AI_xGa_{1-x}N$ -Schicht. Diese

Material	Kristallgitter	C ₃₁ [GPa]	C ₃₃ [GPa]	e_{31} [C cm ⁻²]	e_{33} [C cm ⁻²]
GaN	hexagonal (wurtzitisch)	80	390	-0,55	1,12
AIN	hexagonal (wurtzitisch)	100	387	-0,58	1,55
$AI_{0,2}Ga_{0,8}N$	hexagonal (wurtzitisch)	84	389	-0,56	1,21

Tab. 2.5.: Elastizitäts- und piezoelektrische Koeffizienten von GaN, AIN und AlGaN (Al_{0,2}Ga_{0,8}N linear approximiert) [98]

Spannung führt zusätzlich noch zu einer Stauchung in Richtung der *c*-Achse gemäß Gleichung 2.22, wobei *a* bzw. *c* die in der verspannten Schicht tatsächlich vorliegenden, a_0 und c_0 die Referenzparameter für spannungsfreie Schicht und C_{31} sowie C_{33} Elastizitätskonstanten (Tab. 2.5) sind:

$$\frac{c - c_0}{c_0} = -2 \frac{C_{31}}{C_{33}} \frac{a - a_0}{a_0}$$

$$\epsilon_z = -2 \frac{C_{31}}{C_{33}} \epsilon_x.$$
(2.22)

Diese Stauchung führt resultiert in einer Verschiebung der polaren Ebenen im Kristallgitter und somit in einem zusätzlichen piezoelektischen Polarisationsterm P_{pe} , der gemäß Gleichung 2.23 bestimmt werden kann:

$$P_{pe} = e_{33}\epsilon_{z} + e_{31}(\epsilon_{x} + \epsilon_{y})$$

= $e_{33}(-2\frac{C_{31}}{C_{33}}\epsilon_{x}) + e_{31}(\epsilon_{x} + \epsilon_{x})$
= $2\epsilon_{x}(e_{31} - \frac{C_{31}}{C_{33}}e_{33}).$ (2.23)

Die beiden Effekte summieren sich (Gl. 2.24):

$$P = P_{\rm sp} + P_{\rm pe}.\tag{2.24}$$

Bei tensil vorgespannten $AI_xGa_{1-x}N$ -Schichten ist P_{pe} immer negativ. Die piezoelektrische Polarisation P_{pe} weist somit in die gleiche Richtung wie die spontane Polarisation P_{sp} (Tab. 2.4) und verstärkt diese. [83, 107]

Zweidimensionales Elektronengas

Bei GaN/AIGaN/GaN-Heterostrukturen treten an den Übergängen Sprünge in der Polarisation auf. Diese entsprechen nach Gleichung 2.25 einer bestimmten Flächenladungsdichte am Übergang.

$$\sigma = P_{\text{obere Schicht}} - P_{\text{untere Schicht}}.$$
 (2.25)

Diese Polarisationsladungen werden durch bewegliche Ladungsträger ausgeglichen. Es ergeben sich dreieckförmige Quantentröge an den Grenzflächen, die jeweils durch einen senkrecht verlaufenden Leitungsbandversatz und den aufgrund des elektrischen Felds im Halbleitermaterial linearen An- oder Abstieg des Valenz- oder Leitungsbandes begrenzt werden. Von Bedeutung ist insbesondere der Übergang von der GaN-Pufferschicht zur AlGaN-Barriere. Dort ist die polarisationsinduzierte Ladung σ positiv und wird entsprechend durch freie Elektronen ausgeglichen. Es bildet somit sich an dieser Grenzfläche eine Ebene von hochmobilen Elektronen, das zweidimensionale Elektronengas (2DEG). Dieses zeichnet sich durch eine hohe Ladungsträgerdichte und Mobilität aus, Hallmessungen im Rahmen dieser Arbeit ergaben Werte von bis zu $n_{\rm S} = 8 \cdot 10^{12} \, {\rm cm}^{-2}$ für die Ladungsträgerdichte und Mobilitätswerte bis zu $\mu_{\rm n} = 1500 \, {\rm cm}^2 {\rm V}^{-1} {\rm s}^{-1}$ bei Raumtemperatur.





Der entgegengesetzte Fall der Bildung eines zweidimensionalen Löchergases (2DHG) an der Grenzfläche zwischen GaN-Deckschicht und AlGaN-Barriere ist ebenfalls möglich, tritt aber aufgrund der Lage des Ferminiveaus bei den in dieser Arbeit behandelten Strukturen nicht auf (Abb. 2.9). [83, 107]

Oberflächen- und Biaspotential

Entscheidend für die Verwendung von Heterostrukturen als Transistor ist, dass das zweidimensionale Elektronengas, das im Transistor als Kanal dient, in seiner Leitfähigkeit verändert werden kann. Dies ist durch das Oberflächenpotential möglich. Eine Änderung des Oberflächenpotentials führt zu einer Verschiebung des Leitungsbandniveaus in Oberflächennähe – aufgrund der geringen Schichtdicken also auch im Bereich des



Abb. 2.10.: Bandstrukturschema unter Einfluss des Oberflächenpotentials: Eine Anhebung des Oberflächenpotentials führt auch zu einer Anhebung des Leitungsbandes im Bereich des 2DEGs und somit zu einer Verringerung der Ladungsträgerdichte.

Quantentroges, der für die Ausbildung des 2DEGs verantwortlich ist. Es ergibt sich nach Yu *et al.* (Gl. 2.26) folgender Zusammenhang [109]:

$$n_{\rm s} = \frac{1}{e} \cdot \frac{\sigma_{\rm pe} - \frac{\epsilon_0 \epsilon_{\rm r, AIGaN}}{d_{\rm AIGaN}} (\Phi_{\rm GaN} + \frac{E_{\rm F}}{e} - U_{\rm G}) + \frac{eN_{\rm d, AIGaN} d_{\rm AIGaN}}{2} + \frac{\epsilon_{\rm r, AIGaN}}{\epsilon_{\rm r, GaN}} eN_{\rm d, AIGaN} d_{\rm GaN}}{1 + \frac{\epsilon_{\rm r, AIGaN}}{\epsilon_{\rm r, GaN}} \cdot \frac{d_{\rm GaN}}{d_{\rm AIGaN}}}.$$
 (2.26)

Auffällig ist, dass die Werte in der Gleichung zum Großteil für eine definierte Heterostruktur konstant sind: Dies sind die Elektronenladung *e* und Permittivität des Vakuums ϵ_0 (Naturkonstanten), die relativen Permittivitäten $\epsilon_{r,x}$ (Materialkonstanten), sowie die Polarisationsladungsdichte σ_{pe} , die Schichtdicken d_x , die Dotierung $N_{d, AlGaN}$, die Lage des Ferminiveaus E_F und die Höhe der Schottkybarriere Φ_{GaN} (festgelegt durch die Prozessierung). Lediglich die angelegte Biasspannung U_G bzw. das Oberflächenpotential $\Phi_{OF} = \Phi_{GaN} + \frac{E_F}{e} - U_G$ beeinflusst die Anzahl der Ladungsträger im 2DEG. Im Fall eines fluidischen Gates wird in diesem Ausdruck die Gatespannung durch die

Im Fall eines fluidischen Gates wird in diesem Ausdruck die Gatespannung durch die Summe der vom Oberflächenzustand induzierten Potentialänderung $\Delta \Phi$, der angelegten Referenzspannung U_{ref} und der Kontakt- und Elektrodenspannungen im fluidischen System U_{sys} ersetzt (Gl. 2.27):

$$\Phi_{\rm OF} = \Phi_{\rm GaN} + \frac{E_{\rm F}}{e} - (\Delta \Phi + U_{\rm ref} + U_{\rm sys}). \tag{2.27}$$

Beim einem Transistor kann der Ausdruck vereinfacht werden, wenn er in einem unveränderten Aufbau bei gleichbleibender Arbeitstemperatur betrieben wird, da Φ_{GaN} , $\frac{E_{\text{F}}}{e}$ und U_{sys} in diesem Fall konstant sind. Es resultiert Gleichung 2.28:

$$\Phi_{\rm OF} = \Phi_0 - (\Delta \Phi + U_{\rm ref}). \tag{2.28}$$

Eine Anhebung des Oberflächenpotentials, z. B. durch Anlegen einer negativen Biasoder Referenzspannung, führt dabei zu einer geringeren Anzahl besetzter Leitungsbandniveaus und somit zu einer geringeren Anzahl freier Elektronen im 2DEG (Abb. 2.10). Da die Ladungsträgermobilität μ_n durch die Änderung der Ladungsträgerdichte n_s nur vernachlässigbar beeinflusst wird, ändert sich auch die Leitfähigkeit des 2DEG gemäß Gleichung 2.29:

$$\sigma = e n_{\rm S} \mu_{\rm n}. \tag{2.29}$$

Analog dazu führt eine Absenkung des Oberflächenpotentials zu einer Erhöhung der Leitfähigkeit.

2.2.2. High-Electron-Mobility-Transistoren



Metall-Gate High-Electron-Mobility-Transistoren

Abb. 2.11.: Schematischer Aufbau eines HEMTs: Zwei ohmsche Kontakte (Source und Drain) sind über das 2DEG verbunden. Die Leitfähigkeit des 2DEGs wird über den Schottkykontakt am Gate reguliert.

Die Abhängigkeit der Leitfähigkeit des 2DEGs vom Oberflächenpotential, wie sie im vorhergehenden Abschnitt dargestellt ist, kann dazu genutzt werden, um Transistoren auf Basis von AlGaN/GaN-Heterostrukturen zu bauen. Um dies zu erreichen, sind noch drei essentielle Schritte nötig:

- Das 2DEG ist nach der Epitaxie über die gesamte Heterostruktur ausgebreitet. Um Kurzschlüsse und parasitäre Effekte auszuschließen, muss es auf die Geometrie des Transistors begrenzt werden. Dies geschieht entweder durch einen Mesa-Ätzprozess, der Deck- und Barriereschicht im Umfeld des Transistors entfernt oder durch einen Ionenimplantationsschritt, der die Bandstruktur in der Umgebung so ändert, dass sich dort kein 2DEG bilden kann.
- Durch Aufdampfen einer geeigneten Metallisierungsschichtfolge muss das 2DEG an Source und Drain mit einem ohmschen Kontakt versehen werden.
- Das Oberflächenpotential muss im Kanalbereich angelegt werden können, ohne eine leitfähige Verbindung zum 2DEG zu schaffen. Hierzu wird durch eine geeignete Metallisierungsschichtfolge ein Schottkykontakt als Gate aufgedampft.

Das so erzeugte Bauteil (Abb. 2.11) ist ein High-Electron-Mobility-Transistor. Mit metallischem Gate wie dargestellt werden diese insbesondere für Hochleistungs- und Hochfrequenzanwendungen eingesetzt, da sie dort aufgrund der elektrischen und thermischen Eigenschaften Silizium-FETs überlegen sind. Aber auch die Biosensoren in dieser Arbeit sind letztlich derartige Transistoren, bei denen lediglich die Oberflächenpotentialänderung durch Biomoleküle am fluidischen Gate erzeugt wird.

Fluid-Gate High-Electron-Mobility-Transistoren

Um Biosensoren mit HEMTs zu realisieren, muss das Design des Transistors abgeändert werden (Abb. 2.12). Der wichtigste Punkt dabei ist, den metallischen Gatekontakt durch ein fluidisches Gate (Elektrolytlösung) zu ersetzen. Dies ermöglicht die Anbindung von biologischen Sondenmolekülen im Gatebereich, ohne deren Funktion zu beeinträchtigen. Um das Potential dieser Lösung zu definieren und variieren zu können, wird es häufig mit einer Elektrode kontaktiert. Im Rahmen dieser Arbeit wird hierzu eine Ag/AgCl-Referenzelektrode verwendet, da diese ein von der Ionenstärke des Fluids unabhängiges Elektrodenpotential aufweist.



Abb. 2.12.: Schematischer Aufbau eines Fluid-Gate-HEMTs: Das Oberflächenpotential im Kanalbereich wird über eine Elektrolytlösung eingestellt und kann durch eine Referenzelektrode beeinflusst werden.

Ein weiterer Punkt, der nötig ist um die Funktion des HEMTs in fluidischer Umgebung zu gewährleisten ist eine Passivierung des Source- und Drainkontakts und ihrer Zuleitungen im Bereich der Elektrolytlösung. Dies vermeidet einerseits parasitäre Ströme zwischen Source und Drain durch die Elektrolytlösung und schützt andererseits die Kontakte vor Korrosion durch aggressive Fluide.

2.3. Funktionalisierung von GaN-Oberflächen mit 1-Alkenen

Mit dem Fluid-Gate-HEMT, wie er im vorherigen Abschnitt beschrieben wurde, steht ein Transducer zur Verfügung, der Änderungen im Oberflächenpotential – in fluidischer Umgebung – in eine Änderung der Leitfähigkeit des Bauelements umsetzen kann. Um diesen Effekt für Affinitäts-Biosensorik zu verwenden, ist noch eine Methode zur Anbindung von biologischen Sondenmolekülen auf der Halbleiteroberfläche nötig.

In dieser Arbeit werden für diesen Zweck 1-Alkene kovalent an die Oberfläche angebunden. Dieser Mechanismus, der ursprünglich auf Diamant angewendet wurde [110], wurde von Kim *et al.* [41] auf Galliumnitridoberflächen übertragen und ist dort neben der Funktionalisierung mit Organosilanen [29, 38] und Organophosphorsäuren [45] eine der etablierten Methoden, um kovalente Funktionalisierungen zu realisieren.

Obwohl die Funktionalisierung von Halbleiteroberflächen mit Alkenen ein vielversprechender Ansatz ist, um labelfreie Biosensoren auf Halbleiterbasis zu entwickeln, ist der zugrunde liegende Reaktionsmechanismus nur unzureichend beschrieben. In der Literatur werden zwei unterschiedliche Mechanismen genannt, die in unterschiedlichen Bindungskonfigurationen resultieren.

2.3.1. Direkte Gallium-Kohlenstoff-Bindung



Abb. 2.13.: Reaktionsschema nach Kim *et al.* [41]: Das Alken wird über eine Ga–C-Bindung direkt auf die wasserstoffterminierte Oberfläche angebunden.

Einen ersten möglichen Reaktionsmechanismus für die Anbindung von Alkenen auf Galliumnitridoberflächen skizzieren Kim *et al.* in der ersten Veröffentlichung des Funktionalisierungsprinzips: Sie propagieren eine direkte Anbindung des Alkens an eine wasserstoffterminierte Galliumnitridoberfläche (Abb. 2.13), ohne einen detaillierten Mechanismus zu nennen [41].

Darauf aufbauend zeigen Hu *et al.* mit Hilfe von dichtefunktionaltheoretischen Simulationen auf wasserstoffterminierten GaN einen möglichen Pfad auf (Abb. 2.14), bei dem durch UV-Strahlung ein Wasserstoffatom von der Oberfläche abgespalten wird und das ungesättigte Galliumatom anschließend direkt mit dem Alken reagiert (ebenfalls Ga-C) [111]. Dieser Reaktionsmechanismus, der vergleichbar auch für die Funktionalisierung von wasserstoffterminierten Siliziumoberflächen publiziert wurde [112], ist jedoch für Galliumnitrid nicht durch publizierte experimentelle Daten gestützt. Insbesondere die diesem Mechanismus zugrunde liegende Wasserstoffterminierung der {0001}-Oberfläche ist schwierig zu erreichen, da die Oberfläche in Kontakt mit Luftsauerstoff oder Wasser sofort teilweise oxidiert wird [113].



Abb. 2.14.: Reaktionsmechanismus nach Hu *et al.* [111]: Das Alken wird in einer Kettenreaktion über eine Ga–C-Bindung direkt auf die wasserstoffterminierte Oberfläche angebunden.

In beiden Publikationen resultiert eine direkte chemische Bindung zwischen einem Galliumatom der Halbleiteroberfläche und dem α -Kohlenstoffatom aus dem Alken. Dies bedeutet, dass nach diesem Modell eine eine Ga-C-Bindung mit einer Bindungsfestigkeit von 243 kJ mol⁻¹ [114] zwischen dem Halbleiter und dem Funktionalisierungmolekül vorliegt.

2.3.2. Halbleiter-Sauerstoff-Kohlenstoff-Bindung

Ein detaillierterer Reaktionsmechanismus ist für die Funktionalisierung von Diamant publiziert [115–117]. Hierbei führt die UV-Belichtung zur Emission eines Elektrons aus dem Diamant in das flüssige Alken, das dadurch zum Carbanion wird. Der weitere Reaktionsmechanismus ist nicht endgültig geklärt: Neben einer direkten Reaktion des Carbanions mit der nun positiv geladenen Oberfläche (Abb. 2.15) sind auch Reaktionswege mit weiteren Alkenmolekülen denkbar.

Die Elektronenemission ist aufgrund der Elektronenaffinität von 4,1 eV [118] auch von der Galliumnitridoberfläche möglich, auch die weiteren Schritte sind auf die Situation auf Galliumnitridoberflächen übertragbar. Folgender Funktionalisierungsmechanismus kann daher für die Funktionalisierung von Galliumnitridoberflächen mit 1-Alkenen angenommen werden:

- 1. Emission eines Elektrons in das flüssige Alken durch thermische oder photochemische Anregung des Galliumnitrids.
- 2. Aufnahme des Elektrons durch ein Alkenmolekül, dadurch Umwandlung in ein Carbanion.
- 3. Reaktion des Carbanions mit der oxidierten Halbleiteroberfläche unter Ausbildung einer Ga-O-C-Kette.



Abb. 2.15.: Mechanismus der Funktionalisierungsreaktion nach Nichols, Hamers *et al.* [115–117]: Durch Erhitzen oder UV-Strahlung werden Elektronen aus dem Galliumnitrid emittiert und von Alkenen aufgenommen. Die so erzeugten anionischen Radikale reagieren dann in einem nicht exakt geklärten Mechanismus mit der Oberfläche.

Der entscheidende Unterschied zu dem von Kim, Hu *et al.* vertretenen Modell ist, dass das Funktionalisierungsmolekül in diesem Fall über eine Ga-O-C-Kette an den Halbleiter angebunden ist. Die Bindungsfestigkeit der Anbindung ist in diesem Fall mit der schwächeren der beiden Bindungen anzugeben. Diese ist mit einer Bindungsfestigkeit von 335 kJ mol⁻¹ die O-C-Bindung [108]. Die Stabilität der kovalenten Bindung ist in diesem Fall somit deutlich höher als bei einer direkten Ga-C-Bindung.

Ein Vergleich der theoretischen Modelle mit den experimentellen Ergebnissen folgt in Kapitel 4. Die im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Daten unterstützen eindeutig das Modell der Halbleiter-Sauerstoff-Kohlenstoff-Bindung nach Nichols, Hamers *et al.* wie hier in diesem Abschnitt dargestellt.

2.4. Zusammenfassung der theoretischen Grundlagen

Die Ladung, die viele Biomoleküle aufweisen, kann – sofern diese nahe genug an der Oberfläche eines Transistors immobilisiert werden – einen Einfluss auf Feldeffekttransistoren ausüben. Besonders für die Detektion dieses Effekts geeignet sind AlGaN/GaN High-Electron-Mobility-Transistoren mit fluidischem Gate, da sie in biologischen Medien stabiler als Siliziumtransistoren sind. Zudem ist mit der Funktionalisierung mit 1-Alkenen ein Prozess verfügbar, der eine in der Dichte variable Schnittstelle für weitere chemische Reaktionen auf der Oberfläche zur Verfügung stellt. So können spezifische Sondenmoleküle in der gewünschten Flächendichte beweglich und nahe der Sensoroberfläche angebunden werden.

Um auf der Basis dieser theoretischen Grundlagen auch in der Praxis Biosensorik betreiben zu können, muss zunächst ein derartiger Transistor prozessiert und in einen Messaufbau integriert werden. Dies ist im folgenden Kapitel dargestellt.

3. Entwicklung des Versuchsaufbaus

Um die Eigenschaften von GaN/AlGaN/GaN-HEMT-basierten Affinitätsbiosensoren zu untersuchen, muss ein derartiges Sensorsystem hergestellt werden. Die Verwendung von Halbleiterbauelementen als Biosensoren stellt dabei im Vergleich zu rein elektronischen Chips deutlich abweichende Anforderungen an das Bauelementdesign und die Aufbauund Verbindungstechnik. Während typische Probleme wie das Wärmemanagement in den Hintergrund treten, kommen durch den Kontakt mit Fluiden neue Herausforderungen hinzu. In diesem Kapitel werden die Anforderungen an ein derartiges System dargestellt (Kap. 3.1) und der im Rahmen dieser Arbeit realisierte Ansatz auf Chip- (Kap. 3.2), Modul- (Kap. 3.3) und Systemebene (Kap. 3.4) beschrieben.

3.1. Anforderungen

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein verbesserter Sensoraufbau entwickelt und aufgebaut, um die GaN/AlGaN/GaN-basierte Biosensorik zu erforschen. Die wichtigsten Herausforderungen und Ziele dabei lassen sich in fünf Kategorien zusammenfassen: Elektrische und fluidische Kontaktierung, Isolation, Messvorgang und Wirtschaftlichkeit.

Elektrische Kontaktierung

- Eine sichere elektrische Kontaktierung des Sensorchips muss gewährleistet sein, um verlässliche Sensorsignale detektieren zu können.
- Die elektrische Kontaktierung muss flexibel verschaltbar sein, um unterschiedliche bzw. mehrere Sensoren gleichzeitig (Wheatstone-Brücke) auf einem Chip ansprechen zu können.
- Die Kontaktierung des Sensorchips sollte so ausgeführt werden, dass ein schneller Austausch des Chips möglich ist.

Fluidische Kontaktierung

- Ein fluidischer Anschluss zur aktiven Fläche des Sensors muss verfügbar sein. Vorteilhaft gegenüber einem einfachen Kanal ist dabei ein Anschluss mit Zu- und Abfluss, der das Anlegen eines Flusses, z. B. für Spülzwecke, ermöglicht.
- Die Zugabe des Analyts muss möglichst nahe an der aktiven Fläche des Sensors geschehen, um die Detektion mit geringen Analytvolumina zu ermöglichen.
- Eine gründliche Reinigung des fluidischen Systems muss möglich sein, um Querkontaminationen zwischen den Messungen zu vermeiden.

Isolation

- Die Oberfläche des Sensors muss dort, wo ein Kontakt mit Fluid möglich ist ausgenommen die aktive Fläche – mit einer in biologischen Medien chemisch inerten Schicht passiviert werden.
- Kanten in der Passivierungsschicht sind die Hauptangriffspunkte für Korrosionsprozesse [119]. Eine möglichst flache Passivierungsschicht ist daher wichtig.
- Elektrische Kontakte und das fluidische System müssen strikt voneinander getrennt sein, um Kurzschlüsse und Korrosion zu vermeiden.
- Der Sensor muss möglichst lichtdicht verpackt werden, um die Generation von Photoströmen zu vermeiden.

Messvorgang

- Messungen von Transferkennlinien, Ausgangskennlinien, sowie zeitaufgelöste Messungen von Drainstrom, Drain-Source-Spannung, Oberflächenpotentialänderung und Wheatstone-Brückenspannungen sind nötig.
- Messparameter wie verwendete Spannungen, Abtastraten etc. müssen flexibel einstellbar sein.

Wirtschaftlichkeit

• Die Kosten für die Herstellung eines Chips skalieren mit seiner Fläche. Daher ist eine Minimierung der Chipfläche anzustreben.

Um alle diese Anforderungen erfüllen zu können, wurde ein verbessertes Sensordesign entwickelt und die Prozessierung der Sensoren entsprechend angepasst (Kap. 3.2). Aufbauend auf diesem Design wurden eine Messzelle (Kap. 3.3) und ein computergestützter Messplatz entworfen und aufgebaut (Kap. 3.4).

3.2. Sensorchip

3.2.1. Heterostrukturen

Als Grundlage des Sensorchips werden GaN/AlGaN/GaN-Heterostrukturen verwendet, die durch epitaktische Verfahren hergestellt werden. Da es keine ausreichend großflächigen GaN-Substrate für ein homoepitaktisches Wachstum gibt, muss auf Fremdsubstrate mit möglichst geringer Gitterfehlanpassung zurückgegriffen werden. Für Galliumnitrid sind dabei sowohl Saphir- (Al₂O₃, Gitterfehlanpassung f = 16,1%) als auch Siliziumcarbidsubstrate (SiC, f = -3,6% [120]) kommerziell erhältlich. Saphirsubstrate sind im Vergleich günstiger, für die Herstellung der Sensoren im Rahmen dieser Arbeit werden jedoch aufgrund der geringeren Gitterfehlanpassung und der besseren Eignung für den Viaprozess auf 100 µm gedünnte 3" Siliziumcarbidsubstrate (Hersteller: Cree Inc., Durham) verwendet.

Aixtron MOCVD-Anlage (metallorganische chemische Gasphasenabscheidung, engl. metal organic chemical vapor deposition) im Reinraum des Fraunhofer IAF von Mitarbeitern der Epitaxieabteilung eine GaN/AlGaN/GaN-Heterostruktur gewachsen. Bei der MOCVD erfolgt das Schichtwachstum durch die Reaktion von verschiedenen gasförmigen, darunter auch metallorganischen Ausgangsstoffen auf dem Substrat. Beim epitaktischen Wachstum von Galliumnitrid reagiert das Metallorganikum Trimethylgallium (TMGa) mit Ammoniak, dabei entsteht gasförmiges Methan als Nebenprodukt (Gl. 3.1):

$$(CH_3)_3Ga + NH_3 \longrightarrow GaN + 3CH_4.$$
(3.1)

Analog dazu kann Aluminiumnitrid aus Trimethylaluminium und Ammoniak (Gl. 3.2) gewachsen werden, sowie Aluminiumgalliumnitrid unter Verwendung von Ammoniak und beiden metallorganischen Präkursoren im gewünschten Elementverhältnis (Aluminiumanteil 0 < x < 1, Gl. 3.3):

$$(CH_3)_3AI + NH_3 \longrightarrow AIN + 3 CH_4 \text{ und}$$
 (3.2)

$$x (CH_3)_3 AI + (1 - x) (CH_3)_3 Ga + NH_3 \longrightarrow AI_x Ga_{1-x} N + 3 CH_4.$$
(3.3)

Bei den im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Sensoren wurde die in Tabelle 3.1 dargestellte Schichtstruktur gewachsen.

Material	Schichtdicke [nm]	Beschreibung	Dotierung [cm ⁻³]
GaN	3	GaN-Deckschicht	—
$AI_{0,2}Ga_{0,8}N$	25	AIGaN-Barriere	_
GaN	900	GaN-Pufferschicht 1	_
GaN	900	GaN-Pufferschicht 2	Fe: 10 ¹⁸ cm ⁻³
AIN	120	Nukleationsschicht (Gitteranpassung)	—
SiC	100 µm	3" SiC-Substrat (Cree)	_

Tab. 3.1.: Heterostruktur für die Herstellung der Biosensoren: Auf einem SiC-Substrat werden nacheinander heteroepitaktisch eine AIN-Nukleationsschicht, die GaN-Pufferschichten, die AIGaN-Barriereund die GaN-Deckschicht abgeschieden.

Die Heterostruktur wird so gewachsen, dass an der Grenzfläche zwischen der AlGaN-Barriere- und der GaN-Pufferschicht ein zweidimensionales Elektronengas (Kap. 2.2.1) ausgebildet wird.

3.2.2. Prozessierung

Open-Gate HEMT

Aufbauend auf der Heterostruktur und deren zweidimensionalen Elektronengas wird ein High-Electron-Mobility Transistor mit offenem Gate prozessiert. Mit Hilfe der etablierten Abscheide-, Implantations-, Strukturierungs- und Ätzprozessen der GaN-HEMT-Technologie wird das zweidimensionale Elektronengas strukturiert, kontaktiert und die Oberfläche passiviert. Die Prozessierung der in der Arbeit verwendeten Strukturen erfolgte im Reinraum des Fraunhofer IAF und wurde von den Mitarbeitern der Abteilung III/V-Technologie durchgeführt.

- Zunächst wird auf der Heterostruktur (Abb. 3.1a) eine Folge von dünnen Metallschichten aufgedampft und strukturiert (Abb. 3.1b: Ohm-Metall). Die Schichtfolge ist dabei so gewählt, dass ein ohmscher Kontakt durch die dünne Deck- und Barriereschicht zum zweidimensionalen Elektronengas hergestellt wird.
- Als nächstes wird durch Implantation von Argonionen die Kristallstruktur des Halbleiters außerhalb der aktiven Fläche und der ohmschen Kontaktierung so geändert, dass dort kein zweidimensionales Elektronengas mehr ausgebildet wird (Abb. 3.1c). Die einzelnen Transistoren werden somit elektrisch voneinander isoliert. Der Prozessschritt hinterlässt dabei keine optisch sichtbaren Spuren. Um die Justage der einzelnen Prozessschritte zu gewährleisten, kann die Isolation somit erst nach der Abscheidung einer sichtbaren Justagestruktur im Ohm-Metall erfolgen. Die Isolation durch Implantation wird dabei einem ebenfalls möglichen Mesaätzprozess, der die Heterostruktur in den zu isolierenden Bereichen physikalisch entfernt, vorgezogen, da so chemisch instabile Kanten in der Passivierungsschicht vermieden werden können.
- Anschließend wird eine weitere Kontaktmetallschichtfolge zur Herstellung der Kontakte zu den Vias aufgedampft und strukturiert (Abb. 3.1d: Kontaktpad-Metall). Bei der später erfolgenden Ätzung der Vias dient diese Schicht darüber hinaus als Ätzstoppschicht. Damit die Schicht diese Funktion erfüllen kann, muss sie dicker als die erste Metallschicht prozessiert werden und führt somit später zur Ausbildung von Kanten in der Passivierungsschicht. Um Korrosionsprobleme an diesen Kanten zu umgehen, wird die Metallschicht nur auf solchen Bereichen des Chips verwendet, die später von der fluidischen Isolierung abgedeckt werden und somit nicht in Kontakt mit dem Fluid kommen.
- Danach folgt die Abscheidung der Passivierung auf der Oberfläche (Abb. 3.1e: Passivierung). Bei den für die Messungen im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Sensoren besteht diese aus einer 100 nm SiN_x-Schicht aus einer Sentech ICP-CVD (chemische Gasphasenabscheidung mit induktiv gekoppeltem Plasma, engl. inductively coupled plasma chemical vapor deposition) und einer darauf gesputterten 300 nm SiN-Schicht aus einer Leybold Sputteranlage. Weitergehende Untersuchungen haben ergeben, dass eine noch stabilere Passivierung durch eine Schichtfolge von MOCVD-gewachsenem SiN_x, nanokristallinem Diamant und einer SiN_x-Schicht aus einer ICP-CVD erreicht werden kann [119].



Abb. 3.1.: Prozessschema rückseitenkontaktierter Sensor (1/2): Aufsichten und Schnitte. a) SiC-Substrat mit epitaktischer GaN/AlGaN/GaN-Heterostruktur; b) Aufdampfen Ohm-Metall; c) Strukturieren des 2DEG durch Ionenimplantation; d) Aufdampfen von Kontakten; e) Abscheidung der Passivierung; Legende siehe Abb. 3.3. Aufsichten sind maßstabsgetreu, Schnitte schematisch.

- Als abschließender Oberflächenprozess erfolgt die Öffnung der Passivierung an der späteren aktiven Fläche des Sensors (Abb. 3.3f) durch RIE (reaktives Ionenätzen, engl. reactive ion etching).
- Um elektrische Kontakte durch den Chip zu ermöglichen, werden von der Rückseite durch DRIE (reaktives Ionentiefenätzen, engl. deep reactive ion etching) Löcher durch das Substrat und die GaN/AIGaN/GaN-Heterostruktur geätzt (Abb. 3.3g). Die Kontaktpad-Metallisierung auf der Oberfläche der Heterostruktur dient dabei als Ätzstoppschicht.
- Ausgehend von der Kontaktmetalllage werden diese Löcher nun durch einen galvanischen Prozess mit Gold gefüllt (Abb. 3.3h: Via-Metall).
- Als letzter III/V-technologischer Prozessschritt wird die Metallisierung für die Kontakte auf die Rückseite des Chips aufgesputtert und strukturiert (Abb. 3.3i: Rückseiten-Metall). Die Geometrie der Kontaktpads wird dabei so gewählt, dass eine sichere, reversible Kontaktierung mit Federkontaktstiften erfolgen kann. Der Bereich der Chipfläche, der später mit dem Fluid in Kontakt kommt, wird dabei auf der Rückseite frei gehalten. Aufgrund der Transparenz des Chips in diesem Bereich können somit auch durchlichtmikroskopische Untersuchungen im Bereich der aktiven Fläche durchgeführt werden.

Die entscheidende Neuerung im Vergleich zu den vor Beginn dieser Arbeit bereits vorliegenden Sensorchips (Abb. 3.2 & 3.4) ist der Einsatz des Viaprozesses zur Kontaktierung der Chiprückseite. Diese Entscheidung hat eine Reihe von positiven Auswirkungen auf das Transistordesign:



Abb. 3.2.: Vergleich Chipdesign (1/2): a) neuentwickelter Biosensorchip; b) ursprüngliches Design. CAD-Rendergrafik, Die Chips sind in z-Richtung überhöht dargestellt.



Abb. 3.3.: Prozessschema rückseitenkontaktierter Sensor (2/2): Aufsichten und Schnitte. f) Öffnung der aktiven Fläche mit RIE; g) Ätzen der Löcher für die Viakontakte durch DRIE; h) galvanische Abscheidung der Vias; i) Aufdampfen der Rückseitenkontaktmetallisierung. Aufsichten sind maßstabsgetreu, Schnitte schematisch.

- Durch die Anbringung der elektrischen Kontakte auf der Chiprückseite wird eine strikte Trennung von elektrischen und fluidischen Kontakten erreicht. Die Chipoberfläche kann somit rund um die aktive Fläche großflächig fluidisch abgedichtet werden, ohne dass die Erreichbarkeit der elektrischen Kontakte eingeschränkt wird. Dadurch wird die Gefahr der Erzeugung von Kurzschlüssen oder Kriechströmen zwischen den Kontakten durch das Fluid minimiert.
- Durch die Verlegung der relativ dicken Metallisierung für die Kontakte auf die Rückseite kann die Anzahl der Öffnungen und Kanten in der Passivierungsschicht reduziert werden. Dadurch können bekannte Angriffspunkte für Korrosion [119] eliminiert werden.
- Letztlich kann auch die Chipfläche durch die Verlegung der elektrischen Kontaktpads deutlich verkleinert werden. Im Vergleich zum Vorgängerdesign kann die Fläche eines Sensorchips von 36 mm² auf 16 mm² gesenkt werden. Dies entspricht einer Verringerung um 55,6%.



Abb. 3.4.: Vergleich Chipdesign (2/2): a) ursprüngliches Design; b) neuentwickelter Biosensorchip. Fotografie der prozessierten Chips.

Chipstrukturen im Maskensatz

Bei der Prozessierung der Sensorchips wird für die Lithographie ein Stepper verwendet, der eine Belichtungsfläche von $12 \times 12 \text{ mm}^2$ pro Reticle erlaubt. Da die Chipfläche auf $4 \times 4 \text{ mm}^2$ reduziert wurde, können mit einem Maskensatz neun Strukturen parallel realisiert werden.

Auf fünf Strukturen werden jeweils zwei Sensoren mit unterschiedlichen Geometrien der aktiven Fläche realisiert:



Abb. 3.5.: Maskensatz Sensorprozess: 9 verschiedene Chips pro Reticle ermöglichen die Herstellung von 2 Hall-Teststrukturen (a, d), 5 Sensorchips (b, c, e, f, h) sowie 2 Wheatstone-Sensorchips (g, i). Legende siehe Abb. 3.3 (S. 41).

- $400 \times 50 \,\mu\text{m}^2$ und $400 \times 100 \,\mu\text{m}^2$: Variation der Transistorlänge (Abb. 3.5b).
- $400 \times 50 \,\mu\text{m}^2$ und $400 \times 25 \,\mu\text{m}^2$: Variation der Transistorlänge (Abb. 3.5c).
- $400 \times 50 \,\mu\text{m}^2$ und $800 \times 50 \,\mu\text{m}^2$: Variation der Transistorweite (Abb. 3.5f).
- $400\times50\,\mu m^2$ und $200\times50\,\mu m^2:$ Variation der Transistorweite (Abb. 3.5h).
- $800 \times 100 \,\mu\text{m}^2$ und $200 \times 25 \,\mu\text{m}^2$: Variation der Transistorfläche bei konstantem w/I-Verhältnis (Abb. 3.5e).

Zwei Chips sind mit jeweils zwei in Reihe geschalteten Transistoren versehen, von denen jeweils einer komplett passiviert ist. Diese Chips können im Messaufbau entweder einzeln oder so kontaktiert werden, dass eine Wheatstone-Brückenschaltung entsteht (Kap. 5.2.5):

- je zwei offene und passivierte Transistoren mit $400 \times 50 \,\mu\text{m}^2$ (Abb. 3.5i).
- je zwei offene und passivierte Transistoren mit $200 \times 50 \,\mu\text{m}^2$ (Abb. 3.5g).

Insgesamt gibt es mit diesen Chips drei mögliche Kontaktkonfigurationen (im folgenden "Messkonfigurationen"), mit denen sensorische Experimente durchgeführt werden können: Der Anschluss von Transistor A auf einem Doppeltransistorchip, der Anschluss von Transistor B auf einem Doppeltransistorchip und der Anschluss eines Chips mit vier Transistoren in der wheatstoneschen Brückenschaltung.

Die verbleibenden zwei Chips werden für Hall-Teststrukturen verwendet:

- eine Hall-Teststruktur mit freigelegter Halbleiteroberfläche (Abb. 3.5a).
- eine Hall-Teststruktur mit passivierter Oberfläche (Abb. 3.5d).

Auf den Hall-Testchips sind zusätzlich Teststrukturen und Justagemarken zur Überwachung der Prozessierung aufgebracht.

3.3. Messzelle



Abb. 3.6.: Entwickelte Messzelle: Die Messzelle ist in einen rein fluidischen und einen rein elektrischen Block zu geteilt. Der Chip wird in eine Silikondichtung zwischen den beiden Gehäuseteilen eingelegt. Die einzelnen Gehäuseteile werden mit der Bodenplatte aus Messing verschraubt.

Um mit einem der im vorhergehenden Abschnitt beschriebenen Sensorchips messen zu können, ist ein Aufbau nötig, der die elektrischen Kontakte und den fluidischen Anschluss zum Chip herstellt und diese Anschlüsse als labortaugliche Schnittstellen zur Verfügung stellt. Zusammen mit dem Sensorchip bildet dieser (im folgenden "Messzelle" genannte) Aufbau ein Biosensormodul. Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine solche Messzelle entwickelt und aufgebaut (Abb. 3.6).

Aufgrund des gewählten Sensordesigns mit den elektrischen Kontakten auf der Rückseite der Chips kann die Trennung von fluidischen und elektrischen Anschlüssen auch in der Messzelle weitergeführt werden. Somit wird ein Gehäuse gewählt, das auf der Oberseite die fluidischen Kontakte und auf der Unterseite die elektrische Kontaktierung zum Chip herstellt. Der Sensorchip selbst wird in einer Silikondichtung zwischen den beiden Elementen eingesetzt (Abb. 3.7). Die beiden Gehäuseteile mit der dazwischenliegenden Dichtung können mit M3 Maschinenschrauben auf einer Messing-Bodenplatte befestigt werden. Durch Entfernung dieser Schrauben kann die Messzelle zu Chiptausch- und Reinigungszwecken demontiert werden.



Abb. 3.7.: Messzelle (Schnitt): Der Sensor wird durch Federkontakte elektrisch kontaktiert. Die Federkraft dieser Kontakte sorgt darüber hinaus dafür, dass der Sensor mit einer definierten Kraft an die Silikondichtung angepresst wird. Durch die Platzierung des Analytports möglichst nahe am Sensorchip wird ein minimales Volumen von 20 μl ermöglicht.

Silikondichtung

Das zentrale Element des Aufbaus ist die Silikondichtung zwischen den beiden Gehäuseteilen. Diese wird in einem Spritzgussverfahren so geformt, dass sie auf der Unterseite eine Aufnahme für den Sensorchip besitzt und auf der Oberseite einen fluidischen Kanal. Im Bereich der aktiven Fläche des Sensorchips ist eine Öffnung in der Struktur, so dass das Fluid mit der Sensoroberfläche in Kontakt treten kann.

Aufgrund der Hydrophobie von Silikon ist das Eindringen von Wasser zwischen Sensorchip und Dichtung energetisch ungünstig, so dass keine Undichtheit durch Kapillareffekte entstehen kann. Es reicht daher ein relativ geringer Druck auf den Sensorchip aus, um eine effektive Abdichtung des fluidischen Systems am Chip zu erhalten.

Fluidikseite

Eine Bohrung durch den PTFE-Gehäuseteil zum Fluidkanal in der Silikondichtung dient als Anschluss für den Pufferzufluss. In die Bohrung wird ein Stutzen eingeschraubt, über den herkömmliche Silikonschläuche mit einem Innendurchmesser von 1,0 mm angeschlossen werden können. Da diese Schläuche auch als Pumpschläuche in Schlauchpumpen Verwendung finden, kann ein definierter Fluss aus einem Pufferreservoir in die Messzelle realisiert werden. Liegt ein ausreichendes Analytvolumen vor, kann dieser Zugang auch benutzt werden, um den Analyt zur aktiven Fläche zu bringen.

Liegen nur geringe Analytvolumina vor, ist eine direkte Einbringung möglichst nahe am Sensorchip nötig. Über dem Fluidkanal, nahe am Sensorchip, befindet sich dazu ein weiterer Zugang. Dieser ist mit einem Septum verschlossen, das von einem mit der Bodenplatte verschraubbaren Messinghalter befestigt wird. Das Analyt kann durch das Septum mit einer Mikroliterspritze appliziert werden; der Fluidkanal wird nach Abzug der Kanüle durch das Septum selbsttätig wieder abdichtet. Durch die Positionierung nahe am Sensorchip reicht ein Analytvolumen von 20 µl aus, um ein deutliches Sensorsignal bei nur geringfügiger Vermischung mit der Spülpufferlösung zu erreichen (Abb. 3.8).



Abb. 3.8.: Minimales Analytvolumen: Mit dem Messaufbau wird die Oberflächenpotentialänderung bestimmt, die durch die Zugabe von jeweils 20 µl verschiedener pH-Pufferlösungen erzeugt wird. Zwischen den einzelnen Analytzugaben wird jeweils mit einem Puffer mit pH 7 gespült. Das Probenvolumen von 20 µl reicht aus, um ein deutliches Sensorsignal zu erzeugen.

Am Ende des Fluidkanals befindet sich ein Abfluss für benutzte Pufferlösung und Analyt aus dem Fluidkanal. Dieser beinhaltet ein Reservoir, in das eine Longlife-Flachmembranelektrode (Hersteller: Deutsche Metrohm GmbH & Co. KG) als Referenzelektrode zur Definition des Fluidpotentials eingesetzt wird. Danach wird das benutzte Fluid in einen Abfallbehälter geleitet.

Elektronikseite

Der Gehäuseteil zur elektronischen Kontaktierung des Sensorchips wird wie der Fluidikteil aus PTFE gefertigt. In diesem sind Federkontaktstifte (Hersteller: Feinmetall GmbH) eingesetzt, die gleichzeitig der mechanischen Befestigung und der elektrischen Kontaktierung des Chips dienen. Um die mechanische Belastung des gedünnten Sensorsubstrats so gering wie nötig zu halten, sind die Stifte mit abgeflachten Köpfen versehen, deren Durchmesser von 0,90 mm eine Verteilung der Federkraft auf eine möglichst große Kontaktfläche ermöglicht. Die Nennfederkraft pro Kontakt beträgt 0,40 N, was bei sechs Kontakten einer gesamten Anpresskraft des Chips von F = 2,40 N entspricht. Um das System dicht zu halten, darf die Kraft, die durch den Fluiddruck auf die benetzte Chipoberfläche $A = 2 \times 2$ mm² ausgeübt wird, diesen Wert nicht übersteigen. Der kritische Fluiddruck p_{max} kann nach Gleichung 3.4 berechnet werden [93]:

$$p_{\text{max}} = \frac{F}{A} = \frac{2,40 \text{ N}}{4,0 \text{ mm}^2} = 0,60 \text{ MPa} = \underline{6,0 \text{ bar}}.$$
 (3.4)

Der kritische Druck liegt höher als der maximal zulässige Betriebsdruck der verwendeten Schlauchpumpe (TL/15, Hersteller Medorex e.K.), der mit 1,0 bar angegeben wird. Da das fluidische System am Abfluss offen ist, wird jedoch auch dieser Druck nicht erreicht. An der Seite des Gehäuses werden die Litzen von den Federkontakten zur Schnittstelle des computergesteuerten Messplatz geführt. Die Referenzelektrode wird ebenfalls mit dieser Schnittstelle verbunden.

Die Verwendung von nicht transluzentem PTFE als Gehäusematerial für die Fluidikund Elektronikseite vermindert die Einstrahlung von Umgebungslicht auf den Sensor auf ein Minimum. Im Routinebetrieb des Systems zeigt sich, dass diese optische Abschirmung bereits genügt, um den Einfluss des Umgebungslichts auf den Sensor ausreichend abzuschwächen (vgl. Abb. 5.14). Zusätzliches Abkleben der Silikondichtung oder die Verwendung von undurchsichtigen Schläuchen ist nicht notwendig.

3.4. Rechnergestützte Ansteuerung

Um komfortabel und reproduzierbar mit dem Messmodul arbeiten zu können, ist die Einbettung der Messzelle in ein Messsystem (im folgenden "Messplatz") nötig. Für die Messungen im Rahmen dieser Arbeit wurde ein solcher Messplatz aufgebaut (Abb. 3.9 & 3.10). Zentrales Bedienelement ist ein Rechner, auf dem LabVIEW-Programme zur Steuerung der Schlauchpumpe (Medorex TL/15) und der 2-kanaligen Strom-/Spannungsquelle mit integrierter Strom-/Spannungsmessung (SMU, engl. source-measurement-unit; Keithley Instruments 2612A) dienen.

Uber eine serielle RS232-Schnittstelle kann durch ein für den Messplatz erstelltes LabVIEW-Programm die Schlauchpumpe fernbedient werden. Dies ermöglicht die genaue Einstellung des Pufferflusses aus dem Reservoir durch die Messzelle in den Abfallbehälter. Der maximale Fluss liegt bei der Verwendung von Silikonschläuchen mit einem Innendurchmesser und einer Mantelstärke von je 1,0 mm bei 1,248 ml min⁻¹.

Die Auswahl des Messprogramms und der Messparameter wird in einem zweiten, eigens für dieses Messystem programmierten LabVIEW-Programm (Details siehe Anhang D) vorgenommen. Nach dem Start des Messprogramms steuert der Rechner digital über eine GPIB-Verbindung (General Purpose Interface Bus) die SMU an, so dass an dessen Ausgängen die für die Messung benötigten Ströme und Spannungen (als analoge Signale) angelegt bzw. gemessen werden.

Zur Verbindung der Ausgänge der SMU mit den Federkontaktstiften und der Referenzelektrode in der Messzelle dienen speziell angefertigte Adapterkabel, die an die Messzelle angeschlossen werden.

Die Zugabe des Analyts zum Sensor ist entweder mit der Schlauchpumpe durch den Pufferzuflusskanal möglich oder – bei geringen Analytvolumina – mit einer Mikroliterspritze durch das Septum am Analytport. Dieser Vorgang erfolgt manuell.



Abb. 3.9.: Schematische Darstellung des Messaufbaus: Darstellung der verschiedenen Elemente und der Signal- und Medienleitungen.



Abb. 3.10.: Messaufbau im Labor: Aufbau und Anordnung der einzelnen Elemente des Sensormessplatzes.

3.5. Zusammenfassung der Entwicklung des Versuchsaufbaus

Mit dem Biosensorchip, wie er in diesem Kapitel beschrieben ist, sowie dem Messmodul und dem computergestützten Messplatz sind alle nötigen Voraussetzungen geschaffen, um den Einfluss von Oberflächenpotentialänderungen auf einen HEMT mit fluidischem Gate zu detektieren. Durch das Design des Chips kann dabei eine strikte Trennung von fluidischen und elektrischen Kontakten erreicht und das Korrosionsrisiko minimiert werden. Gleichzeitig ermöglicht das Messsystem eine flexible Experimentgestaltung, sowohl im Hinblick auf die zu bestimmenden Messgrößen als auch im Bezug auf das Analytvolumen und Spülvorgänge.

Um mit diesem System Affinitätsbiosensorik zu betreiben ist jedoch noch ein weiterer Schritt nötig: die Funktionalisierung der Oberflächen mit den jeweiligen spezifischen Sondenmolekülen. Diese wird – aufbauend auf den in diesem Kapitel verwendeten Heterostrukturen – im folgenden Kapitel behandelt.

4. Funktionalisierung von Galliumnitridoberflächen

Um auf der Basis eines HEMTs wie aus dem vorhergehenden Kapitel einen Affinitäts-Biosensor zu entwickeln, ist eine biologische Funktionalisierung der Oberfläche nötig. Die Biomoleküle selbst reagieren jedoch nicht mit Galliumnitrid – ein reaktives Verhalten wäre auch nicht mit dem Anspruch der Biokompatibilität des Sensors vereinbar.

Deshalb muss die Galliumnitridoberfläche zunächst mit einer allgemeinen Funktionalisierungsschicht aktiviert werden, die dann in weiteren Schritten mit den Biomolekülen reagieren kann (vgl. Kap. 1.4). Damit eine Funktionalisierungsschicht diese Funktion im Kontext der Biosensorik zweckmäßig erfüllen kann, muss sie folgende Charakteristika aufweisen:

- Die Oberfläche des Sensors darf nicht geschädigt werden. Löcher in der GaN-Cap-Schicht und der AlGaN-Barriere beeinflussen die Bandstruktur der Heterostruktur und können die Eigenschaften des zweidimensionalen Elektronengases beeinträchtigen.
- Die Dicke der Funktionalisierungsschicht muss geringer als die Debyelänge der verwendeten Pufferlösung sein. Ladungen, die weiter von der Oberfläche entfernt sind als die Debyelänge der Pufferlänge, werden von den Ionen der Pufferlösung abgeschirmt und wirken sich somit nicht auf die Ladungsträger im zweidimensionalen Elektronengas aus (vgl. Kap. 2.1.3).
- Die Funktionalisierung muss auch in biologischen Medien möglichst lange stabil sein. Vorteilhaft ist daher eine Funktionalisierung, die eine kovalente Anbindung der biologischen Sondenmoleküle an die Halbleiteroberfläche realisiert.
- Die Dichte der Sondenmoleküle ist entscheidend für die Funktion des Sensors. Um diese effektiv einstellen zu können, muss die Dichte der Funktionalisierung durch den Prozess beeinflussbar sein.

Der photochemische Funktionalisierungsprozess mit 1-Alkenen erscheint für diese Anforderungen am besten geeignet und wird daher in dieser Arbeit für die Funktionalisierung der Sensoren gewählt.

In diesem Kapitel werden zunächst die für die Funktionalisierung verwendeten Moleküle dargestellt (Kap. 4.1). Danach wird zunächst aufgezeigt, wie diese Eigenschaften mit Rasterkraftmikroskopie (AFM, engl. atomic force microscopy) und Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS, engl. x-ray photoelectron spectroscopy) überprüft werden können (Kap. 4.2). Im Anschluss daran werden mit dem photochemischen (Kap. 4.3) und dem im Rahmen dieser Arbeit entwickelten thermischen Funktionalisierungsprozess

(Kap. 4.4) für GaN-Oberflächen mit 1-Alkenen die Prozesse näher untersucht, die zur Herstellung von Biosensoren in Kapitel 5 verwendet werden. Abschließend wird der weitere Funktionalisierungsprozess bis hin zur Anbindung der Biomoleküle beschrieben (Kap. 4.6).

4.1. Funktionalisierungsmoleküle

4.1.1. 10-Trifluoroacetamid-1-decen

Molekülstruktur





c) Sulfo-Succinimidyl-4-[N-maleimidomethyl]cyclohexan-1-carboxylat (SSMCC)

10-Trifluoroacetamid-1-decen (Abb. 4.1a) ist ein bifunktionales Molekül, das in dieser Arbeit für die Anbindung von biologischen Molekülen auf Galliumnitridoberflächen genutzt wird. Es liegt bei Raumtemperatur im flüssigen Zustand vor. Die endständige C=C-Doppelbindung, die mit der Galliumnitridoberfläche reagieren kann (Kap. 2.3) ist über eine Kohlenstoffkette mit einer geschützten Aminogruppe verbunden. Die Kohlenstoffkette besteht aus C-C-Einfachbindungen, die jeweils um ihre Bindungsachse drehbar sind, somit ist das Molekül flexibel und später daran angebundene Moleküle – im Rahmen der Länge der Kohlenstoffkette – frei beweglich.

Die Trifluoroacetyl-Schutzgruppe (TFA) kann mit heißem Chlorwasserstoff in Methanol (vgl. Kap. C.1 & C.2) entfernt werden, so dass die Aminogruppe als zweite funktionale Gruppe freigesetzt wird. An diese kann dann beispielsweise ein N-Hydroxysuccinimidylester wie Sulfo-Succinimidyl-4-[N-maleimidomethyl]cyclohexan-1-carboxylat unter Ausbildung einer Peptidbindung angebunden werden (Kap. 4.1.3).

Molekülorbitale

Eine für die Erforschung der Funktionalisierung entscheidende Eigenschaft von Funktionalisierungsmolekülen ist die Energiedifferenz zwischen ihren energetisch am höchsten liegenden besetzten Molekülorbitalen (HOMO(-n), engl. highest occupied molecular orbital) und ihren energetisch am niedrigsten liegenden unbesetzten Molekülorbitalen (LUMO(+n), engl. lowest unoccupied molecular orbital). Die Differenz gibt wieder, welche Energie notwendig ist, um diese Elektronen in einen potentiell reaktiven, angeregten Zustand zu versetzen.



Abb. 4.2.: Molekülorbitale im TFAAD-Molekül: a) HOMO (-6,7 eV) und LUMO (-4,8 eV) liegen im Bereich der Schutzgruppe. Die Anregungsenergie beträgt $\Delta E = 1,9 \text{ eV}$. b) Das zweithöchste besetzte Molekülorbital HOMO-1 (-6,4 eV) und das zweitniedrigste unbesetzte Molekülorbital LUMO+1 (-1,2 eV) befinden sich im Bereich der C=C-Doppelbindung, die Anregungsenergie beträgt $\Delta E = 5,2 \text{ eV}$.

Um die Reaktivität des TFAADs besser zu verstehen, werden die Niveaus der ersten beiden dieser Molekülorbitalpaare mit Hilfe der dichtefunktionaltheoretischen Simulationssoftware ADF (Amsterdam Density Functional, Scientific Computing & Modeling NV corp.) bestimmt. Es zeigt sich, dass HOMO und LUMO im Bereich der Schutzgruppe liegen und eine Anregung dort mit einer Energie von $\Delta E = 1,9 \text{ eV}$ möglich ist. HOMO-1 und LUMO+1 sind in der Umgebung der C=C-Doppelbindung lokalisiert, Elektronen können dort mit einer Energie von $\Delta E = 5,2 \text{ eV}$ angeregt werden (Abb. 4.2). Diese Anregung muss vermieden werden, um Polymerisationsreaktionen zu unterbinden (Kap. 4.3.2)

Molekülgeometrie

Für die Beurteilung von Funktionalisierungsschichten ist die Geometrie der TFAAD-Moleküle zu berücksichtigen. Aus der ADF-Simulation resultiert neben den Energieniveaus der Molekülorbitale zusätzlich die energetisch günstigste Anordnung des Moleküls im Raum, welche Informationen über die Molekülgeometrie gibt (Abb. 4.2). Aus diesem Ergebnis kann die maximale Länge des TFAAD-Moleküls bestimmt werden, indem der Abstand zwischen den beiden maximal voneinander entfernten Atomen des Moleküls gemessen wird. Es ergibt sich ein Wert von $I^* = 1,80$ nm. Auch ein Wert für den charakteristischen Durchmesser des Moleküls kann so ermittelt werden; hier resultiert ein Wert von $d^* = 0,35$ nm.

Neben der Länge der Moleküle ist für die Arbeit mit TFAAD zusätzlich auch das Volumen eines einzelnen TFAAD-Moleküls von Interesse. Dieses kann experimentell nach Gleichung 4.1 in der flüssigen Phase bestimmt werden. Die Dichte ρ wird dabei durch Abwägung eines definierten Volumens der Funktionalisierungsflüssigkeit bestimmt, die molare Masse *M* durch Aufsummierung der Atommassen in der Summenformel des jeweiligen Moleküls:

$$V_{\rm mol} = \frac{M}{\rho \cdot N_{\rm A}}.$$
(4.1)

Entsprechend erhalten wir das Molekülvolumen für TFAAD (Gl. 4.2):

$$V_{\text{TFAAD}} = \frac{M_{\text{TFAAD}}}{\rho_{\text{TFAAD}} \cdot N_{\text{A}}} = \frac{251,29 \,\text{g mol}^{-1}}{0,973 \,\text{g cm}^{-3} \cdot 6,022 \cdot 10^{23} \,\text{mol}^{-1}} = \underline{4,29 \cdot 10^{-22} \,\text{cm}^{3}}.$$
 (4.2)

Es zeigt sich, dass dieser experimentell bestimmte Volumenwert etwas größer ist, als der nach der Volumenformel des Zylinders aus simulierter Länge I^* und charakteristischem Durchmesser d^* gewonnene Wert von $V^* = 1,732 \cdot 10^{-22}$ cm³ (Abb. 4.3). Dieses Ergebnis kann dadurch erklärt werden, dass sich zwei Moleküle nicht beliebig aneinander annähern können, sondern ab einem bestimmten Abstand die repulsiven Kräfte zwischen den Molekülen dominieren. Der Abstand kann in ein zylinderförmiges Modell der (effektiven) TFAAD-Geometrie eingearbeitet werden. Hierzu werden eine effektive Länge $I = I^* + r$ und ein effektiver charakteristischer Durchmesser $d = d^* + r$ so definiert, dass ein Zylinder mit diesen Maßen das experimentell bestimmte Volumen des TFAAD-Moleküls V_{TFAAD} aufweist (Abb. 4.3, Gl. 4.3):

$$V_{\text{TFAAD}} = \left(\frac{d}{2}\right)^2 \pi \cdot l = \left(\frac{d^* + r}{2}\right)^2 \pi \cdot (l^* + r).$$
(4.3)

Aus dieser Gleichung erhält man einen Molekülabstand von r = 0,18 nm. Für das Zylindermodell des TFAAD-Moleküls ergibt sich somit eine effektive Länge I = 1,98 nm und ein effektiver Durchmesser d = 0,53 nm.



Abb. 4.3.: Zylindermodell TFAAD-Molekül: Durch Addition eines gleichmäßigen Abstands r zu den simulierten Maßen d* und l* erhält man ein zylinderförmiges Molekülmodell mit der effektiven Länge l und dem effektiven charakteristischen Durchmesser d, das genau das experimentell bestimmte Molekülvolumen V_{TFAAD} aufweist.

4.1.2. 5-Bromo-1-penten

5-Bromo-1-penten (BP, Abb. 4.1b) ist wie TFAAD ein 1-Alken, das im Rahmen der Arbeit zur Untersuchung der chemischen Anbindung von 1-Alkenen an Galliumnitridoberflächen verwendet wird. Da es, wie TFAAD, bei Raumtemperatur im flüssigen Zustand vorliegt, kann es bei den Funktionalisierungsprozessen 1:1 das TFAAD ersetzen, ohne dass der Prozess geändert werden muss. Aufgrund des einfacheren Molekülaufbaus erzeugt 5-Bromo-1-penten bei röntgenphotoelektronenspektroskopischen Messungen ein klareres Signal als TFAAD, da weniger Elementpeaks die Auswirkungen der Anbindungsreaktion überdecken können. Das Bromatom am Ende der Kohlenstoffkette ist als separater Marker für die Bestimmung der Funktionalisierungsdichte vorgesehen.

Analog zum Vorgehen bei TFAAD kann auch für 5-Bromo-1-penten das Molekülvolumen in der flüssigen Phase bestimmt werden (Gl. 4.4):

$$V_{\rm BP} = \frac{M_{\rm BP}}{\rho_{\rm BP} \cdot N_{\rm A}} = \frac{149,03 \text{ g mol}^{-1}}{1,258 \text{ g cm}^{-3} \cdot 6,022 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}} = \underline{1,97 \cdot 10^{-22} \text{ cm}^3}.$$
 (4.4)

4.1.3. Sulfo-Succinimidyl-4-[N-maleimidomethyl]cyclohexan-1-carboxylat

Sulfo-Succinimidyl-4-[N-maleimidomethyl]cyclohexan-1-carboxylat ist ein heterobifunktionaler Crosslinker, der zur Verbindung von primären Aminen (R_1 -N H_2) mit Thiolgruppen (R_2 -SH) dient (Abb. 4.1c).



Abb. 4.4.: Bifunktionale Reaktion von SSMCC: Durch Reaktion der N-Hydroxysuccinimidester-Gruppe des SSMCCs mit primären Aminogruppen und der Maleimidgruppe mit Thiolen können die an die Amino- und Thiolgruppen angebundenen Reste R₁ und R₂ kovalent verbunden werden.

Das Vorliegen von primären Aminogruppen führt dabei zu einer Substitutionsreaktion in der N-Hydroxysuccinimidester-Gruppe, wobei die Esterbindung gespalten wird und das C-Atom des vorherigen Säurerests der Esterbindung mit der Aminogruppe unter Ausbildung einer Peptidbindung reagiert.

Die Maleimidgruppe reagiert mit vorhandenen Thiolgruppen in einer Additionsreaktion. Hierbei wird das Thiol unter Ausbildung einer R-S-C-Bindung an ein Kohlenstoffatom der C=C-Doppelbindung in der Maleimidgruppe angebunden; das zweite Kohlenstoffatom der Doppelbindung wird gleichzeitig durch das Wasserstoffatom der Thiolgruppe abgesättigt.

Insgesamt wird durch beide Reaktionen eine kovalente Verbindung zwischen R_1 und R_2 geschaffen (Abb. 4.4).

4.1.4. Sondenmoleküle

Die Biomoleküle, die am Ende der Funktionalisierungskette als Sondenmolekül dienen, sind, unter der Voraussetzung, dass eine Thiolgruppe zur Bindung an die Maleimidgruppe des Crosslinkers verfügbar ist, frei wählbar. Entscheidend wird ihre Rolle im Kontext der Sensorik, wenn ihre Fähigkeit zur spezifischen Immobilisierung der Zielmoleküle verwendet wird. Eine Beschreibung der im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Moleküle ist daher in den Kapiteln 5.3.1 (DNA-Sequenzen) und 5.4.1 (Proteine) zu finden.

4.2. Charakterisierung funktionalisierter Oberflächen

4.2.1. Schichtmorphologie

Die Morphologie der Funktionalisierungsschicht wird mit dem Rasterkraftmikroskop analysiert. Sie zeigt, wie homogen die Verteilung der Funktionalisierungsmoleküle auf der Halbleiteroberfläche ist. Eine gleichmäßige Verteilung ist dabei vorteilhaft für die Funktion des Sensors. Agglutinationen von Funktionalisierungsmolekülen und Partikel auf der Oberfläche vermindern die Sensitivität, da sich die Biokomponente in diesem Fall nicht nahe genug an die Oberfläche annähern kann, um Einfluss auf das zweidimensionale Elektronengas zu haben. Auch nach der Prozessierung auftretende Löcher im Halbleitermaterial, die das Elektronengas beeinträchtigen können, sind Anzeichen eines ungeeigneten Funktionalisierungsprozesses.

Als Kenngröße für die Homogenität einer Funktionalisierungsschicht eignet sich die quadratische gemittelte Rauheit $R_{\rm rms}$ eines 2 × 2 µm² großen Oberflächenelements nach dem Prozess. Ein Wert von $R_{\rm rms} \leq 0,5$ nm ist gleichbedeutend mit einer guten Homogenität (Abb. 4.5a). Löcher (Abb. 4.5b), Partikel oder Agglutinationen auf der Oberfläche (Abb. 4.5c) hingegen resultieren in einem erhöhten Wert.



Abb. 4.5.: AFM-Messungen zur Rauheit verschiedener Funktionalisierungen: a) Homogene Funktionalisierungsschicht: $R_{\rm rms} = 0,29$ nm, b) Löcher in der Heterostruktur: $R_{\rm rms} = 1,01$ nm, c) Agglutinationen von Funktionalisierungsmolekülen: $R_{\rm rms} = 2,52$ nm

4.2.2. Bindungsfestigkeit

Die Bestimmung der tatsächlichen Bindungsfestigkeit der Funktionalisierungsmoleküle an die Oberfläche ist nicht ohne weiteres möglich. Üblicherweise wird die Festigkeit einer kovalenten Bindung als die Dissoziationsenergie der Bindung aufgefasst und über spektroskopische Verfahren an Reinstoffen mit möglichst wenig verschiedenen Bindungen bestimmt. Diese Methode ist für eine Bestimmung *in situ* allerdings nicht geeignet.

Somit bleibt nur die relative Abschätzung von Bindungsfestigkeiten. Eine Methode, eine Kenngröße für die Bindungsfestigkeit mit dem Rasterkraftmikroskop zu bestimmen, wird von Nebel et al. beschrieben [121]. Hierbei wird mit einer mit amorphem, diamantähnlichem Kohlenstoff (engl. diamond-like carbon, DLC) beschichteten Spitze, die sowohl für

Kontakt- als auch intermittierenden Modus geeignet ist, ein kleiner Bereich im Kontaktmodus abgerastert und die Kontaktkraft dabei kontinuierlich erhöht. Der Startwert der Kontaktkraft muss dabei so gewählt werden, dass der Oberflächenkontakt sicher beibehalten wird, die Funktionalisierung jedoch noch nicht entfernt wird. Der Endwert muss so festgelegt werden, dass die Funktionalisierungsschicht sicher entfernt wird, die Spitze aber nicht zu stark abgenutzt wird. In einem anschließenden Scan im intermittierenden Modus wird der Bereich des Kontaktscans und seiner unmittelbaren Umgebung dargestellt.



Abb. 4.6.: Bindungsfestigkeitsbestimmung mit AFM: In der Aufnahme am Ende des Kratzexperiments ist die Funktionalisierung an den Stellen entfernt, wo die Kontaktkraft im Kontaktmodus 170 nN überstieg.

In diesem Scan kann nun bei geeigneter Wahl von Mindest- und Maximalkontaktkraft ein Rechteck erkannt werden, in dem die Funktionalisierungsmoleküle entfernt wurden. Durch Zuordnung der Kontaktkräfte zum jeweiligen Oberflächensegment kann nun die Kraft bestimmt werden, die maximal angelegt werden kann, ohne die Funktionalisierung von der Oberfläche zu entfernen. Diese wird als Kenngröße für die Bindungsfestigkeit verwendet. Zur Bestimmung der Bindungsfestigkeit bei der UV-induzierten Funktionalisierung von Galliumnitrid mit TFAAD dient ein Kratzexperiment, bei dem die Kontaktkraft in 27 gleichmäßigen Stufen von 14–382 nN erhöht wurde. Im anschließenden Scan (Abb. 4.6) kann festgestellt werden, dass die Bindungsfestigkeit bis einschließlich zum 12. Sektor (170 nN) ausreichend war, um die Entfernung der Moleküle zu verhindern.

Vergleicht man diesen Wert mit dem Literaturwert für die photochemische Anbindung von TFAAD auf Diamant (100 nN) [121], so stellt man fest, dass die Bindungsfestigkeit im Experiment auf Galliumnitrid etwas höher, aber in derselben Größenordnung ist. Ent-

sprechend ist aufgrund dieses Experiments anzunehmen, dass auf Galliumnitrid – analog zum Verhalten auf Diamant – eine kovalente Anbindung des TFAADs stattfindet. [73]

4.2.3. Schichtdicke

Die Bestimmung der Schichtdicke erfolgt ebenfalls mit dem Rasterkraftmikroskop. Analog zur Analyse der Bindungsfestigkeit wird in einem Kontaktmodusscan die Funktionalisierung in einem Teilbereich mit einer DLC-beschichteten Spitze entfernt. Hierbei wird eine Kontaktkraft gewählt, die analog zum Maximalwert bei der Bindungsfestigkeitsbestimmung sicher zur Entfernung der Funktionalisierung führt, dabei aber nicht in einer erhöhten Abnutzung der Spitze resultiert. Anschließend wird im intermittierenden Modus der Scanbereich des Kontaktmodusscans und seine Umgebung aufgenommen (Abb. 4.7a).



Abb. 4.7.: Schichtdickenbestimmung mit AFM. a) Die Halbleiteroberfläche wird teilweise freigelegt. b) Die Höhenverteilung in der Umgebung wird über gaußsche Glockenkurven angenähert, welche die funktionalisierten und die freigelegten Oberflächenanteile repräsentieren. Die Schichtdicke ist die Differenz der den Kurvenmaxima zugeordneten Höhenwerten.

In diesem Scan wird nun die Verteilung der Höhenwerte analysiert. Es zeigen sich zwei Peaks, die das Höhenniveau der freigelegten Halbleiteroberfläche und das Niveau der Funktionalisierungsschicht repräsentieren. Die Peaks können durch zwei gaußsche Glockenkurven angenähert werden, so dass die Summe dieser Kurven möglichst exakt mit der Höhenverteilung übereinstimmt. Der Abstand der Maxima der beiden Kurven ist die Schichtdicke (Abb. 4.7b).

Schichtdicken größer als die Länge der verwendeten Funktionalisierungsmoleküle (TFAAD: l = 1,8 nm) zeigen, dass nicht die erwünschte (Sub-)Monolage ausgebildet wurde, sondern unerwünschte Polymerisationsreaktionen stattgefunden haben. Diese Funktionalisierungen sind unbrauchbar, da die Positionierung der Biomoleküle innerhalb der Debyelänge nicht gewährleistet werden kann.

4.2.4. Chemische Zusammensetzung

Die chemische Zusammensetzung der Oberfläche von Proben kann mit Hilfe der Röntgenphotoelektronenspektroskopie analysiert werden. Da diese Information im Hinblick auf die Aufklärung der Funktionalisierungsprozesse sehr aufschlussreich ist, wurden im Rahmen der Arbeit derartige Messungen durchgeführt. Die Untersuchung der Proben erfolgte dabei am Institut für Mikro- und Nanotechnologien MacroNano[®] der Technischen Universität Ilmenau.

Bei der Analyse wird die Probe durch hochenergetische, monochromatische Röntgenstrahlung ($h\nu = \text{const.}$) bestrahlt, woraufhin nahe der Probenoberfläche Elektronen aus den Atomhüllen entfernt werden. Dazu muss die für das jeweilige Element und Orbital charakteristische Bindungsenergie E_B des Elektrons aufgewendet werden, die Energiedifferenz bleibt dem Elektron als kinetische Energie erhalten (Gl. 4.5):

$$E_{\rm kin} = h\nu - E_B \tag{4.5}$$

In einem Analysator werden diese Energien bestimmt und als Bindungsenergiespektrum dargestellt. In diesem zeigen sich Peaks, die über ihr Energielevel den auf der Probenoberfläche vorkommenden Elementen zugeordnet werden können. Die Bindungsenergien werden dazu mit tabellierten Referenzwerten abgeglichen. [122]

Neben dem Elementtyp kann auch eine Aussage über die Bindungsverhältnisse der Elemente getroffen werden. Existiert eine Bindung eines Atoms X zu einem elektronegativeren Element Y, ist diese polar, wobei eine negative Teilladung bei Atom Y und eine positive Teilladung bei Atom X auftritt ($X^{\delta+}-Y^{\delta-}$). Diese positive Teilladung an Atom X resultiert in einem erhöhten elektrischen Potential, das einen zusätzlichen Beitrag zur Bindung seiner Elektronen leistet. Die Bindungsenergie der Elektronen in den Orbitalen um X ist somit erhöht und der Peak für die Elektronen dieses Elements zu höheren Bindungsenergien hin verschoben. Analog verhält es sich für das negativ teilgeladene Atom Y: Hier führt die negative Teilladung zu einem verminderten elektrischen Potential und somit zu einer geringeren Bindungsenergie für die Elektronen. Peaks, die die Orbitale von Y repräsentieren, sind entsprechend zu niedrigeren Bindungsenergien hin verschoben. Beispielsweise führt der Austausch einer CH₂-Gruppe ($\chi_C = 2,6$ [108]) in einer Kohlenstoffkette durch ein elektronegativeres Sauerstoffatom ($\chi_O = 3,4$ [108]) zu einer Verschiebung des Peaks von 284,3–284,7 eV [123] nach 284,8–286,4 eV [123]

Die Ausprägung dieser Verschiebung ist dabei abhängig von der Differenz der Elektronegativitäten der Bindungsatome X und Y. Auch hier existieren Referenztabellenwerke, welche die Zuordnung der verschobenen Peaks zu bestimmten Bindungstypen erlauben. Somit können aufgrund einer XPS-Analyse weitreichende Aussagen über die chemische Zusammensetzung der Oberfläche gewonnen werden.

Die Röntgenphotoelektronenspektroskopie ist eine äußerst oberflächensensitive Analysemethode. Die Austrittstiefe der generierten Photoelektronen ist dabei der begrenzende Faktor. Diese kann über die mittlere freie Weglänge der Elektronen λ abgeschätzt werden, so stammen 63% der generierten Elektronen aus einer Tiefe von $d \leq \lambda$, 95% aus einer Tiefe von $d \leq 3\lambda$ [122]. Die mittlere freie Weglänge ist dabei abhängig vom Material und der Energie der Elektronen und liegt für Galliumnitrid im relevanten Energiebereich bei $0,5 \text{ nm} \leq \lambda \leq 3,0 \text{ nm}$ (Simulation nach Tanuma et al. [124, 125]). Entsprechend kann die maximale Informationstiefe für diesen Fall mit < 10 nm angegeben werden.

4.2.5. Oberflächendichte

Die Dichte der Funktionalisierungsmoleküle auf der Oberfläche ist ein wichtiger Parameter für die Eignung der Schicht zur Anbindung von Sondenmolekülen auf Biosensoren.

Ga-face Galliumnitrid stellt aufgrund seiner wurtzitischen Kristallstruktur theoretisch ein Galliumatom pro Elementarzelle für chemische Reaktionen auf der Oberfläche zur Verfügung. Entsprechend stellt der Kehrwert der Elementarzellengrundfläche die Flächendichte der Galliumatome dar und liefert damit die theoretische Obergrenze für die Oberflächendichte einer Monolage von Funktionalisierungsmolekülen.

Aus dem Gitterparameter a = 3,1896 Å [98] und der Gittergeometrie des wurtzitischen Kristallgitters ergibt sich nach Gleichung 4.6 eine maximale Oberflächendichte von $\sigma = 1,135 \cdot 10^{15} \text{ cm}^{-2}$:

$$\sigma = \frac{1}{A_{\text{EZ}}} = \frac{1}{a^2 \cdot \sin 60^\circ} = \frac{1}{(3,1896\,\text{\AA})^2 \cdot \sin 60^\circ} = \underline{1,135 \cdot 10^{15}\,\text{cm}^{-2}}.$$
 (4.6)

In der Praxis wird dieser Maximalwert nicht erreicht, da die verwendeten Funktionalisierungsmoleküle aufgrund ihrer Geometrie einen größeren Anteil der Oberfläche als eine Elementarzelle des Galliumnitrids bedecken und somit nicht alle Oberflächenatome mit einem Funktionalisierungsmolekül reagieren können (vgl. Kap. 4.5.1). Dennoch sind die maximal erreichbaren Werte bei Ausbildung einer geschlossenen Monolage deutlich zu hoch, so dass im biosensorischen Kontext nicht ausreichend Raum für die Wechselwirkung der Biomoleküle verfügbar ist. Um die Oberflächendichte und somit die Eignung einer Funktionalisierungsschicht zu bestimmen, können verschiedene Methoden angewandt werden. Im Folgenden werden die beiden Techniken erläutert, die im Rahmen der Arbeit für die Abschätzung der Oberflächendichte der Funktionalisierungsschichten verwendet werden: die Bestimmung über Markeratome bei der Röntgenphotoelektronenspektroskopie sowie via Molekülgeometrie und Schichtdicke mit dem Rasterkraftmikroskop.

Bestimmung mittels XPS

In Kapitel 4.2.4 ist dargelegt, dass bei der Röntgenphotoelektronenspektroskopie ein Spektrum der Bindungsenergien von Elektronen aufgenommen wird, in welchem das Energieniveau der beobachteten Peaks charakteristisch für bestimmte chemische Elemente auf der Probenoberfläche und seine Bindungsverhältnisse ist. Darüber hinaus kann aus diesem Spektrum noch eine weitere Information gewonnen werden: eine quantitative Abschätzung der Elementhäufigkeit.

Grundlage dieser Bestimmung ist, dass die Anzahl der Elektronen in einem bestimmten Bindungsenergieintervall proportional zur Anzahl der entsprechenden Orbitale auf der Probenoberfläche ist. Aus der Fläche eines Orbitalpeaks kann daher, nach Abzug des Hintergrundsignals und Gewichtung mit einem Faktor, der Wirkungsquerschnitt und Asymmetrieparameter des Orbitals sowie die Anregungsdosis berücksichtigt, die Anzahl der entsprechenden Atome auf der analysierten Probenfläche ermittelt werden. Die auftretende Verringerung der Fläche der Detektionspeaks durch die begrenzte Austrittstiefe aus der Probe muss im vorliegenden Fall nicht betrachtet werden, da die zu analysierenden Markeratome in den Funktionalisierungsmolekülen meist unmittelbar an der Oberfläche (d < 1 nm) vorliegen. Die Bestimmung von Flächendichten mittels XPS ist seit Jahrzehnten eine etablierte Methode. Bei der Charakterisierung im Rahmen dieser Arbeit weist sie jedoch einige Nachteile gegenüber der Bestimmung mit AFM auf:

- Es können keine beliebig kleinen Proben analysiert werden. Da der anregende Röntgenstrahl nicht punktuell fokussiert werden kann, muss die Probe mindestens $1 \times 1 \text{ cm}^2$ groß sein. Die Analyse von Funktionalisierungen auf Transistoren, bei denen der Großteil der Oberfläche passiviert ist, ist somit nicht möglich.
- Die Nachweisgrenze ist stark limitiert. Atome können mit XPS bis zu einem Mengenanteil von etwa 0,1% vor dem Hintergrund nachgewiesen werden. Auf einer GaN-Oberfläche entspricht dies bei einer Informationstiefe von 5 nm etwa einer Oberflächendichte von 10¹³ cm⁻². Quantitative Auswertungen nahe dieser Nachweisgrenze sind äußerst unzuverlässig, die Methode ist daher für nur Oberflächendichten bis etwa 10¹⁴ cm⁻² sinnvoll.
- XPS-Messungen sind logistisch aufwändiger als AFM-Untersuchungen.

Aufgrund der genannten Punkte wird die Bestimmung mittels XPS nur einmalig zur Verikation eines ermittelten Wertes aus den AFM-Experimenten verwendet. Auf einer mit einer dichten Monolage von Funktionalisierungsmolekülen versehenen Probe wird mit dieser Methode eine Funktionalisierungsdichte von $3,4 \cdot 10^{14} \text{ cm}^{-2}$ ermittelt.

Bestimmung mittels AFM

In der Praxis besser geeignet ist die Bestimmung der Oberflächendichte über die mittels AFM bestimmte Dicke der Funktionalisierungsschicht (vgl. Kap. 4.2.3) und das Volumen der Funktionalisierungsmoleküle (Kap. 4.1.1 & 4.1.2). Grundlage der Abschätzung ist dabei die Annahme, dass das Volumen, welches ein Funktionalisierungsmolekül einnimmt, vor (in der flüssigen Phase) und nach der Funktionalisierung (in Submonolage auf der Halbleiteroberfläche gebunden) annähernd konstant ist.

Mit der Volumenformel für den allgemeinen Zylinder (Gl. 4.7) kann diesem Volumen V_{mol} über die gemessene Schichtdicke der Funktionalisierung *d* eine korrespondierende Fläche A_{mol} zugeordnet werden (Abb. 4.8).

$$V_{\rm mol} = A_{\rm mol} \cdot d. \tag{4.7}$$

Die Funktionalisierungsdichte entspricht dem Kehrwert dieser Fläche (Gl. 4.8):

$$\sigma = \frac{1}{A_{\rm mol}} = \frac{d}{V_{\rm mol}}.$$
(4.8)

Zur Demonstration der Methode wird sie für die Probe exemplarisch durchgeführt, deren Schichtdicke in Kapitel 4.2.3 und deren Funktionalisierungsdichte mit XPS in Kapitel 4.2.5 bestimmt wurde (Gl. 4.9):

$$\sigma = \frac{d}{V_{\text{mol}}} = \frac{1.64 \text{ nm}}{4.29 \cdot 10^{-22} \text{ cm}^3} = \underline{3.82 \cdot 10^{14} \text{ cm}^{-2}}.$$
(4.9)

Der ermittelte Wert stimmt gut mit dem aus der XPS-Bestimmung gewonnenen Wert von $3,4 \cdot 10^{14}$ cm⁻² überein; die Methode ist demnach gut zur Bestimmung der Funktionalisierungsdichte geeignet.


Abb. 4.8.: Modell zur Abschätzung der Funktionalisierungsdichte: Das Funktionalisierungsmolekül (hier TFAAD) wird als allgemeiner Zylinder angenähert. Die Moleküldichte als inverser Wert der Grundfläche des Zylinders entspricht dem Quotienten von Schichtdicke und Volumen des Moleküls.

4.3. Photochemische Funktionalisierung von Galliumnitrid mit 1-Alkenen

Die photochemische Funktionalisierung von Galliumnitrid mit 1-Alkenen basiert auf einem Artikel von Kim *et al.* [41], in dem erstmals die erfolgreiche Funktionalisierung von Galliumnitrid mit TFAAD (Kap. 4.1.1) beschrieben wird. Der Ansatz, Alkene zur Funktionalisierung von Halbleitern zu verwenden, wurde schon zuvor auf anderen Materialien wie Silizium [126] und Diamant [110] erfolgreich eingesetzt. Im Rahmen dieser Arbeit wurde dieser Prozess für die Funktionalisierung auf Transistoren adaptiert, weitergehend analysiert und optimiert.

4.3.1. Funktionalisierungsprozess

Probenvorbereitung

Eine Wasserstoffterminierung der Galliumnitridoberfläche mit konzentrierter Schwefelsäure und Wasserstoffperoxid wie von Kim dargestellt [41], ist für eine erfolgreiche Funktionalisierung nicht erforderlich. Jedoch weisen Schichten, die ohne Vorbehandlung direkt auf Galliumnitrid gewachsen werden, Partikel auf (Abb. 4.9a). Homogene Funktionalisierungsschichten sind so nicht realisierbar.

Bei unfunktionalisierten Galliumnitridoberflächen können nach einiger Lagerungszeit ebenfalls solche Partikel gefunden werden (Abb. 4.9b), die sich in der XPS-Analyse durch ein starkes Kohlenstoffsignal zeigen (Abb. 4.10a). Um diese Verunreinigungen zu entfernen, wird der Chip vor dem eigentlichen Funktionalisierungsprozess in ein Bad mit 2% Flusssäure gegeben. Nach 120 s Einwirkzeit und einem anschließenden Spülvorgang mit



Abb. 4.9.: Oberflächenvorbehandlung mit 2% Flusssäure (AFM). a) Erfolgreiche Funktionalisierung ohne HF-Vorbehandlung ist möglich, allerdings existieren Partikel auf der Oberfläche: R_{rms} = 1,51 nm, b) GaN-Oberfläche mit Partikeln nach längerer Lagerzeit: R_{rms} = 0,44 nm, c) HF-behandelte GaN-Oberfläche: R_{rms} = 0,15 nm

deionisiertem Wasser sind die Verunreinigungen beseitigt, ohne die Halbleiteroberfläche zu beschädigen (Abb. 4.9c).

Das HF-Bad reinigt die Oberfläche nicht nur von organischen Verunreinigungen, sondern sorgt auch für eine teilweise Wasserstoffterminierung der Oberfläche. Dies zeigt sich im Sauerstoffsignal bei der XPS-Analyse der beiden Proben (Abb. 4.10b). Die Fläche des O 1s-Peaks verringert sich um 43,9%.



Abb. 4.10.: Oberflächenvorbehandlung mit 2% Flusssäure (XPS). a) Die unbehandelte Oberfläche zeigt einen deutlichen Kohlenstoffpeak (C1s), der auf organische Verunreinigungen hindeutet. Nach der HF-Behandlung sind diese Verunreinigungen auf ein Minimum reduziert. b) Der Sauerstoffpeak (O1s) zeigt, dass die Oberfläche nach der HF-Behandlung weniger Sauerstoff aufweist als vorher.

Photochemische Anbindung

Die photochemische Funktionalisierung der Oberfläche mit dem 1-Alken wird unmittelbar nach der Probenvorbereitung durchgeführt.

Auf die Ga-face Galliumnitridoberfläche (0001) wird zunächst ein 2 μ l Tropfen des flüssigen Funktionalisierungsmoleküls (z. B. TFAAD, 5-Bromo-1-penten) gegeben. Da die Flüssigkeit die Oberfläche im Regelfall nur unzureichend benetzt, wird ein Deckplättchen auf dem Tropfen platziert, woraufhin sich ein gleichmäßiger, bei TFAAD etwa 0,7 μ m

dicker Flüssigkeitsfilm [73] zwischen den Oberflächen ausbildet. Für die photochemische Reaktion ist dabei die Transparenz des Plättchens im ultravioletten Spektralbereich um 254 nm wichtig, gut geeignet sind beidseitig polierte Saphirchips.

Das Paket aus zu funktionalisierender Probe, 1-Alken und Decksaphir wird in den Funktionalisierungsreaktor gegeben. Dieser wird im Anschluss licht- und luftdicht geschlossen und im Reaktor eine Stickstoffatmosphäre aufgebaut, um unerwünschte Ozonbildung aus Luftsauerstoff zu vermeiden. Diese resultiert aus der UV-induzierten Photodissoziation von Sauerstoffmolekülen ($O_2 \rightarrow 2 O \cdot$) [127], wenn die produzierten Sauerstoffradikale mit weiteren Sauerstoffmolekülen reagieren ($O_2 + O \cdot \rightarrow O_3$).

Nun wird die UV-Quelle eingeschaltet und die Probe mit hochenergetischer UV-Strahlung $(\lambda = 254 \text{ nm})$ belichtet. In einer photochemischen Reaktion wird dabei das Funktionalisierungsmolekül mit dem C=C-Doppelbindungsende kovalent an die Halbleiteroberfläche gebunden (vgl. Kap. 2.3). Die Reaktion startet zunächst langsam und beschleunigt sich dann, bevor sie nach bei Ausbildung einer geschlossenen Monolage selbst terminiert (Abb. 4.11).



Abb. 4.11.: Messung der Kinetik der photochemischen Anbindung von TFAAD auf HF-behandelten, GaN/AlGaN/GaN-Heterostrukturen. Das maßstabsgetreue Modell eines TFAAD-Moleküls rechts in der Abbildung dient zum Größenvergleich.

Die Reaktionsgeschwindigkeit ist dabei stark von der Probenhistorie abhängig. Während GaN/AlGaN/GaN-Heterostrukturen aus der MOCVD ohne weitere Prozessierung etwa 120 min Belichtungszeit benötigen, um eine geschlossenen Monolage auszubilden, wird diese bei fertig prozessierten HEMTs bereits nach 30 min erreicht (Abb. 4.11).

Nach der Funktionalisierungsreaktion wird die Probe in Chloroform und Isopropanol gereinigt und mit Stickstoff getrocknet. Sie kann direkt im Anschluss für die Biofunktio-

nalisierung (Kap. 4.6) weiter prozessiert werden, ist aber in diesem Zustand auch sehr stabil und kann über mehrere Monate gelagert werden.

4.3.2. Kritische Prozessparameter

Im Rahmen der Optimierung des Funktionalisierungsprozesses ist aufgefallen, dass bei direkter Belichtung mit der Hg/Xe-Hochdrucklampe keine Selbstterminierung nach Ausbildung einer Monolage stattfindet. Stattdessen werden deutlich dickere Schichten gebildet (Abb. 4.12).



Abb. 4.12.: Funktionalisierungsschicht ohne UG11-Filter. a) Teilweise freigelegte Halbleiteroberfläche, b) Höhenverteilung.

Durch den Einbau eines für hochenergetische UV-Strahlung mit einer Wellenlänge von $\lambda < 240 \text{ nm}$ intransparenten Filters (Schott UG11) in den Strahlengang zwischen UV-Quelle und Probe kann dieser Reaktionsverlauf unterdrückt und die gewünschte Ausbildung der (Sub-)Monolage erreicht werden.

Zur Erklärung dieses Verhaltens dienen die Ergebnisse aus der dichtefunktionaltheoretischen Simulation des TFAAD-Moleküls (Kap. 4.1.1). In diesen zeigt sich, dass Elektronen im Bereich der C=C-Doppelbindung mit einer Energie von 5,2 eV angeregt werden können. Diese Anregung kann durch Photonen mit mindestens gleichhoher Energie herbeigeführt werden, was gleichbedeutend mit einer Bestrahlung mit ultraviolettem Licht mit einer Wellenlänge von $\lambda \leq 238$ nm ist. In diesem Zustand kann die Bindung leicht gespalten und eine radikalische Polymerisation initiiert werden [128], welche die Entstehung dickerer Schichten erklären kann.

Das Emissionsspektrum der Hg/Xe-Hochdrucklampe beinhaltet derartig hochenergetische Anteile. Durch das UG11-Filter werden diese Spektralanteile herausgefiltert, es bleibt ein Transmissionsspektrum, mit dem die Anregung der C=C-Doppelbindung des TFAAD-Moleküls nicht mehr möglich ist, ein ausreichender Anteil der für die gewünschte Reaktion notwendigen Strahlung im Bereich um 254 nm jedoch weiterhin vorhanden ist (Abb. 4.13).



Abb. 4.13.: UV-Spektren im Funktionalisierungsreaktor. Das Emissionsspektrum der Hg/Xe Hochdrucklampe weist einen hochenergetischen Spektralanteil von $\lambda < 240$ nm auf. Durch das Schott UG11 Filter wird dieser Spektralanteil annähernd total blockiert, während die für die gewünschte Reaktion nötige Strahlung mit Wellenlängen um $\lambda = 254$ nm lediglich um etwa eine Größenordnung abgeschwächt wird.

4.4. Thermische Funktionalisierung von Galliumnitrid mit 1-Alkenen

Die photochemische Funktionalisierung von Galliumnitrid mit 1-Alkenen ermöglicht es prinzipiell, eine sehr gut geeignete Schnittstelle für organische Chemie auf Galliumnitridoberflächen für Sensoranwendungen zu realisieren. Bei der Durchführung des Prozesses auf dem HEMT zeigen sich aber auch Einflüsse der Funktionalisierung auf die Eigenschaften des zweidimensionalen Elektronengases in Gestalt eines unerwünschten, bis zu mehreren Tagen persistenten Photostroms [103]. Da dieser aus der UV-Belichtung resultiert, wurde ein alternativer Prozess entwickelt, der zu einer identischen Oberflächenfunktionalisierung führt, dabei aber ohne UV-Belichtung auskommt.

Die grundlegende Idee bei der Entwicklung dieser alternativen Funktionalisierungsmethode ist, die für die Reaktion nötige Energie nicht durch Photonen, sondern aus der Umgebung in Form von Wärme bereitzustellen. Dass dieser Ansatz prinzipiell geeignet ist, um Oberflächen mit 1-Alkenen zu funktionalisieren, zeigten erstmals Hoeb et al. auf Diamant [42]. Im Zuge der Arbeit wurde dieser Ansatz erstmals für die Funktionalisierung von Galliumnitrid durchgeführt.

4.4.1. Funktionalisierungsprozess

Probenvorbereitung

Bei der Probenvorbereitung zeigen sich die gleichen Phänomene wie bei der photochemischen Funktionalisierung (Kap. 4.3). Auch hier ist für eine erfolgreiche Funktionalisierung eine Wasserstoffterminierung der Oberfläche – im Gegensatz zur Funktionalisierung von Diamant [42] – nicht nötig, allerdings führt der Prozess dann ebenfalls zu inhomogenen Funktionalisierungsschichten (Abb. 4.14).



Abb. 4.14.: Thermische Funktionalisierung ohne HF-Vorbehandlung (AFM): Wie bei der thermischen Funktionalisierung ergibt sich auch hier eine inhomogene, raue Funktionalisierungsschicht ($R_{\rm rms} = 2,50$ nm).

Um dieses Problem zu beheben, erfolgt analog zum photochemischen Prozess vor der thermischen Funktionalisierung ebenfalls ein Reinigungsschritt durch ein zweiminütiges Bad in 2% Flusssäure.

Thermische Anbindung

Die thermische Funktionalisierung mit dem 1-Alken erfolgt unmittelbar nach der Probenvorbereitung. Zunächst wird ein speziell angefertigter Probenhalter mit der Funktionalisierungsflüssigkeit befüllt und der Chip mit der Ga-face Oberfläche (0001) in Kontakt mit der Flüssigkeit gebracht. Je nach zu funktionalisierender Fläche kann dabei zwischen zwei verschiedenen Konfigurationen gewählt werden: Sowohl großflächige Funktionalisierungen (limitiert durch Reservoirgeometrie, im Rahmen dieser Arbeit bis $10 \times 10 \text{ mm}^2$) als auch kleinere Flächen mit geringerem Verbrauch an Funktionalisierungsmolekülen ($\approx 3 \,\mu$ I) sind möglich (Abb. 4.15).

Beim Verschließen des Probenhalters muss darauf geachtet werden, dass das Flüssigkeitsreservoir keine Lufteinschlüsse aufweist und durch eine feste Verschraubung hermetisch abgedichtet ist, da eine erfolgreiche Funktionalisierung ansonsten nicht möglich ist (Kap. 4.4.2).

Der bestückte Probenhalter wird nun in einen auf 180° C vorgeheizten Vakuumofen gegeben und der Ofen wird anschließend mit einer Membranpumpe auf einen Druck von p < 70 Pa evakuiert. Nun findet die Funktionalisierungsreaktion statt; das 1-Alken wird



Abb. 4.15.: Probenhalter für die thermische Funktionalisierung: Je nach Bedarf kann die Probenoberfläche teilweise (a) oder komplett (b) funktionalisiert werden.

mit durch eine Additionsreaktion an der C=C-Doppelbindung kovalent an die Galliumnitridoberfläche angebunden (Abb. 4.16a).

Nach Ablauf der Reaktion wird der Ofen belüftet, der Probenhalter entnommen und auf einer feuerfesten Unterlage einige Minuten abgekühlt. Anschließend wird die Probe entnommen und mit Chloroform und Isopropanol gereinigt. Entsprechend den photochemisch funktionalisierten Proben können auch thermisch prozessierte Oberflächen sowohl unmittelbar biofunktionalisiert (Kap. 4.6) als auch über mehrere Monate hinweg gelagert werden.

4.4.2. Kritische Prozessparameter

Eine Bedingung für einen erfolgreichen thermischen Funktionalisierungsprozess ist, dass sich keine Lufteinschlüsse im Reaktionsraum befinden. Eventuell vorhandener Luftsauerstoff führt zu Oxidationsreaktionen in der Funktionalisierungsflüssigkeit, wodurch andere chemische Reaktionsmechanismen auftreten. Funktionalisierungsschichten mit den gewünschten Dichten im (Sub-)Monolagenbereich können so nicht erreicht werden. Eine mit Lufteinschluss im Reaktionsraum funktionalisierte Probe kann leicht erkannt werden. Zum einen zeigt sich die oxidierte Flüssigkeit nach der Reaktion braun getrübt; zum anderen ist mit dem Rasterkraftmikroskop die Bildung einer Multilage zu erkennen (Abb. 4.16b).



Abb. 4.16.: Thermisch funktionalisierte Galliumnitridoberflächen (AFM): a) Erfolgreich funktionalisierte, homogene Oberfläche (d = 0,50 nm; $R_{\rm rms} = 0,29$ nm), b) aus Lufteinschluss resultierende, raue Multilage (d = 29,2 nm; $R_{\rm rms} = 2,50$ nm), c) unvollständige Funktionalisierungsschicht aufgrund einer nicht hermetischen Abdichtung des Probenhalters ($R_{\rm rms} = 1,29$ nm)

Eine nicht hermetisch verschlossene Probenhalterung resultiert ebenfalls in einer ungeeigneten Funktionalisierung. Auch hier können eventuell aufgetretene Probleme direkt nach dem Funktionalisierungsprozess erkannt werden: Da die Prozesstemperatur (180°C) oberhalb der Siedetemperatur der 1-Alkene (z. B. 5-Bromo-1-penten: 126–127°C [129]) liegt, verdampft die Flüssigkeit unmittelbar nach Reaktionsbeginn und entweicht aus dem undichten Reservoir. Dementsprechend zeigt sich in diesem Fall nach dem Prozess ein leeres Reservoir in der Probenhalterung, während bei einer erfolgreichen Funktionalisierung noch Flüssigkeit vorgefunden werden kann. Im Rasterkraftmikroskop zeigt sich bei nicht hermetischem Verschluss eine unvollständige Funktionalisierungsschicht, oft mit Agglutinationen (Abb. 4.16c).

4.5. Vergleich der Funktionalisierungsprozesse

4.5.1. Morphologie der Funktionalisierungsschichten

Die rasterkraftmikroskopischen Untersuchungen der Funktionalisierungsschichten zeigen, dass beide Prozesse geeignet sind, um (Sub-)Monolagen von TFAAD-Molekülen auf der Oberfläche anzubinden (Abb. 4.18).

An Luft zeigen alle Funktionalisierungsschichten mehr oder weniger ausgeprägte Agglutinationen und Substrukturen. Dies lässt sich darauf zurückführen, dass sich die einzelnen Moleküle aufgrund intermolekularer Wechselwirkungen anziehen. Die ermittelten Schichtdicken bei erfolgreichen Funktionalisierungsprozessen mit TFAAD liegen je nach Reaktionszeit zwischen der Nachweisgrenze der Schichtdickenbestimmung bei etwa 0,10 nm und dem Bereich der Moleküllänge der TFAAD-Moleküle bei 1,80 nm, was Moleküldichten zwischen $\sigma = 2,3 \times 10^{13}$ cm⁻² und $4,2 \times 10^{14}$ cm⁻² entspricht. Vergleicht man dies mit der Anzahl der potenziellen Bindungsstellen $1,135 \cdot 10^{15}$ cm⁻², so zeigt sich, dass maximal an jede 3. Bindungsstelle ein Molekül angebunden werden kann. Dieser Wert kann durch die Geometrie der TFAAD-Moleküle erklärt werden: Der Abstand zweier benachbarter Bindungsstellen entspricht dem Gitterparameter a = 3,1896 Å [98], der Abstand zum übernächsten Nachbarn auf der Oberflächenebene beträgt 5,5245 Å. Der



Abb. 4.17.: Schematische Darstellung der TFAAD-Anbindung auf Galliumnitrid: Bei dichtestmöglicher Packung der TFAAD-Moleküle kann nur jede dritte potentielle Bindungsstelle besetzt werden.



Abb. 4.18.: Morphologie von TFAAD-Funktionalisierungsschichten (AFM): a) Eine Submonolage von TFAAD auf Galliumnitrid, hergestellt durch photochemische Funktionalisierung. Die Schichtdicke beträgt 0,20 nm, entsprechend einer Dichte von 4,6 × 10¹³ cm⁻². b) Eine Submonolage von TFAAD auf Galliumnitrid, hergestellt durch thermische Funktionalisierung. Die Schichtdicke beträgt 0,50 nm, dies entspricht einer Dichte von 1,2 × 10¹⁴ cm⁻².

charakteristische Durchmesser der TFAAD-Moleküle liegt mit d = 5,3 Å (vgl. Kap. 4.1.1) dazwischen. In diesem Fall kann, wie schematisch in Abb. 4.17 dargestellt, nur jede dritte Bindungsstelle belegt werden.

4.5.2. Chemische Oberflächenanalyse

Auch die chemische Oberflächenanalyse zeigt deutlich, dass die Funktionalisierung sowohl mit dem thermischen als auch mit dem photochemischen Funktionalisierungsprozess ordnungsgemäß ablaufen kann. Dies geht aus röntgenphotoelektronenspektroskopischen Analysen unterschiedlich funktionalisierter Proben und nichtfunktionalisierter Referenzproben hervor.

Um genauere Ergebnisse zu erhalten, wird anstelle von TFAAD für diese Versuche 5-Bromo-1-penten (Kap. 4.1.2) als Funktionalisierungsmolekül verwendet. Dieses Molekül hat bei der chemischen Analyse gegenüber dem TFAAD den Vorteil, dass es keine inhärenten Sauerstoff- und Stickstoffatome besitzt. Änderungen im Signal der Sauerstoffoder Stickstoffatome der teilweise oxidierten Galliumnitridoberfläche, welche im Zuge der Funktionalisierungsreaktion auftreten können, werden somit nicht von Peaks aus dem Funktionalisierungsmolekül überlagert. Darüber hinaus enthält es auch weniger Kohlenstoff, so dass Peakverschiebungen aufgrund einzelner geänderter Bindungen einfacher zu detektieren sind und die Signale des unter der Funktionalisierungsschicht liegenden Galliumnitrids weniger stark abgeschwächt werden.



Abb. 4.19.: Übersichtsspektrum XPS-Analyse: Es werden auf allen Proben Gallium, Stickstoff, Aluminium, Kohlenstoff und Sauerstoff detektiert, auf einzelnen Proben Silizium, Brom und Zink.

Zur chemischen Analyse werden XPS-Messungen an einer HF-behandelten, einer photochemisch und einer thermisch mit 5-Bromo-1-penten funktionalisierten GaN/AlGaN/GaN-Heterostruktur auf einem Siliziumcarbidsubstrat durchgeführt. Die mit AFM ermittelte Schichtdicke beträgt dabei 0,53 nm bei der photochemisch und 0,24 nm bei der thermisch funktionalisierten Probe, es liegen also Submonolagen des Funktionalisierungsmoleküls vor.

Als Röntgenquelle dient ein monochromatischer Al K_{α} Strahler mit einer Photonenenergie von 1486,6 eV. Auf den Proben können Elementpeaks von Gallium, Stickstoff, Aluminium, Sauerstoff, Kohlenstoff, sowie teilweise Brom, Silizium und Zink nachgewiesen werden (Abb. 4.19, Tab. 4.1 & 4.2).

Gallium



Abb. 4.20.: XPS-Analyse der a) Gallium 3s- und b) Stickstoff 1s-Peaks

Gallium kann durch den Ga 3s-Peak sowohl auf unfunktionalisierten Proben als auch auf thermisch und photochemisch funktionalisierten Oberflächen nachgewiesen werden (Abb. 4.20a). Der Nachweis von Gallium auf der ausschließlich HF-behandelten Probe gelingt wie erwartet, da die Probenoberfläche dort aus Galliumnitrid besteht. Die Existenz des Galliumpeaks im Spektrum der funktionalisierten Proben lässt darauf schließen, dass die Funktionalisierungsschicht auf dem Halbleitermaterial sehr dünn ist. Die maximale Austrittstiefe der Elektronen liegt im Bereich einiger Nanometer, die Flächen der Ga 3s-Peaks sind trotzdem nur um 39,2% (photochemisch) bzw. 41,0% (thermisch funktionalisiert) kleiner als bei der unfunktionalisierten Probe. Da die Funktionalisierung kein Gallium enthält, muss sie dünner als die maximale Austrittstiefe sein, um Gallium aus der Heterostruktur nachweisen zu können. Diese Beobachtung deckt sich mit der rasterkraftmikroskopischen Bestimmung der Schichtdicke, die für die Proben Submonolagen von 0,18 nm (photochemisch) bzw. 0,24 nm (thermisch funktionalisiert) ergibt.

Die Bindungsenergien der Ga 3s-Peaks liegen nahezu identisch bei 161,4 eV (HF-behandelt, photochemisch funktionalisiert) bzw. 161,3 eV (thermisch funktionalisiert) und damit etwa 1,0 - 1,3 eV über dem erwarteten Wert von 160,1 - 160,3 eV [123]. Diese Verschiebung ist durch Aufladungseffekte der Probe in Folge der Röntgenbestrahlung zu erklären: Die Proben werden positiv geladen, somit steigt die Bindungsenergie an.

Stickstoff

Ein vergleichbares Verhalten zeigt sich beim Stickstoff. Da der erwartete N 2s-Peak bei 14,2 eV [123] vor dem Hintergrund von Valenzelektronensignalen nicht identifiziert werden kann, wird der teilweise von Ga-LMM-Augerelektronen überlagerte N 1s-Peak verwendet. Hier ist das Signal bei den funktionalisierten Proben um 46,7% (photochemisch) bzw. 55,3% (thermisch) schwächer als bei der HF-behandelten (Abb. 4.20b). Dies ist ein weiterer Beleg für die Existenz einer sehr dünnen Funktionalisierung, da das hier verwendete Funktionalisierungsmolekül 5-Bromo-1-penten keinen Stickstoff enthält, das Signal also von der darunterliegenden Galliumnitridschicht stammt.

Die ermittelten Bindungsenergien der Elektronen liegen für alle Proben bei 398,2 eV. Im Vergleich zu den Literaturwerten von 397,0 - 397,1 eV [123] tritt also auch hier eine aufladungsinduzierte Erhöhung der Bindungsenergien von 1,1 - 1,2 eV auf.

Aluminium



Abb. 4.21.: XPS-Analyse der a) Aluminium 2p- und b) Sauerstoff 1s-Peaks

Aluminium aus der Al_{0,29}Ga_{0,71}N Barriere, die 3 nm unter der Halbleiteroberfläche beginnt, kann über den Al 2p-Peak ebenfalls in allen Proben nachgewiesen werden (Abb. 4.21a). Analog zum Verhalten bei Gallium und Stickstoff wird auch hier eine Minderung der Signalintensität bei den funktionalisierten Proben um 56% (photochemisch) bzw. 83% (thermisch) beobachtet.

Die Bindungsenergien der Elektronen werden mit 74,7 eV (HF-behandelt), 74,6 eV (photochemisch) bzw. 74,4 eV (thermisch funktionalisiert) bestimmt. Ein Vergleich mit direkten Referenzwerten gestaltet sich schwierig, da es keine Daten für eine ternäre Verbindung dieser Zusammensetzung gibt. Alternativ kann der Vergleich mit dem Al 2p-Peak von Aluminiumnitrid (70,4 – 73,1 eV [123]) gezogen werden, der vergleichbare Bindungsverhältnisse aufweist. Dieser lässt ebenfalls eine durch Aufladung verursachte Verschiebung des Peaks zu höheren Energien hin erkennen.

Sauerstoff

Auch Sauerstoff ist auf allen Proben nachweisbar (Abb. 4.21b). Bei der HF-behandelten Probe, die unmittelbar nach dem HF-Prozess gemessen wurde, zeigt dies, dass eine homogene, vollständige Wasserstoffterminierung durch den Prozess nicht erfolgt oder die

Oberfläche durch anschließenden Kontakt mit Luftsauerstoff unmittelbar wieder teilweise oxidiert wird. Da ein Kontakt der Oberfläche mit Luftsauerstoff auch bei den Funktionalisierungsprozessen nicht vermeidbar ist, lässt dies darauf schließen, dass in diesem Fall ebenfalls eine teiloxidierte Oberfläche vorliegt.

Die O 1s Subpeaks der HF-behandelten Probe liegen bei 532,4 eV sowie 533,9 eV und weisen eine Halbwertsbreite von 1,89 eV bzw. 1,56 eV auf. Bei Annahme einer ähnlichen Verschiebung der Peaks wie bei den Gallium- und Stickstoffpeaks von etwas mehr als 1 eV können die Peaks mit O-Ga-Bindungen (Ga₂O₃: 529,8 – 531,3 eV [123]) bzw. O-C-Bindungen (z. B. $(-(CH_2)_4-O-)_n$: 532,5 eV [123]) identifiziert werden. Letztere können dabei von geringfügig verbleibenden organischen Verunreinigungen stammen (vgl. Analyse des C 1s-Peaks).

Bei den funktionalisierten Proben ist der O-Ga-Peak ebenfalls erkennbar (jeweils bei 532,9 eV, Halbwertsbreite 2,30 eV) und 50,7 bzw. 49,2% größer als bei der HF-behandelten Probe, was für eine weitere Oxidation der Oberfläche durch Kontakt mit Luftsauerstoff spricht. Der O-C-Peak bei 533,3 eV (photochemisch, Halbwertsbreite 0,89 eV) bzw. 533,2 eV (thermisch funktionalisiert, Halbwertsbreite 0,93 eV) ist in beiden Fällen nochmals deutlich stärker ausgeprägt als bei der HF-behandelten Probe (+239 bzw. +246%). Diese Ergebnisse unterstützen die Annahme, dass bei der Funktionalisierung neue O-C-Bindungen erzeugt werden. Die Lage des O-C-Subpeaks bei höheren Bindungsenergien im Vergleich zum O-Ga-Peak deckt sich dabei mit der Tatsache, dass Kohlenstoff im Vergleich zu Gallium der stärker elektronegative Bindungspartner ist ($\chi_{\rm C} = 2,6, \chi_{\rm Ga} = 1,8$ [108]).

Kohlenstoff



Abb. 4.22.: XPS-Analyse der a) Kohlenstoff 1s- und b) Brom 3d-Peaks

Auch Kohlenstoff kann auf allen untersuchten Proben nachgewiesen werden (Abb. 4.22a). Auf der HF-behandelten Probe ist der C1s-Peak relativ schwach ausgeprägt. Er kann dabei in zwei Subpeaks aufgeteilt werden: Ein Peak bei 285,8 eV mit einer Halbwertsbreite von 1,23 eV, der nach Berücksichtigung der Aufladungseffekte als C-C-Bindung interpretiert werden kann (Literaturwerte 284,3 – 284,7 eV [123]), sowie ein höherenergetischer Peak bei 286,6 eV mit einer Halbwertsbreite von 1,84 eV, der analog C-O-Bindungen zugeordnet werden kann (Referenzwert z. B. $(-(CH_2)-O-)_n$: 284,8 – 286,4 eV [123]). Die Quelle für diese Kohlenstoffsignale kann nicht sicher bestimmt werden, möglich sind Lösemittelreste oder sonstige organische Verunreinigungen auf der Oberfläche. Beide Subpeaks können auch auf den funktionalisierten Proben gefunden werden. Der höherenergetische C-O-Peak ist dabei nach beiden Funktionalisierungsprozessen jeweils stärker ausgeprägt als zuvor (photochemisch +66,1%, bei 286,4 eV, Halbwertsbreite 1,96 eV; thermisch +132%, bei 286,8 eV, Halbwertsbreite 2,23 eV), was zusätzlich zu den Beobachtungen beim O 1s-Peak für die Ausbildung neuer C-O-Bindungen spricht.

Der C–C-Peak ist ebenfalls bei beiden Proben deutlich stärker erkennbar (jeweils bei 285,7 eV; photochemisch +609%, Halbwertsbreite 1,02 eV; thermisch +753%, Halbwertsbreite 1,03 eV). Grund für die deutliche Steigerung sind die auf der Oberfläche angebundenen Kohlenstoffketten des Funktionalisierungsmoleküls 5-Bromo-1-penten.

Brom

Brom, das ursprünglich als Marker zur Quantifizierung der Funktionalisierungsdichte dienen sollte, kann nur auf der thermisch funktionalisierten Probe in geringen Mengen nachgewiesen werden (Abb. 4.22b). Für die Quantifizierung kann der Brompeak daher nicht verwendet werden, er ermöglicht dafür Aussagen über das Energieniveau, dem die Moleküle während der Reaktion ausgesetzt sind.

Der Nachweis auf der thermisch funktionalisierten Probe ist aufgrund des im Funktionalisierungsmoleküls vorhandenen Broms plausibel – ebenso die Nichtexistenz auf der HF-behandelten Probe. Die Abwesenheit auf der photochemisch funktionalisierten Probe bedarf dagegen einer genaueren Betrachtung.

Die C-Br-Bindung ist mit einer Bindungsenergie von 285 kJ mol⁻¹ [108], entsprechend 2,95 eV, eine sehr schwache kovalente Bindung. Bei der photochemischen Funktionalisierung wird diese Bindung mit UV-Strahlung bis 240 nm bestrahlt, was nach Gleichung 4.10 einer Photonenenergie von 5,17 eV entspricht.

$$E = h \cdot \nu = h \cdot \frac{c}{\lambda} = 4,135667516 \cdot 10^{-15} \text{ eV s} \cdot \frac{299792458 \text{ m s}^{-1}}{240 \text{ nm}} = \underline{5,17 \text{ eV}}.$$
 (4.10)

Die Photonenenergie ist also ausreichend, um das Brom vom Funktionalisierungsmolekül abzuspalten, das Fehlen des Bromsignals bei der Röntgenphotoelektronenspektroskopie kann dadurch erklärt werden.

Bei der thermischen Funktionalisierung ist die kinetische Energie der Funktionalisierungsmoleküle die entscheidende Größe. Für 5-Bromo-1-penten, ein nichtlineares Molekül mit 15 Atomen und entsprechend 45 Freiheitsgraden beträgt diese bei 180°C nach Gleichung 4.11 0,88 eV:

$$\langle E_{\rm kin} \rangle = \frac{f}{2} \cdot k_{\rm B}T = \frac{45}{2} \cdot 8,617332478 \cdot 10^{-5} {\rm eV} {\rm K}^{-1} \cdot 453,15 {\rm K} = \underline{0,88 {\rm eV}}.$$
 (4.11)

Die kinetische Energie der Funktionalisierungsmoleküle ist also nicht ausreichend zur Spaltung der C-Br-Bindung, was die Existenz des Brom-Peaks im XPS-Spektrum erklärt.

Silizium

Auf den beiden funktionalisierten Proben wird der Si 2s-Peak bei jeweils 154,4 eV erkannt (Abb. 4.23a). Das SiC-Substrat kann dabei als Quelle des Siliziums ausgeschlossen werden, da der entsprechende Peak auf der HF-behandelten Probe, die ebenfalls auf einem



Abb. 4.23.: XPS-Analyse der a) Silizium 2s- und b) Zink 2p-Peaks

SiC-Substrat gewachsen wurde, nicht existiert. Eine mögliche Quelle ist eine siliziumhaltige Verunreinigung im 5-Bromo-1-penten, das bei beiden Funktionalisierungsprozessen verwendet wurde.

Zink

Auf der thermisch funktionalisierten Probe kann Zink über den Zn 2p-Peak nachgewiesen werden. Die Quelle des Zinks ist dabei vermutlich die Messingabdeckung des Probenhalters – Messing ist eine Legierung von Kupfer mit Zink.

Zusammenfassung und Interpretation

Die Beobachtungen bei den XPS-Analysen geben Aufschluss über die Vorgänge bei der Funktionalisierungsreaktion. Die wichtigsten Beobachtungen sind dabei folgende:

- Die Peaks der nur im Halbleitermaterial vorkommenden Elemente Gallium, Stickstoff und Aluminium sind nach der Funktionalisierung deutlich schwächer ausgeprägt, was für die Existenz einer Funktionalisierungsschicht mit einer Dicke, die geringer als die Nachweistiefe der XPS-Messungen ist, spricht. Diese Beobachtung deckt sich mit den AFM-Messungen der Proben, die Funktionalisierungsschichtdicken von 0,18 nm (photochemisch) bzw. 0,24 nm (thermisch) ergeben.
- Nach der Funktionalisierung werden sind die Peaks, die O-C- bzw. C-O-Bindungen zugeordnet werden können, deutlich stärker ausgeprägt. Es kann jedoch kein neuer Peak, der für die Ausbildung von Ga-C-Bindungen spricht gefunden werden. Dies führt zu der Schlussfolgerung, dass die Funktionalisierungsmoleküle über eine Ga-O-C-Kette angebunden werden. Entsprechend ist von den genannten Anbindungsmodellen in Kapitel 2.3 das von Nichols et al. publizierte Modell der Anbindung über ein Sauerstoffatom (mit der höheren Bindungsstabilität) der direkten Anbindung vorzuziehen.
- Der wichtigste Unterschied zwischen photochemischer und thermischer Funktionalisierung ist im Hinblick auf die Oberflächenchemie der fehlende Brompeak bei der photochemisch funktionalisierten Probe. Demnach ist die thermische Funktionalisierungsmethode aufgrund des geringeren Energieniveaus für weniger stabile Funktionalisierungsmoleküle besser geeignet.

Peak	HF-behandelt	photochemisch funktionalisiert	thermisch funktionalisiert	Interpretation
Ga 3s E _B Halbwertsbreite Peakfläche	161,4 eV 2,06 eV 9578	161,3 eV 1,98 eV 5823	161,3 eV 1,96 eV 5650	Ga—N
N 1s E _B Halbwertsbreite Peakfläche	398,2 eV 0,67 eV 12094	398,2 eV 0,66 eV 6439	398,2 eV 0,70 eV 5405	N–Ga
Al 2p E _B Halbwertsbreite Peakfläche	74,7 eV 1,04 eV 1389	74,6 eV 0,99 eV 616	74,4 eV 1,09 eV 241	AI-N
C 1s (1) <i>E</i> _B Halbwertsbreite Peakfläche	285,8 eV 1,23 eV 580	285,7 eV 1,02 eV 4113	285,7 eV 1,03 eV 4948	C-C
C 1s (2) <i>E</i> _B Halbwertsbreite Peakfläche	286,6 eV 1,84 eV 413	286,4 eV 1,96 eV 686	286,8 eV 2,23 eV 957	C-O
C 1s (Σ) Peakfläche	993	4799	5905	
O 1s (1) E _B Halbwertsbreite Peakfläche	532,4 eV 1,89 eV 4012	532,9 eV 2,30 eV 6046	532,9 eV 2,30 eV 5987	O–Ga
O 1s (2) E _B Halbwertsbreite Peakfläche	533,9 eV 1,56 eV 1209	533,3 eV 0,89 eV 4104	533,2 eV 0,93 eV 4188	O-C
O 1s (Σ) Peakfläche	5221	10150	10175	

Tab. 4.1.: Ermittelte XPS-Peaks funktionalisierter Proben (1/2): Bindungsenergien, Halbwertsbreiten und Peakflächen (in beliebigen Einheiten, nur zum relativen Vergleich).

Peak	HF-behandelt	photochemisch funktionalisiert	thermisch funktionalisiert	Interpretation
Br 3d E _B Halbwertsbreite Peakfläche	_	_	70,4 eV 1,36 eV 159	Br–C
Si 2s E _B Halbwertsbreite Peakfläche	_	154,4 eV 1,36 eV 905	154,4 eV 1,30 eV 731	
Zn 2p E _B Halbwertsbreite Peakfläche	_	_	1023,2 eV 1,74 eV 12786	

Tab. 4.2.: Ermittelte XPS-Peaks funktionalisierter Proben (1/2): Bindungsenergien, Halbwertsbreiten und Peakflächen (in beliebigen Einheiten, nur zum relativen Vergleich).

4.5.3. Weitere Eigenschaften

Während bei Morphologie und Oberflächenchemie nur geringe Unterschiede zwischen den Funktionalisierungsprozessen auftreten, gibt es einige weitere prozessimmanente Charakteristika, die bei der Prozessauswahl für eine bestimmte Anwendung entscheidend sein können.

Da der zentrale Schritt beim photochemischen Prozess eine Belichtung ist, liegt die Möglichkeit nahe, die Funktionalisierungsschichten mit Hilfe einer Schattenmaske photolithographisch zu strukturieren. Insbesondere Anwendungen wie Wheatstone-Brücken-Sensoren, bei denen funktionalisierte und blanke Galliumnitridoberflächen in möglichst unmittelbarer Nähe zueinander angeordnet sein sollen, können mit diesem Konzept deutlich einfacher realisiert werden.

Die Verwendung der UV-Lichtquelle im photochemischen Prozess stellt hohe Anforderungen beim Arbeitsschutz. Um Haut- und Augenschäden zu vermeiden, muss der Reaktionsraum lichtdicht sein. Darüber hinaus drohen Gefahren durch UV-induzierte Ozonbildung in der Kammer. Diesen kann durch den Aufbau einer Stickstoffatmosphäre bei gleichzeitiger Absaugung eventuell entstehenden Ozons entgegengewirkt werden. Beim thermischen Funktionalisierungsprozess treten diese Gefahren nicht auf.

4.6. Biofunktionalisierung

Die in den vorangegangenen Abschnitten analysierte Funktionalisierung von Galliumnitridoberflächen mit TFAAD bietet eine Schnittstelle, um darauf aufbauend mit Standardmethoden der organischen Chemie eine Biofunktionalisierung zu realisieren, d. h. biologische Moleküle so auf der Oberfläche anzubinden, dass sie eine gewünschte Reaktion auf bestimmte biologische Umgebungen zeigt. Im Falle von TFAAD sind drei weitere Reaktionsschritte nötig, um biologische Moleküle wie DNA oder Proteine an eine TFAAD-funktionalisierte Oberfläche anzubinden (Abb. 4.24, Anhang C.3) [41]:

- Zunächst wird die Trifluoracetyl-Schutzgruppe, die unerwünschte Reaktionen der Aminogruppe beim ersten Funktionalisierungsschritt unterbindet, mit einer Lösung von Chlorwasserstoff in Methanol entfernt.
- Unmittelbar danach wird die nun sehr reaktive Probe f
 ür 30 Minuten in L
 ösung von Sulfo-succinimidyl-4-(N-maleimidomethyl)cyclohexan-1-carboxylat in Triethanolaminpuffer gegeben. Dabei reagiert die Succinimidylgruppe des Crosslinkers SSMCC mit den nun auf der Oberfl
 äche pr
 äsenten, reaktiven Aminogruppen aus dem TFAAD-Molek
 ül.
- Die Maleimid-Gruppe des SSMCC kann nun im letzten Reaktionsschritt kovalente Bindungen zu biologischen Molekülen mit Thiolgruppen aufbauen. Dazu wird eine Lösung von Molekülen mit intrinsischen (z. B. Proteine mit Cysteinresten) oder artifiziell angebundenen Thiolgruppen (z. B. thiolmodifizierte DNA) auf die Crosslinker-funktionalisierte Oberfläche gegeben.

Der Erfolg der Biofunktionalisierung kann mit dem Rasterkraftmikroskop sowohl in Flüssigkeit als auch nach Trocknung der Oberfläche überprüft werden.

In 0.1 M Phosphatpuffer zeigt sich eine weiche Oberfläche, die sehr stark durch die AFM-Spitze beeinflusst wird (Abb. 4.25a). Dies entspricht dem erwarteten Verhalten, wenn Biomoleküle über eine flexible aliphatische Kette auf der Oberfläche angebunden sind und untereinander nicht vernetzt sind. Die Moleküle können sich somit in einem nur durch die Länge der Linkermoleküle beschränkten Volumen annähernd frei bewegen. Um möglichst



Abb. 4.24.: Chemie der Biofunktionalisierung von Galliumnitridoberflächen: Die Galliumnitridoberfläche wird zunächst photochemisch oder thermisch mit TFAAD funktionalisiert. In weiteren Reaktionsschritten wird die Trifluoracetyl-Schutzgruppe entfernt, der Crosslinker SSMCC und das Biomolekül (hier thiolmodifizierte DNA) angebunden.



Abb. 4.25.: Anti-CCL2-antikörperfunktionalisierte Sensoroberfläche (AFM): a) Eine Messung in Phosphatpuffer zeigt eine weiche, überwiegend homogene Oberfläche. Die Schichtdickenbestimmung ergibt eine Gesamtstärke von 23,6 nm, bei einer Rauheit von 6,17 nm. b) Nach Trocknung der Sensoroberfläche denaturieren die Antikörper. Die Schichtdicke reduziert sich auf 3,0 nm, die Rauheit auf 2,64 nm. unverfälschte Resultate zu erhalten, müssen rasterkraftmikroskopische Messungen daher im intermittierenden Modus mit möglichst kleinen Schwingungsamplituden durchgeführt werden. Da durch die Dämpfung in Flüssigkeit auch die Güte der resonanten Schwingung der Spitze abnimmt, sind diese Messungen oft verrauscht und der Regelbereich der Höhensteuerung wird bei hohen Aspektverhältnissen schnell überschritten. Im Ergebnis zeigen sich homogene Schichten, die in ihrer Stärke etwa den Summen der charakteristischen Dimensionen des jeweiligen Biomoleküls und der Linkerkette entsprechen. Dies bedeutet, dass eine erfolgreiche Biofunktionalisierung mit einer (Sub-)Monolage des gewünschten Moleküls vorliegt.

Schnellere und rauschärmere Messungen können nach dem Trocknen der Oberfläche gemacht werden. Allerdings werden diese Vorteile durch den Verlust der biologischen Funktion erkauft, da die meisten Biomoleküle an Luft aufgrund der Oxidation durch Luftsauerstoff und der entfallenden strukturstabilisierenden Wirkung von Ionen in der Pufferlösung denaturiert werden. Bei den Messungen zeigt sich, dass die Funktionalisierungsschichten deutlich weniger stark sind, was darauf hinweist, dass die beweglichen Moleküle in diesem Fall aufgrund der Denaturierung ihre Form verlieren und auf der Oberfläche adhärieren (Abb. 4.25b).

4.7. Zusammenfassung Funktionalisierung von Galliumnitridoberflächen

Mit der photochemischen Funktionalisierung von Galliumnitridoberflächen mit 1-Alkenen steht ein Prozess zur Verfügung, der eine Aktivierung der Galliumnitridoberfläche für Standardprozesse der organischen Chemie ermöglicht. Durch die Belichtungsdauer ist dabei auch die Funktionalisierungsdichte einstellbar. Zusätzlich wurde ein thermischer Funktionalisierungsprozess eingeführt, der die Generation von Photoströmen, die bei der photochemischen Funktionalisierung auftritt, verhindern kann und schonender für die Funktionalisierungsmoleküle ist. Beide Funktionalisierungen können dazu verwendet werden, biologische Sondenmoleküle kovalent auf Galliumnitridoberflächen anzubinden. Mit den Ergebnissen aus diesem Kapitel können nun die in Kapitel 3 entwickelten Feldeffekttransistoren und der Messaufbau zur Durchführung biosensorischer Experimente verwendet werden. Dies wird im folgenden Kapitel behandelt.

5. Biosensorik mit AlGaN/GaN HEMTs

Basierend auf den theoretischen Überlegungen, die in Kapitel 2 erläutert sind, werden aus den in Kapitel 3.2 beschriebenen HEMTs mit Hilfe der Funktionalisierungsprozesse, die in Kapitel 4 dargestellt werden, Biosensoren aufgebaut.

In diesem Kapitel werden zunächst grundlegende Charakteristika dieser Sensoren am Beispiel eines Sensors aufgezeigt (Kap. 5.1). Anschließend wird in Kapitel 5.2 mit Beispielmessungen aufgezeigt, welche Schaltungen und Betriebsmodi der Sensoren zur Verfügung stehen, und welche spezifischen Eigenschaften diese haben. Abschließend werden sensorische Experimente mit DNA (Kap. 5.3) und Proteinen (Kap. 5.4) erläutert.

5.1. Allgemeine Sensorcharakteristika

Für erfolgreiche Biosensorik ist es erforderlich, die Eigenschaften und Grenzen der verwendeten Sensoren genau zu kennen. Für diesen Zweck werden in diesem Abschnitt der zulässige Betriebsbereich, die Transferkennlinien und das Ausgangskennlinienfeld des HEMTs im Laufe des Funktionalisierungsprozess mit einem Sensor mit einer Gatefläche von $l \times w = 400 \times 3000 \,\mu\text{m}^2$ exemplarisch dargestellt und erläutert.

5.1.1. Zulässiger Betriebsbereich

Referenzspannung

Überspannungen sind bei elektronischen Bauteilen oft ein Ausfallgrund. Damit dies beim Sensor vermieden werden kann, wird vor jeder Messung ein zulässiger Betriebsbereich für den kritischsten Spannungswert – die Referenzspannung U_{ref} – festgelegt.

Hohe Spannungen an der Referenzelektrode führen zu – teilweise irreversiblen – elektrochemischen Reaktionen im Fluid und auf der Oberfläche des Sensors. Dadurch können vielfältige Probleme auftreten:

- Elektrochemische Reaktionen der Biofunktionalisierung können zum Funktionsverlust oder der Ablösung der Biomoleküle führen.
- Reaktionen im Analyt können zur Denaturierung von Zielmolekülen führen und somit das Messergebnis verfälschen.
- Die Passivierungsschicht des Sensors kann beschädigt und abgelöst werden.
- Zusätzlich kann ein Durchbruchstrom durch die Barriere in den Kanal des HEMTs entstehen.

Alle diese Punkte haben gemeinsam, dass sie durch einen erhöhten Betrag des Stroms durch die Referenzelektrode Iref verursacht werden können bzw. aus einem solchen resultieren. Um die problematischen Effekte zu minimieren, wird deshalb ein Grenzwert für den maximalen Strom durch die Referenzelektrode definiert. Dieser wird mit $|I_{ref}| < 15$ nA so gewählt, dass er etwa dem zehnfachen der größten ermittelten Abweichung vom Mittelwert einer Dauermessung mit einer Referenzspannung von $U_{DS} = 0 V$ entspricht. Mit dem Messprogramm für die Referenzstrommessung (Anhang D.1) wird die Referenzspannung ausgehend von einem Wert von $U_{ref} = 0 V$ schrittweise verringert, bis der Betrag des Referenzstroms 15 nA übersteigt. Die untere Grenze des Betriebsbereichs $U_{ref, min}$ wird dann durch den letzten Spannungswert vor der Uberschreitung des Grenzwerts definiert. Nachdem der untere Grenzwert erreicht wurde, wird die Referenzspannung wieder auf 0V zurückgesetzt und analog zum Verfahren bei negativen Spannungen durch schrittweises Erhöhen der Referenzspannung bis zum Überschreiten des maximalen Strombetrags ein oberer Grenzwert für die Referenzspannung $U_{ref, max}$ definiert (Abb. 5.1a). Somit wird gewährleistet, dass einerseits elektrochemische Reaktionen größtenteils verhindert werden und andererseits ein größtmöglicher Betriebsbereich, beispielsweise für die Aufnahme von Transferkennlinien, bereitgestellt wird (Abb. 5.1b).



Abb. 5.1.: Bestimmung des Betriebsbereichs: a) Abhängigkeit des Stroms durch die Referenzelektrode I_{ref} von der Referenzspannung U_{ref} bei verschiedenen Zuständen der Sensoroberfläche. b) Je nach Oberflächenzustand ergibt sich ein größeres oder kleineres Fenster für die Referenzspannung, in dem der Sensor betrieben werden kann.

Insbesondere bei biofunktionalisierten Oberflächen zeigt sich, dass das Referenzspannungsfenster sehr eng ist und entsprechend nur ein Teil der Transferkennlinie aufgenommen werden kann. Typischerweise erhaltene Werte für ssDNA-funktionalisierte Sensoren liegen im Bereich von etwa $-1.5 V \le U_{ref, min} \le -1.1 V$ und $+0.5 V \le U_{ref, max} \le +0.8 V$ (Abb. 5.2). Es zeigt sich jedoch, dass dieses Potentialfenster so günstig liegt, dass der Bereich der maximalen Steilheit der Transferkennlinie darin enthalten ist (Kap. 5.1.2).



Abb. 5.2.: Betriebsbereiche ssDNA-funktionalisierter Sensoren: Die zulässigen Referenzspannungen liegen in einem Intervall von $-1.5 \text{ V} \le U_{\text{ref}} \le +0.8 \text{ V}$ oder geringer.

Drain-Source-Spannung

Bei der Drain-Source-Spannung U_{DS} ist der Sensor weniger anfällig für Überspannungen. Sowohl der Standardwert von $U_{DS} = 200 \text{ mV}$ als auch die für das Ausgangskennlinienfeld verwendeten höheren Werte führen zu keinen Beschädigungen des Sensors. Eine Begrenzung des Drainstroms I_D auf 5 mA (in Ausnahmefällen 10 mA) durch die SMU wird dennoch vorgenommen, um die Sicherheit bei der Bedienung des Aufbaus zu gewährleisten und parasitäre Effekte durch die Erwärmung des Sensors zu vermeiden.

5.1.2. Transferkennlinien

Die Transferkennlinie des Sensors wird ermittelt, indem die Referenzspannung U_{ref} innerhalb des vordefinierten Intervalls variiert wird und der sich bei konstanter Drain-Source-Spannung U_{DS} ergebende Drainstrom I_D dagegen aufgetragen wird. Hierfür wird das Messprogramm Transferkennlinie (Anhang D.2) verwendet.

Durch die Änderung der Referenzspannung wird gleichzeitig das Oberflächenpotential des HEMTs und somit die Lage des Leitungsbandes relativ zum Ferminiveau bewegt. Bei stark negativen Referenzspannungen wird das Leitungsband so weit angehoben, dass die

Zustände des 2DEGs unbesetzt sind und der Kanal nicht leitet. Mit steigender Referenzspannung werden diese Zustände zunehmend besetzt und die Leitfähigkeit des Kanals nimmt stetig zu, bis ab einem gewissen Punkt eine Sättigung des 2DEGs und des Stroms durch den Kanal erreicht wird. Die Sättigung kann jedoch aufgrund der Limitierung des Potentialfensters oft nicht erreicht werden.

Ein wichtiger Punkt auf der Kennlinie ist der Punkt der maximalen Steilheit $g_{m, AP}$. An diesem Punkt führt eine definierte Änderung des Oberflächenpotentials zu einer maximalen Änderung des gemessenen Drainstroms. Somit eignet sich dieser Punkt bei Konstantspannungsmessungen (Kap. 5.2.1) oder Referenzpotentialmessungen (Kap. 5.2.4) ideal als Arbeitspunkt.

Darüber hinaus kann aus der Transferkennlinie die Referenzschwellspannung U_{th} bestimmt werden, indem eine Gerade mit der Steigung der maximalen Steilheit $g_{m, AP}$ der Transferkennlinie durch den Arbeitspunkt gelegt wird. Bei idealen Transferkennlinien entspricht die Referenzschwellspannung dann dem Schnittpunkt der Geraden mit der Abszissenachse (Abb. 5.3, Tab. 5.1).



Abb. 5.3.: Transferkennlinie im Funktionalisierungsprozess: Dargestellt ist die Transferkennlinie eines photochemisch funktionalisierten Sensors mit einer aktiven Fläche von $400 \times 50 \,\mu\text{m}^2$ bei $U_{\text{DS}} = 200 \,\text{mV}$ in verschiedenen Prozessstufen. In jeder Stufe sind Messungen mit Geschwindigkeiten von $\pm 250 \,\text{mV} \,\text{s}^{-1}$, $\pm 100 \,\text{mV} \,\text{s}^{-1}$ und $\pm 10 \,\text{mV} \,\text{s}^{-1}$ dargestellt, der Arbeitspunkt am Ort der maximalen Steilheit der Kurve ist durch ein Kreuz markiert.

Da die Leitfähigkeit des 2DEGs nicht direkt von der Referenzspannung U_{ref} , sondern vom Oberflächenpotential des HEMTs abhängig ist, führen Prozesse, die das Oberflächenpotential ändern, zu einer Änderung der Transferkennlinie. Die einzelnen Schritte des Funktionalisierungsprozess wirken sich deutlich auf die Transferkennlinie des Sensors aus (Abb. 5.3, Tab. 5.1).

Die HF-Behandlung führt, wie in Kapitel 4.3 dargestellt ist, zu einer Reduzierung von Oberflächenadsorbaten und einer teilweisen chemischen Reduktion der Halbleiterober-

Prozessschritt	$g_{ m m} \; [10^{-4} { m S}]$	U _{ref, AP} [V]	I _{D, AP} [10 ⁻⁴ A]	$U_{\rm th}$ [V]
wie gewachsen	$(2,29 \pm 0,07)$	$0,67\pm0,03$	$(1,21 \pm 0,06)$	0,14
HF-behandelt	$(2,52 \pm 0,03)$	$0,49\pm0,06$	$(1,56\pm0,15)$	-0,13
TFAAD-	(254 ± 0.06)	-0.18 ± 0.03	(3.14 ± 0.07)	-1.03
funktionalisiert	(2,31 ± 0,00)	$0,10 \pm 0,00$	(0,11 ± 0,01)	1,00
ssDNA- funktionalisiert	$(3,38 \pm 0,04)$	$-0,15\pm0,03$	$(2,65\pm0,06)$	-0,93

Tab. 5.1.: Transferkennlinie im Funktionalisierungsprozess: Sowohl die Lage des Arbeitspunkts als auch die maximale Steilheit und die Referenzschwellspannung der Transferkennlinie ändern sich im Laufe des Funktionalisierungsprozesses

fläche. Bei der Transferkennlinie führt dies zu einer Verschiebung hin zu geringeren Referenzspannungen und zu einer Verringerung von Nichtidealitäten in der Kennlinie (Abb. 5.3: Nichtlinearität in Transferkennlinie "wie gewachsen" (bei $U_{ref} > 1,0$) ist bei "HF-behandelt" nicht mehr erkennbar). Auch ein geringfügiger Anstieg der maximalen Steilheit kann erkannt werden.

Die photochemische Funktionalisierung mit TFAAD führt ebenfalls zu einer Reduzierung des Oberflächenpotentials und damit zu einer Verschiebung der Transferkennlinie hin zu negativeren Referenzspannungswerten. Darüber hinaus führt die Bestrahlung mit UV-Licht zur Einprägung eines über mehrere Stunden persistenten Photostroms und somit zur Verschiebung der Kennlinie hin zu höheren Stromwerten [103]. Für die Bestimmung der Referenzschwellspannung wird hier im Diagramm der Transferkennlinie anstelle des U_{ref} -Achsenabschnitts der Arbeitspunktgeraden der Schnittpunkt mit dem mittleren Stromwert I_{ph} des persistenten Photostroms genutzt (Abb. 5.3 "TFAAD-funktionalisiert"). Während der Prozessschritte für die Anbindung von Crosslinker (24 h) und Sonden-DNA (min. 12 h) klingt dieser Photostrom wieder ab. Die Referenzspannung des Arbeitspunkts bleibt dabei in etwa konstant, die Steilheit der Kennlinie steigt durch den Prozess jedoch deutlich an. Neben der Möglichkeit zur Wahl des am besten geeigneten Arbeitspunkts hat die Transferkennlinie für die Sensorik auch eine direkte praktische Bedeutung. Da – wie in Kapitel 2.2.1 dargestellt – die Hybridisierung von DNA-Strängen oder die Bindung von Proteinen eine Auswirkung auf das Oberflächenpotential hat, kann die Lage der Transferkennlinie als Messgröße für einen Biosensor dienen. Eine genauere Beschreibung dieser Verwendung folgt in Kapitel 5.2.3).

5.1.3. Ausgangskennlinienfeld

Die Ausgangskennlinie des Sensors wird ermittelt, indem die Drain-Source-Spannung U_{DS} innerhalb eines definierten Intervalls variiert wird und der sich bei konstanter Referenzspannung U_{ref} ergebende Drainstrom I_{D} dagegen aufgetragen wird. Hierfür wird das Messprogramm Ausgangskennlinie (Anhang D.3) verwendet.

Da der Drainstrom nicht überall linear mit der Referenzspannung skaliert, werden üblicherweise mehrere Ausgangskennlinien bei unterschiedlichen Referenzspannungswerten als Ausgangskennlinienfeld zusammengefasst. In diesem können die Betriebsbereiche des Sensors voneinander unterschieden werden.

Wie nach dem Verhalten der Transferkennlinie erwartet, ändert sich auch das Ausgangs-



Abb. 5.4.: Ausgangskennlinienfeld im Funktionalisierungsprozess: Dargestellt ist das Ausgangskennlinienfeld eines Sensors in verschiedenen Prozessstufen. In jeder Stufe sind Messungen mit Drain-Source-Spannungen im jeweiligen Potentialfenster im Abstand von 200 mV dargestellt. Der Hintergrund gibt die Betriebsbereiche des Sensors dar: Weiß ist der lineare Bereich, uni hinterlegt der Sättigungsbereich und punktiert der aufgrund von Photoströmen nicht erreichbare Bereich. Der in Kapitel 5.1.2 ermittelte Arbeitspunkt ist durch ein Kreuz markiert, die Kennlinie bei U_{ref} = 0,4 V zum besseren Vergleich fett dargestellt.

kennlinienfeld infolge der Prozessierung des Sensors. Während beim unfunktionalisierten Transistor (Abb. 5.4a, b) ein nahezu ideales Verhalten vorliegt, ist beim funktionalisierten Transistor (Abb. 5.4c, d) der überlagerte Einfluss des persistenten Photostroms zu erkennen. Dieser führt dazu, dass auch im Sperrbereich des Transistors ($U_{ref} < U_{th}$ [130]) ein nicht vernachlässigbarer Strom fließt.

Der aus der Transferkennlinie ermittelte Arbeitspunkt (Abb. 5.4: Kreuze) liegt jeweils im linearen Bereich, nahe am Ursprung des Diagramms. Dies hat zwei wesentliche Vorteile:

- Die geringen Werte für Drain-Source-Spannung und -Strom bedeuten eine geringe Verlustleistung von P < 0,1 mW an der aktiven Fläche. Die dadurch erzeugte Wärme kann von Aufbau und Fluid problemlos abgeführt werden, so dass Temperatureffekte beim Sensor vernachlässigt werden können.
- Der Strom ist im linearen Bereich linear abhängig von der Gatespannung [130]:

$$I_{\rm D} = \frac{I_0}{U_{\rm th}^2} \left[2 \left(U_{\rm ref} - U_{\rm th} \right) U_{\rm DS} - U_{\rm DS}^2 \right].$$
 (5.1)

Damit kann bei Verwendung des Drainstroms als Messgröße (Konstantspannungsmessungen) eine lineare Sensorcharakteristik erreicht werden.

5.2. Messmethoden und -größen

Der Einfluss von Oberflächenpotentialänderungen auf den Sensor kann durch verschiedene Messmethoden und -größen bestimmt und quantifiziert werden. Diese werden in den folgenden Abschnitten erläutert. Als Beispiel dienen dabei pH-Messungen auf unfunktionalisierten Sensoren. pH-Änderungen bei Standardbedingungen bewirken gemäß der nernstschen Gleichung eine Änderung des Oberflächenpotentials von $\approx 59 \text{ mV pH}^{-1}$ [103, 131].



5.2.1. Konstantspannungsmessungen

Abb. 5.5.: Messprinzip Konstantspannungsmessungen: Beispielmessung für den Einfluss des Oberflächenpotentials auf den Drain-Strom I_D bei konstanter Referenzspannung U_{ref} und Drain-Source-Spannung U_{DS} .

Als einfachste Messmethode dienen die Konstantspannungsmessungen (auch: Drainstrommessungen). Hierbei wird bei konstanter Referenz- U_{ref} und Drain-Source-Spannung U_{DS} der sich durch die Änderung des Oberflächenpotentials ergebende Drainstrom I_D aufgezeichnet (Abb. 5.5).

Die Verwendung des Drainstroms als Messgröße ist mit dem geringsten experimentellen Aufwand verbunden, da nur zwei (bzw. eine bei Messungen ohne Referenzelektrode) konstante Spannungsquellen und ein Amperemeter mit Messwerterfassung nötig sind, um solche Messungen durchzuführen. Entsprechend wird diese Messmethode auch in Publikationen (z. B. [21, 29, 31]) oft verwendet – neben zeitaufgelösten Messungen $I_D(t)$ werden dabei auch Drainstromwerte aus der Ausgangskennlinie $I_D(U_{DS})$ als Messgröße verwendet. Im Rahmen der Arbeit wurden die Spannungsquellen und das Amperemeter einer computergesteuerten 2-Kanal SMU (Keithley 2612A) verwendet. Die Steuerung erfolgte mit LabVIEW über das Messprogramm "Zeitkonstanten-Messung" (Kap. D.5, $U_{ref, 1} = U_{ref, 2}$). Neben dem Oberflächenpotential ist der Drainstrom unter anderem auch noch von der Geometrie des Transistors abhängig (Gl. 5.2):

$$I_{\rm D} \propto \frac{W}{I}$$
. (5.2)

Daher ist es für die Vergleichbarkeit von Messungen sinnvoll, beispielsweise durch die Normierung des Messwerts mit dem Ausgangswert [50, 53–55] oder Umrechnung in den Flächenwiderstand des Kanals [132–135] den Geometriefaktor aus dem Messwert zu eliminieren.

Die Konstantspannungsmessungen haben gegenüber anderen Messmethoden folgende Vor- und Nachteile:

- + Der Messaufbau ist einfach, auch ohne Referenzelektrode, zu realisieren.
- + Wird der Arbeitspunkt im linearen Bereich des Transistors gewählt, kann ein lineares Verhalten des Sensors erreicht werden (Gl. 5.1).
- + Zeitaufgelöste Messungen sind möglich.
- Das Sensorsignal ist geometrieabhängig.
- Bei der Messung wird der Arbeitspunkt des Transistors verschoben große Änderungen können dabei zum Verlassen des linearen Bereichs führen.
- Eine Aussage über das Oberflächenpotential ist nur indirekt möglich, wenn die Steilheit der Transferkennlinie bekannt ist.

5.2.2. Konstantstrommessungen

Bei Konstantstrommessungen wird analog zu den Konstantspannungsmessungen ein festes Referenzpotential U_{ref} angelegt. Anstelle der Drain-Source-Spannung U_{DS} wird jedoch der Drainstrom I_D über eine Stromquelle definiert und die an der Stromquelle anliegende Drain-Source-Spannung U_{DS} gemessen (Abb. 5.6).

Das Messprinzip ist vom experimentellen Aufwand mit den Konstantspannungsmessungen vergleichbar. Es werden je eine konstante Spannungs- und Stromquelle sowie ein Voltmeter mit Messwerterfassung benötigt. Im Rahmen der Arbeit wurden dafür die Strom- und Spannungsquelle und das Voltmeter einer computergesteuerten 2-Kanal SMU (Keithley 2612A) verwendet.

In der Praxis spielen Konstantstrommessungen dieser Art keine Rolle, da durch die quadratische Abhängigkeit des Drainstroms von der Drain-Source-Spannung im linearen Bereich (Gl. 5.1) über einen größeren Messbereich kein lineares Sensorverhalten erreicht werden kann. In der Literatur oft auch als Konstantstrommessungen bezeichnete Messungen, bei denen der konstante Strom über die Referenzspannung geregelt wird, werden im Rahmen dieser Arbeit als "Referenzpotentialmessungen" bezeichnet und in Kapitel 5.2.4 behandelt.



Abb. 5.6.: Messprinzip Konstantstrommessungen: Beispielmessung für den Einfluss des Oberflächenpotentials auf die Drain-Source-Spannung U_{DS} bei konstanter Referenzspannung U_{ref} und konstantem Drainstrom I_D .

5.2.3. Transferkennlinien

Wird das Oberflächenpotential des Sensors um einen Betrag $\Delta \Phi$ geändert, so ändert sich die Leitfähigkeit des Kanals. Dieser Änderung kann durch eine gleichzeitige Änderung des Referenzpotentials entgegengewirkt werden. Es gilt dabei folgender Zusammenhang (Gl. 2.28, 5.3):

$$\Phi_{\rm OF} = \Phi_{\rm GaN} + \frac{E_{\rm F}}{e} - (\Delta \Phi + U_{\rm ref} + U_{\rm sys}) = \Phi_0 - (\Delta \Phi + U_{\rm ref}). \tag{5.3}$$

Die Bandstruktur in der Heterostruktur bleibt somit bei konstanten Φ_{GaN} und U_{sys} (vgl. Kap. 2.2.1) genau dann identisch, wenn das Referenzpotential in die entgegengesetzte Richtung um den gleichen Betrag $\Delta U_{ref} = -\Delta \Phi$ variiert wird. Bei der Betrachtung von Transferkennlinien eines Sensors mit variierendem Oberflächenpotential (Abb. 5.7) stellt sich dies so dar, dass die Transferkennlinien entlang der U_{ref} -Achse um $-\Delta \phi$ verschoben sind. Somit kann die ermittelte Verschiebung der Transferkennlinie des Sensors ΔU_{ref} als direkte Messgröße für die Anderung des Oberflächenpotentials $\Delta \phi$ verwendet werden. Der für die Aufnahme der Transferkennlinie nötige Messaufbau ist nur geringfügig aufwändiger als bei den Konstantspannungsmessungen. Zusätzlich zu einer Konstantspannungsquelle für die Drain-Source-Spannung und dem Amperemeter mit automatischer Messwerterfassung für die Aufnahme des Drainstroms ist noch eine programmierbare Spannungsquelle nötig, um eine benutzerdefinierte Spannungsrampe (Sägezahn- oder Dreieckspannung) als Referenzspannung zu generieren. Im Rahmen der Arbeit wurden auch für diese Konfiguration die Spannungsquellen und das Amperemeter einer computergesteuerten 2-Kanal SMU (Keithley 2612A) verwendet. Die Steuerung und Messwertaufzeichnung erfolgte mit LabVIEW und dem Messprogramm "Transferkennlinien" (Kap. D.2).



Abb. 5.7.: Messprinzip Transferkennlinien: Beispielmessung für die Verschiebung der Transferkennlinie des Sensors in Richtung der U_{ref} -Achse durch die Änderung des Oberflächenpotentials. Das Ausmaß der Verschiebung ΔU_{ref} kann als Sensorsignal verwendet werden.



Abb. 5.8.: Kinetik der Transferkennlinie: Bei biofunktionalisierten Sensoren (hier: Anti-CCL2-Antikörper) zeigt sich ein deutlicher Einfluss der Aufnahmegeschwindigkeit auf die ermittelte Kennlinie.

Im Rahmen der Charakterisierung dieser Messmethode für biofunktionalisierte Sensoren zeigte sich, dass die Aufnahmegeschwindigkeit $\frac{dU_{ref}}{dt}$ einen starken Einfluss auf die ermittelte Transferkennlinie hat (Abb. 5.8). Der Effekt basiert darauf, dass die Funktionalisierung im Fluid eingeschränkt beweglich ist. Das von der Referenzspannung in der Doppelschicht des Fluids erzeugte elektrische Feld erzeugt eine Kraft auf die elektrisch geladenen Funktionalisierungsmoleküle, die zu einer Bewegung der Moleküle zur Sensoroberfläche hin oder von ihr weg führt. Die Bewegung der Moleküle führt ihrerseits zu einer Änderung des Oberflächenpotentials wie in Kapitel 2.1.3 beschrieben. Die Beobachtungen bei den aufgenommenen Transferkennlinien legen den Schluss nahe, dass diese Dynamik der Moleküle bei Aufnahmegeschwindigkeiten von $\frac{dU_{ref}}{dt} > 100 \,\text{mV s}^{-1}$ zur Abflachung der Kennlinie führt. Konsequenz dieses Phänomens ist, dass für sichere Messungen mit funktionalisierten Transistoren die Aufnahmegeschwindigkeit ausreichend klein ($\frac{dU_{ref}}{dt} \ll 100 \,\text{mV s}^{-1}$) gewählt werden muss. Allerdings bietet es auch die Möglichkeit, das kinetische Verhalten zu quantifizieren und direkt als Sensorsignal zu betrachten (Kap. 5.2.6).

Zusammengefasst können folgende Vor- und Nachteile der Verwendung der Lage der Transferkennlinie als Messgröße benannt werden:

- + Der Messaufbau ist relativ einfach zu realisieren.
- + Die Messgröße ist gegengleich zur ursächlichen Oberflächenpotentialänderung.
- + Der Sensor weist ein lineares Verhalten auf.
- Änderungen des Referenzpotentials über einen großen Bereich beeinflussen die Lage und Ausrichtung der Sondenmoleküle bzw. Sonden-Zielmolekül-Komplexe.
- Die Aufnahme verlässlicher Kennlinien dauert bei funktionalisierten Sensoren lange.
- Zeitaufgelöste Messungen sind nicht möglich.

5.2.4. Referenzpotentialmessungen

Wie die Verwendung der Transferkennlie als Messgröße (Kap. 5.2.3) basieren auch die Referenzpotentialmessungen auf der Tatsache, dass Oberflächenpotentialänderungen durch eine inverse Veränderung der Referenzspannung ausgeglichen werden können (Gl. 5.3). Im Gegensatz zur Aufzeichnung der Transferkennlinie wird bei den Referenzpotentialmessungen jedoch ein Regelkreis (Abb. 5.9) verwendet, um diesen Effekt zu nutzen.



Abb. 5.9.: Regelkreis bei Referenzpotentialmessungen: Die Referenzspannung wird zur Regelung des Drainstroms verwendet und dient gleichzeitig als Sensorsignal.

Regelgröße ist hierbei der Drainstrom I_D , für den ein definierter Sollwert $I_{D, \text{ soll}}$ festgelegt wird. Dieser Sollwert entspricht einem bestimmten Bandverlauf in der Heterostruktur. Der Drainstrom wird mit einem Amperemeter gemessen. Abweichungen vom Sollwert werden



Abb. 5.10.: Messprinzip Referenzpotentialmessungen: Beispielmessung für die Regelung des Drainstroms auf einen konstanten Wert über die Steuerung der Referenzspannung bei variablem Oberflächenpotential. Die Referenzspannung spiegelt die Änderung des Oberflächenpotentials wider und wird als Signalgröße verwendet.

über ein rechnergestütztes Regelglied zur Anpassung der Referenzspannung verwendet. Über eine steuerbare Spannungsquelle und die Referenzelektrode wird die Referenzspannung als Steuergröße an das Fluid angelegt, so dass der Sollwert wieder erreicht wird. Die Referenzspannung U_{ref} wird aufgezeichnet und dient als Messgröße.

Im Idealfall wird der Arbeitspunkt des Transistors durch die Regelung auf einem festen Drainstrom (einem definierten Bandverlauf in der Heterostruktur) und somit auf einem definierten Punkt der Transferkennlinie gehalten. Die Änderung der Referenzspannung spiegelt dann negiert den Verlauf der Oberflächenpotentialänderung wider.

Bei einem realen Messsystem gilt dies allerdings nur eingeschränkt. So ist die Genauigkeit der Regelung abhängig von der Geschwindigkeit und dem Verhalten des Reglers. Beim Messaufbau in dieser Arbeit wurde der Regler manuell in LabVIEW implementiert. Um eine ausreichende Geschwindigkeit des Reglers zu erreichen, wurde dieser als einfacher P-Regler ausgeführt. Aufgrund des linearen Verlaufs der Transferkennlinie im Bereich um den Arbeitspunkt kann auch mit einem derart einfachen Regler ein zufriedenstellendes Resultat erzielt werden. Die erreichte Abtastfrequenz mit dem Messprogramm (Anhang D.4) liegt bei \approx 50 Hz. Dies ist ausreichend, um mit dem Messprinzip die Änderung des Oberflächenpotentials des Sensors bestimmen zu können (Abb. 5.10).

Die Referenzspannung wird über eine steuerbare Spannungsquelle erzeugt, für das Anlegen der Drain-Source-Spannung ist eine Konstantspannungsquelle und für die Messung des Drainstroms ein mit dem Rechner verbundenes Amperemeter nötig. Aufgrund des benötigten Reglers ist der experimentelle Aufwand bei Referenzpotentialmessungen deutlich höher als bei den Drainstrom- und Transferkennlinienmessungen. Im Rahmen dieser Arbeit wurde auch dieser Aufbau mit Hilfe einer computergesteuerten 2-Kanal SMU (Keithley

2612A) realisiert. Die Regelung und Messwertaufzeichnung erfolgte in LabVIEW mit dem Messprogramm "Referenzpotentialmessung" (Kap. D.4).

Probleme treten auf, wenn die Regelstrecke – etwa durch Luftblasen in der Messzelle – unterbrochen wird. In diesem Fall reagiert der Regler mit einem steigenden Referenzspannungsbetrag. Um die Elektrode und den Sensor zu schützen, ist im Regler ein Sicherungsmechanismus integriert, der bei Verlassen eines definierten Referenzpotentialfensters die Messung automatisch beendet und die Spannungsquellen abschaltet.

Zusammengefasst ergeben sich für das Messprinzip Oberflächenpotentialmessungen folgende Vor- und Nachteile:

- + Die ermittelte Messgröße ist gegengleich zur ursächlichen Oberflächenpotentialänderung.
- + Der Sensor weist ein lineares Verhalten auf.
- + Zeitaufgelöste Messungen sind möglich.
- + Der Arbeitspunkt des Transistors wird konstant gehalten.
- Hoher experimenteller Aufwand ist nötig.
- Die Messung reagiert sehr empfindlich auf Störungen in der Regelstrecke.

5.2.5. Wheatstone-Brückenschaltungen

Da AlGaN/GaN-HEMTs bei Bestrahlung mit Licht Photoströme ausbilden [136], wurde beim Sensordesign auch eine Wheatstone-Brückenschaltung entwickelt, die parasitäre Signale unterdrücken kann. Kernstück dieser Schaltung sind zwei parallel geschaltete Spannungsteiler aus je einem passivierten und einem aktiven Transistor mit geöffnetem Gate. Durch eine identische Beeinflussung der Leitfähigkeit durch Umgebungslicht bei beiden Transistoren wird theoretisch ein lichtunabhängige Schaltung erreicht.

Der passivierte Transistor ist dabei durch die nicht geöffnete Passivierungsschicht vom Fluid entkoppelt. Seine Transferkennlinie ist daher nahezu ideal flach, sein Verhalten entspricht einem ohmschen Widerstand mit dem Wert $R_{\text{passiv}} = \frac{U_{\text{DS}}}{I_{\text{D}}}$. Im Gegensatz dazu zeigt der aktivierte Transistor mit dem offenen Gate die aus der Sensorcharakterisierung bekannte Transferkennlinie (Abb. 5.11). Die Reihenfolge der Transistoren innerhalb der Spannungsteiler ist in den beiden Ästen vertauscht, so dass eine geänderte Leitfähigkeit des aktiven Transistors bei einer konstanten angelegten Eingangsspannung U_{in} zu inversen Potentialänderungen in den beiden Spannungsteilern führt. Die Differenz dieser Potentiale wird nun als Brückenspannung U_{Br} gemessen und als Sensorsignal verwendet. Aufgrund des linearen Verhaltens der Einzeltransistoren im Bereich um den Arbeitspunkt zeigt auch die Transferkennlinie der gesamten Brückenschaltung ein derartiges Verhalten (Abb. 5.12).

Bei der Messung mit diesem Messprinzip werden mit zwei konstanten Spannungsquellen die Referenzspannung U_{ref} und die Eingangsspannung U_{in} angelegt. Oberflächenpotentialänderungen führen dann zu einer Änderung der Brückenspannung U_{Br} , die von einem Voltmeter mit Messwertaufzeichnung protokolliert wird (Abb. 5.13). Da mit der Brückenspannung eine von den Spannungsquellen unabhängige Größe gemessen wird, ist die



Abb. 5.11.: Einzeltransferkennlinien in der Brückenschaltung: Während der passivierte Transistor von Änderungen der Referenzspannung nicht beeinflusst wird, zeigt der aktive Sensor das bekannte Verhalten. Der Arbeitspunkt wird an dem mit einem Kreuz gekennzeichneten Punkt gewählt.



Abb. 5.12.: Transferkennlinie der gesamten Brückenschaltung: Nur in einem engen Bereich um den gewählten Arbeitspunkt (Kreuz) ist eine lineare Näherung der Kennlinie zulässig.



Abb. 5.13.: Messprinzip Wheatstone-Brückenschaltung: Beispielmessung den Einfluss des Oberflächenpotentials auf die Brückenspannung U_{Br} .

Messkonfiguration im Gegensatz zu den anderen in diesem Kapitel genannten nicht mit einer 2-Kanal SMU zu betreiben. Bei den im Rahmen dieser Arbeit mit dieser Messkonfiguration durchgeführten Messungen wurden die beiden Kanäle einer Keithley 2612A SMU dazu genutzt, die Referenzspannung anzulegen und die Brückenspannung auszulesen. Die Eingangsspannung U_{in} wurde manuell mit einer Agilent E3647A Gleichspannungsquelle angelegt. Die Messwerterfassung erfolgte computergesteuert mit LabVIEW und einer Variation (Spannungs- statt Strommessung) des Messprogramms "Zeitkonstanten-Messung" $(U_{ref, 1} = U_{ref, 2})$.

Das Ausgangssignal ist bei dieser Messkonfiguration von der Eingangsspannung U_{in} und dem nicht direkt beeinflussbaren Oberflächenpotentialen in den passivierten Transistoren abhängig und ermöglicht somit keine direkte Aussage über das Verhalten des Oberflächenpotentials an den aktiven Transistoren.

Lichtempfindlichkeit

Im Experiment zeigt sich, dass die Lichtempfindlichkeit des Sensors mit Wheatstone-Brückenschaltungen in der Messzelle (Kap. 3.3) gegenüber einem offenen Spitzenmessplatz deutlich reduziert ist. Die Verbesserung beruht jedoch insbesondere darauf, dass der Sensor in der Messzelle von Umgebungslicht weitestgehend abgeschirmt ist. Ein Einzeltransistor in der Messzelle zeigt daher ein ähnlich verbessertes Verhalten (Abb. 5.14).

Eine totale Lichtunabhängigkeit kann mit der Brückenschaltung nicht erreicht werden. Dies liegt darin begründet, dass die passivierten und aktiven Transistoren jeweils unterschiedliche Oberflächenpotentiale aufweisen. Das zweidimensionale Elektronengas ist daher in beiden Transistoren unterschiedlich stark ausgeprägt und reagiert somit unterschiedlich stark auf Lichteinstrahlung. Um eine Unabhängigkeit von der Lichteinstrahlung


Abb. 5.14.: Lichtempfindlichkeit des Sensors: Der Einfluss von Umgebungslicht auf das zweidimensionale Elektronengas wird durch die abgeschirmte Positionierung des Sensors in der Messzelle minimiert. Durch Verwendung einer Wheatstone-Brückenschaltung (Signal hier umgerechnet aus der Brückenspannung mit Hilfe der Systemtransferkennlinie) kann keine wesentliche Verbesserung erreicht mehr werden.

zu erreichen, müssten die Transistoren identische Bandverläufe in ihren Heterostrukturen aufweisen. Dies wäre theoretisch dann der Fall, wenn der Arbeitspunkt am Schnittpunkt der Transferkennlinien der beiden Sensoren gewählt wird. Da ein solcher Schnittpunkt im erlaubten Potentialfenster jedoch nicht existiert (Abb. 5.11) ist eine absolute Lichtunempfindlichkeit nicht zu erreichen.

Zusammengefasst ergeben sich bei der Messung mit Wheatstone-Brückenschaltungen folgende Vor- und Nachteile:

- + Der Einfluss von Umgebungslicht auf den Sensor wird reduziert.
- + Der Sensor weist im Bereich des Arbeitspunkts ein lineares Verhalten auf.
- + Zeitaufgelöste Messungen sind möglich.
- Das Sensorsignal ist abhängig von der gewählten Eingangsspannung.
- Bei der Messung wird der Arbeitspunkt des Transistors verschoben große Änderungen können dabei zum Verlassen des linearen Bereichs führen.
- Eine Aussage über das Oberflächenpotential ist nicht direkt möglich. Indirekte Werte für die Änderungen sind nur über die (inverse) Transferkennlinie möglich.

Geregelte Wheatstone-Brückenschaltung

Auch Wheatstone-Brückenschaltungen können analog zu den Referenzpotentialmessungen über die Referenzspannung auf eine konstante Brückenspannung geregelt werden. So kann auch mit Wheatstone-Brückenschaltungen ein Messsignal erhalten werden, das unabhängig von der Eingangsspannung ist, mit einem festen Arbeitspunkt arbeitet und eine direkte Aussage über Oberflächenpotentialänderungen ermöglicht.

Die Vor- und Nachteile dieser Messkonfiguration sind mit denen der Referenzpotentialmessungen nahezu identisch. Auch der experimentelle Aufwand ist ähnlich, anstelle eines Amperemeters wird ein unabhängiges Voltmeter für die Bestimmung der Brückenspannung benötigt. Da die Brückenschaltungen aber keine entscheidenden Vorteile gegenüber dem Einzeltransistor in der Messzelle haben, wird dieser Ansatz in der Arbeit nicht realisiert.

5.2.6. Zeitkonstanten bei Rechteckanregung

In Kapitel 5.2.3 wurde bei der Aufnahme von Transferkennlinien funktionalisierter Sensoren eine Abhängigkeit des Drainstroms von der Geschwindigkeit der Referenzpotentialänderung festgestellt und mit der Kinetik der Sonden bzw. Sonden-Zielmolekül-Komplexe erklärt. Es ist dabei naheliegend, dass diese Kinetik auch vom Status der Sondenmoleküle (Zielmolekül gebunden oder nicht gebunden?) beeinflusst wird, da die Bindung von Zielmolekülen die Masse, die Form und die Gesamtladung der Funktionalisierungsschicht ändert – alles Faktoren, die bei der Bewegung im elektrischen Feld eine Rolle spielen.



Abb. 5.15.: Referenzspannungsverlauf zur Zeitkonstantenbestimmung: Die Referenzspannung wechselt jeweils nach einem Zeitintervall T zwischen den beiden Spannungen $U_{\text{ref, 1}}$ und $U_{\text{ref, 2}}$.

Der Effekt tritt insbesondere dann deutlich auf, wenn die Bewegung der Sonden sehr langsam geschieht, was bei großen, schweren und schwach geladenen Sondenmolekülkomplexen zu erwarten ist. Dies entspricht genau jenen sensorischen Problemen, die nur einen relativ geringen Einfluss auf das Oberflächenpotential haben und somit durch die anderen Messmethoden nur unzureichend detektiert werden können. Somit bietet er eine zusätzliche Möglichkeit, Biosensorik mit fluidisch kontaktierten Feldeffekttransistoren zu betreiben.

Um die Kinetik des Drainstroms näher zu untersuchen, wird die Sprungantwort des Systems betrachtet. Hierfür werden zeitaufgelöste Messungen des Drainstroms I_D bei konstanter Drain-Source-Spannung U_{DS} und einer Rechteckspannung U_{ref} an der Referenzelektrode durchgeführt (Abb. 5.15). Im Rahmen dieser Arbeit werden die Referenzund Drain-Source-Spannung über eine computergesteuerte Keithley 2612A 2-Kanal SMU angelegt und der Drainstrom mit demselben Gerät gemessen. Die Ansteuerung und Messwertaufzeichnung erfolgt mit LabVIEW und dem Messprogramm "Zeitkonstanten-Messung" (Anhang D.5). Entscheidend für den Erfolg der Messung ist die Wahl einer geeigneten Rechteckspannung. Die Spannungen $U_{\text{ref, 1}}$ und $U_{\text{ref, 2}}$ müssen hierbei so gewählt werden, dass sie einerseits innerhalb des zulässigen Potentialfensters liegen, gleichzeitig aber auch derart, dass das elektrische Feld im Fluid mit jedem Spannungssprung umgepolt wird und gebundene elektrische Ladungen jeweils neu bewegt werden. Zusätzlich muss das Zeitintervall T ausreichend groß gewählt werden, so dass ein Grenzwert, dem sich der Strom exponentiell annähert, mit ausreichender Sicherheit bestimmt werden kann.

Transduktionsmechanismus



Abb. 5.16.: Sprungantwort des Sensors: Je nach Funktionalisierung und Konfiguration der Sonde kann eine unterschiedlich starke zeitliche Verzögerung der Sprungantwort erkannt werden. Die Stromwerte sind normiert auf die jeweiligen extrapolierten Grenzwerte.

Nach dem Umschaltvorgang der Referenzspannung wirken verschiedene Kräfte auf die Biomoleküle ein, die zu einer Beschleunigung bzw. Abbremsung des Moleküls führen:

- Das durch die Referenzspannung ausgebildete elektrische Feld nahe der Sensoroberfläche bewirkt eine beschleunigende Coulombkraft auf die gebundenen, geladenen Biomoleküle.
- Die identisch geladenen Biomoleküle üben abstoßende Kräfte aufeinander aus. Da die Biomoleküle alle in die gleiche Richtung beschleunigt werden, nähern sie sich im Laufe des Referenzspannungsintervalls aneinander an, wodurch diese Kräfte in dieser Zeit ansteigen.
- Im viskosen Fluid tritt bei bewegten Molekülen ein Strömungswiderstand auf.

Darüber hinaus wird die Anordnung der Biomoleküle noch durch die Länge der Funktionalisierungskette und die Halbleiteroberfläche limitiert. Aus allen diesen Voraussetzungen resultiert in jedem Spannungsintervall eine Bewegung der Biomoleküle hin zu einem Gleichgewichtszustand, in dem sich die durch das angelegte elektrische Feld und die coulombsche Abstoßung ausgebildeten Kräfte neutralisieren. Diese Bewegung, deren Ausprägung durch die Gesamtladung der Biomoleküle, ihre Form, Masse und Beweglichkeit (und somit vom Bindungszustand) beeinflusst wird, resultiert in für die jeweilige Funktionalisierungsdichte und den Bindungszustand der Sondenmoleküle charakteristischen Sprungantworten des Drainstroms (Abb. 5.16).

Definition der Zeitkonstanten

Das Zeitverhalten ist über das komplette Referenzspannungsintervall in der Regel nicht gut exponentiell zu nähern. Eine Zeitkonstante aus einem exponentiellen Fit ist daher für die Quantifizierung des Effekts ungeeignet. Um den charakteristischen Verlauf dennoch zu quantifizieren, werden andere Zeitkonstanten definiert.

Zunächst werden dazu Referenzpunkte gesucht, um den absoluten Anstieg/Abfall des Drainstroms durch die Änderung der Referenzspannung zu definieren. Hierbei hat sich herausgestellt, dass sich der Stromverlauf in der zweiten Hälfte eines Referenzspannungsintervalls im Allgemeinen gut exponentiell nähern lässt. Der Stromverlauf vor einem Spannungssprung zum Zeitpunkt t_0 wird im Intervall $t_0 - \frac{T}{2} \le t < t_0$ mit einer exponentiellen Funktion nach Gleichung 5.4 angenähert:

$$I_{\rm D}(t) = I_0 + A_0 \cdot e^{\frac{t - (t_0 - \frac{T}{2})}{B_0}}.$$
 (5.4)

Analog dazu wird der Stromverlauf nach dem Sprung im Intervall $t_0 + \frac{T}{2} \le t < t_0 + T$ mit einer exponentiellen Funktion nach Gleichung 5.5 genähert:

$$I_{\rm D}(t) = I_1 + A_1 e^{\frac{t - (t_0 - \frac{T}{2})}{B_1}}.$$
(5.5)

Die Anpassung der Funktionen an die Messwerte mit einem Levenberg-Marquardt-Algorithmus liefert die Fitkoeffizienten I_0 , I_1 , A_0 , A_1 , B_0 und B_1 . I_0 und I_1 sind dabei die Stromgrenzwerte, denen sich der gemessene Drainstrom exponentiell annähert. B_0 und B_1 sind per Definition die Zeitkonstanten für die exponentielle Annäherung – aufgrund ihrer Beschränkung auf die zweite Hälfte des Referenzspannungsintervalls jedoch ebenfalls nicht für die Quantifizierung des kinetischen Verhaltens geeignet.

Ausgehend von diesen Stromgrenzwerten kann die Form der Sprungantwort im Drainstromverlauf nun auf verschiedene Arten quantifiziert werden (Abb. 5.17):

- Es werden Zeitkonstanten τ_i definiert, die angeben, wie lange es nach dem Umschalten der Referenzspannung dauert, bis der Drainstrom $i \cdot 100\%$ des gesamten Stromanstiegs/-abfalls $I_1 - I_0$ erreicht.
- Der Wert τ_A (Gl. 5.6), der im Betrag der von Drainstromkurve, Stromgrenzwert und Referenzspannungsintervall begrenzten Fläche im Diagramm entspricht, wird berechnet:

$$\tau_{\mathsf{A}} = \int_{t_0}^{t_0+T} I_{\mathsf{D}}(t) - I_1 \, \mathrm{d}t.$$
 (5.6)



Abb. 5.17.: Definition der Zeitkonstanten: Die Stromgrenzwerte I_0 und I_1 werden durch exponentielle Fits des Stromverlaufs in der zweiten Hälfte des Intervalls vor und nach dem Sprung bestimmt. Die Zeitkonstante τ_i ist dann die Dauer zwischen dem Sprung der Referenzspannung t_0 und dem Schnittpunkt mit dem Stromwert $I_D = I_0 + i \cdot (I_1 - I_0)$. Die Größe τ_A entspricht im Betrag der von Stromkurve, -grenzwert und Referenzspannungsintervall begrenzten Fläche.

Diese Zeitkonstanten werden jeweils getrennt für den Sprung von negativer zu positiver (im Folgenden " \rightarrow +") sowie für den Sprung von positiver zu negativer ("+ \rightarrow -") Referenzspannung ermittelt und ausgewertet, da sich das kinetische Verhalten in beiden Fällen unterscheidet.

Im Vergleich zu den anderen behandelten Messmethoden ergeben sich für das Messprinzip mit der Bestimmung der Zeitkonstanten folgende Vor- und Nachteile:

- + Schwere, schwach geladene Zielmoleküle haben einen starken Einfluss auf das Messergebnis.
- + Nur die über bewegliche Linker angebundenen Sonden und eventuell vorhandene Zielmoleküle beeinflussen die Messung. Unbewegliche, direkt auf der Sensoroberfläche unspezifisch adhärente Stoffe werden nicht detektiert.
- Zeitaufgelöste Messungen sind nicht möglich.
- Zur Messwertbestimmung ist eine aufwändige Datenverarbeitung nötig.
- Die nötigen hoch-zeitaufgelösten Messungen des Drainstroms erzeugen große Rohdatenmengen.
- Eine Aussage über das Oberflächenpotential ist nicht möglich. Die bestimmten Messwerte sind rein empirischer Natur.

5.3. DNA-Hybridisierung

Einige der im vorhergehenden Abschnitt beschriebenen Messmethoden werden im Folgenden für die Biosensorik verwendet. Als Modellsystem hierzu dient zunächst DNA, da diese synthetisch in sehr reiner Form und in beliebigen Sequenzen hergestellt werden kann (Hersteller hier: Apara BioScience GmbH). Durch die synthetische Zusammensetzung der Analyt- (mit den Ziel-DNA-Sequenzen) und Referenzpufferlösungen auf der Basis von identischen, in ihrer Zusammensetzung genau bekannten Pufferlösungen ermöglicht dieser Ansatz die Detektion der Hybridisierung ohne störende Effekte weiterer Stoffe aus der Matrix.

5.3.1. DNA-Sequenzen

Um einen möglichst realitätsnahen Einsatz der Sensoren zu untersuchen, wird als Modellfall eine Sequenz gewählt, bei welcher aus einer vorhandenen Punktmutation im menschlichen Körper ein Krankheitsbild – die Sichelzellenanämie – folgt. Die Punktmutation in der Gensequenz führt bei der Genexpression zu einer fehlerhaften Aminosäurensequenz des β -Globins, bei der an Position 7 an Stelle von Glutaminsäure Valin eingebaut wird (vgl. Anhang A.1). Das Hämoglobin ist dadurch in seiner Funktion eingeschränkt, die betroffenen Erythrozyten versteifen in Krisensituationen zu einer sichelartigen Form und können Blutgefäße verschließen. Die dadurch hervorgerufenen Durchblutungsstörungen führen zu starken Schmerzen und lebensbedrohlichem Organversagen. [137] Im gesunden Organismus weist das HBB-001-Gen im Bereich von Basenpaar 186–215 (Aminosäure 4–13) folgende Basen- und Aminosäuresequenz auf:

L T P E E K S A V T HBB CTGACTCCTGAGGAGAAGTCTGCCGTTACT 215

Bei Patienten, die an der Sichelzellenanämie erkrankt sind, findet man hingegen an dieser Stelle die Variation rs334 [137]:

L T P V E K S A V T rs334 CTGACTCCTGTGGAGAAGTCTGCCGTTACT 215

Eine Punktmutation an Position 196, Thymin (T) an Stelle von Adenin (A), ist vorhanden. Bei der Genexpression – dem Aufbau von β -Globin – wird das Basentriplett GTG nun in Valin (V) translatiert, wohingegen das ursprüngliche Triplett GAG im gesunden Organismus zum Einbau von Glutaminsäure (E) führen würde. Eine Detektion der beschriebenen Basensequenz der mutierten Genvariante kann also als Nachweis für das Vorliegen der Sichelzellenanämie dienen. In dieser Arbeit wird ein Teil dieser Sequenz als beispielhafte Zielsequenz für den DNA-Hybridisierungssensor verwendet.

Ziel-DNA

Mit T15 (15 Basen) und T30 (30 Basen) werden zwei unterschiedlich lange Oligonukleotide mit Teilen der oben genannten Sequenz als Zielmoleküle (engl. targets) für den Sensor verwendet: T15 CCTGTGGAGAAGTCT 15

T30 CTGACTCCTGTGGAGAAGTCTGCCGTTACT 30

Die molekulare Masse der Sequenzen beträgt 4,6 kDa für T15 und 9,2 kDa für T30.

Sonden-DNA

Um die Ziel-DNA auf dem Sensor per Hybridisierung immobilisieren zu können, muss die entsprechende Komplementärsequenz als Sonden-DNA (engl. probe) verwendet werden. Auch hier werden zwei unterschiedlich lange Teilsequenzen verwendet, P15 (15 Basen) und P30 (30 Basen):

P15 AGACTTCTCCACAGG 15

P30 AGTAACGGCAGACTTCTCCACAGGAGTCAG 30

Die molekulare Masse der Sequenzen beträgt 4,5 kDa für P15 und 9,2 kDa für P30. Die Hybridisierung der Sequenzen mit den Targetsequenzen ist jeweils bei Raumtemperatur möglich. Nach Gleichung 2.2 beträgt die Schmelztemperatur der Sequenzen P15 und T15 34,4°C (auch bei P15 und T30 bzw. P30 und T15) und bei P30 und T30 61,7°C.

Kontroll-DNA

Zur Kontrolle werden Oligonukleotide eingesetzt, die in der Hybridisierungszone Unterschiede zur Ziel-DNA aufweisen. Als Oligonukleotid T30F1 mit einer einzelnen ungepaarten Base wird ein Teil der Sequenz des nichtmutierten HBB-001 Gens verwendet (entsprechend dem "gesunden" Menschen):

T30F1 CTGACTCCTGAGGAGAAGTCTGCCGTTACT 30

Weiterhin wird ein Kontroll-Oligonukleotid T30F3 mit drei ungepaarten Basen verwendet. Dieses weist zusätzlich zur Mutation der Sequenz T30F1 noch zwei weitere, frei gewählte Mutationen auf. Alle drei Mutationen liegen dabei sowohl beim Sondenoligonukleotid P30 als auch bei P15 innerhalb der Hybridisierungszone:

T30F3 CTGACTCTTGAGGAGAAGCCTGCCGTTACT 30

Die molekulare Masse der Sequenzen beträgt für T30F1 und T30F3 jeweils 9,2 kDa. Eine erfolgreiche Hybridisierung mit den Sonden P15 und P30 ist aufgrund der Sequenzfehler für beide Kontrollsequenzen T30F1 und T30F3 theoretisch nicht möglich.

5.3.2. Hybridisierung von 15 bp Sequenzen

Um den Einfluss der Hybridisierung auf den Sensor zu ermitteln, wird zunächst ein Ausgangswert des Sensors in einer definierten Pufferlösung ermittelt. Anschließend wird die komplementäre DNA-Sequenz, gelöst in der identischen Pufferlösung, hinzugegeben und die Reaktion des Sensors beobachtet. Dabei sind prinzipiell alle in Kapitel 5.2 genannten Messmethoden verwendbar.



Abb. 5.18.: Drainstrommessung Hybridisierung 15 bp DNA: Durch Zugabe der komplementären DNA-Sequenz T15M verringert sich der Drainstrom im Vergleich zum Ausgangswert um 3,7%.

In Abbildung 5.18 ist exemplarisch eine derartige Messung dargestellt. Es handelt sich um eine Drainstrommessung, bei der der Drainstrom im Verlauf einer Hybridisierungsmessung mit dem Ausgangswert normiert dargestellt ist. Ein Sensor mit einer aktiven Fläche von $w \times I = 400 \times 100 \,\mu\text{m}^2$ wird zunächst für 10 min photochemisch TFAAD- $(\sigma \approx 5 \cdot 10^{13} \,\text{cm}^{-2})$ und im Anschluss mit der 15 bp Sondensequenz P15 biofunktionalisiert. In der Messung wird zunächst ein Referenzwert in 10 mM Phosphatpuffer (pH7) aufgenommen. Anschließend werden bei $t = 30 \,\text{s} \, 100 \,\mu\text{l}$ der komplementären DNA-Sequenz mit einer Konzentration von 1 $\mu\text{mol I}^{-1}$ in der identischen Pufferlösung zugegeben. Es resultiert eine Abnahme des Drainstroms, die wenige Minuten nach der Zugabe $-3,2 \,\mu\text{A}$ oder $-3,7 \,\%$ des Ausgangswerts beträgt. Ein ähnliches Verhalten, mit Zeit- und Änderungsraten in einer vergleichbaren Größenordnung wird auch in verschiedenen Publikationen erreicht [50, 58].

Mit Hilfe der Steilheit der Transferkennlinie am Arbeitspunkt (Abb. 5.19) kann dieser Wert in eine entsprechende Oberflächenpotentialänderung umgerechnet werden (Gl. 5.7):

$$\Delta \Phi = \frac{\Delta I_{\rm D}}{g_{\rm m}} = \frac{-3.2\,\mu\text{A}}{90.0\,\mu\text{S}} = \underline{-36\,\text{mV}}.\tag{5.7}$$

Zur Kontrolle kann die Oberflächenpotentialänderung auch direkt aus der Verschiebung der Transferkennlinie bestimmt werden. Im Zuge der Drainstrommessung aus Abbildung 5.18 werden dazu die vor und nach der Hybridisierung aufgenommenen Transferkennlinien des Sensors betrachtet (Abb. 5.19). Aus der Verschiebung von $\Delta U_{ref} = 51 \text{ mV}$ wird die Oberflächenpotentialänderung nach Gleichung 5.8 bestimmt:

$$\Delta \Phi = -\Delta U_{\rm ref} = -51 \,\mathrm{mV}. \tag{5.8}$$

Beide für die Oberflächenpotentialänderung berechneten Werte liegen somit in einer vergleichbaren Größenordnung und im Bereich der in Kapitel 2.1 theoretisch vorausgesagten



Abb. 5.19.: Transferkennlinien (Ausschnitt) Hybridisierung 15 bp DNA: Durch Zugabe der komplementären DNA-Sequenz T15M verschiebt sich die Kennlinie im Vergleich zum Ausgangswert um 51 mV. Am Arbeitspunkt (Kreuz) wird eine Steilheit von 90,0 μS ermittelt.

Werte. Die unterschiedlichen Werte der Referenzpotentialänderung widersprechen sich nicht zwangsläufig, da aufgrund einer leichten Drift des Sensorsignals im Anschluss an die Hybridisierung und Lageänderungen der Sonden beim Durchlaufen der Transferkennlinien eine gewisse Abweichung zwischen beiden Werten zu erwarten ist. Somit sind die Messungen ein starker Hinweis darauf, dass die Stromänderung und die Verschiebung der Transferkennlinie tatsächlich durch die Hybridisierung der DNA-Stränge induziert ist.

5.3.3. Hybridisierung von 30 bp Sequenzen

Bestimmung der Oberflächenpotentialänderung

Ahnliche Ergebnisse wie bei den 15 bp Sequenzen zeigen sich auch bei den 30 bp Oligonukleotiden. In Abbildung 5.20 ist eine Beispielmessung für diesen Fall dargestellt. In diesem Beispiel handelt sich um eine Referenzpotentialmessung eines Sensors mit einer aktiven Fläche von $w \times I = 400 \times 50 \,\mu\text{m}^2$, der 20 min photochemisch TFAAD- ($\approx 1.5 \cdot 10^{14} \,\text{cm}^{-2}$ und im Anschluss mit der 30 bp Sondensequenz P30 biofunktionalisiert ist. Auch hier wird zunächst ein stabiles Sensorsignal im Referenzpuffer (10 mM Phosphatpuffer, pH7) abgewartet, bevor bei $t = 20 \,\text{min} 50 \,\mu\text{l}$ der komplementären DNA-Sequenz T30M mit einer Konzentration von 1 $\mu\text{mol} \,\text{l}^{-1}$ in einer TEA-(Triethanolamin)/Phosphatpuffermischung (pH ≈ 6.2) zugegeben werden. Nach dem durch den Pufferwechsel induzierten Sprung im Messsignal resultiert ein Anstieg des Referenzpotentials, der 20 Minuten nach der Zugabe $\Delta U_{\text{ref}} = +46 \,\text{mV}$ beträgt. Nach einem Spülvorgang mit dem Referenzpuffer wird der Einfluss des Pufferwechsels neutralisiert, wohingegen der Einfluss durch die Hybridisierung erhalten bleibt. Es zeigt sich ein (leicht instabiler) Referenzspannungswert, der gegenüber dem Signal zu Beginn der Messung um $\Delta U_{\text{ref}} \approx +52 \,\text{mV}$ erhöht ist.



Abb. 5.20.: Referenzpotentialmessung Hybridisierung 30 bp DNA: Unmittelbar nach Zugabe der komplementären DNA-Sequenz T30M ändert sich das Sensorsignal aufgrund des nicht angepassten pH-Werts der DNA-Lösung. Im Anschluss zeigt sich eine Anhebung des Referenzpotentials um 46 mV. Nach einem Spülvorgang mit dem Referenzpuffer wird der Effekt des pH-Unterschieds eliminiert. Im Vergleich zum Ausgangswert ergibt sich nun eine Anhebung des Referenzpotentials um 52 mV.



Abb. 5.21.: Transferkennlinien (Ausschnitt) Hybridisierung 30 bp DNA: Durch Zugabe der komplementären DNA-Sequenz T30M verschiebt sich die Kennlinie im Vergleich zum Ausgangswert um 37 mV.

Zum Vergleich wird auch bei dieser Messung die Verschiebung der Transferkennlinie im Bereich des Arbeitspunktes betrachtet (Abb. 5.21). Hierbei zeigt sich eine Verschiebung um $\Delta U_{ref} = 37 \text{ mV}.$

Wie die Messung mit den kürzeren Oligonukleotiden resultiert die Hybridisierungsmessung mit den 30 bp langen Sequenzen in Sensorsignalen, die einer Änderung des Oberflächenpotentials durch die Hybridisierung nach Gleichung 5.8 in der Größenordnung $-100 \text{ mV} < \Delta \phi < -10 \text{ mV}$ entsprechen. Somit liegt auch diese Messung im Bereich der in Kapitel 2.1 prognostizierten Werte.

In diesem Intervall liegt auch der Großteil der erfolgreichen Hybridisierungsmessungen, die im Rahmen der Arbeit durchgeführt wurden. Die wenigen Ausnahmen können in zwei Gruppen aufgeteilt werden:

- Messungen, die auf einen stärkeren Abfall des Referenzpotentials schließen lassen: In einzelnen Messungen konnten durch die Hybridisierung reversible Verschiebungen der Transferkennlinie um bis zu -200 mV detektiert werden. Signale in dieser Größenordnung konnten im Rahmen der Arbeit jedoch nicht gezielt reproduziert werden und können daher nicht näher analysiert werden.
- Messungen, die ein inverses Sensorsignal (bei DNA einen Anstieg des Drainstroms oder eine positive Oberflächenpotentialänderung) als Ergebnis liefern: Dieses Verhalten konnte in mehreren Messungen nachgewiesen werden und wird in Kapitel 5.3.9 beschrieben und diskutiert.



Bestimmung der Zeitkonstanten

Abb. 5.22.: Zeitkonstante $\tau_{0,99}$ bei der DNA-Hybridisierung: Kontrollmessungen mit a) nichtfunktionalisiertem Sensor, b) nichtkomplementären DNA-Sequenz; c) Detektionsmessung mit Hybridisierung (orange) und Denaturierung.

Die Detektion der Hybridisierung ist auch über die Zeitkonstanten möglich. Eine exemplarische Messung hierzu ist in Abbildung 5.16 (S. 100) dargestellt.

Abbildung 5.22c zeigt das Verhalten der Zeitkonstante $\tau_{0,99}$ im Rahmen einer Hybridisierungsmessung. Die Zeitkonstante $\tau_{0,99}$ wird für die Detektion der DNA-Hybridisierung in diesem Fall gewählt, da die anderen untersuchten Zeitkonstanten $\tau_{0,90}$, $\tau_{0,95}$ und τ_{A} unterhalb des Detektionslimits des Versuchsaufbaus liegen oder sehr stark streuen. Bei $\tau_{0,99}$ zeigt sich durch die Hybridisierung ein signifikanter Anstieg der Zeitkonstante. Da sich durch die Hybridisierung die Ladung der Sonden im Vergleich zu ihrer Masse nur unwesentlich ändert, ist dieses Verhalten insbesondere auf die geringere Flexibilität der Doppelhelix zurückzuführen. Die unterschiedlichen Absolutwerte vor den jeweiligen Experimenten resultieren aus der Verwendung unterschiedlicher Sensoren.

5.3.4. Kontrollmessungen

Dass die bei den Messungen detektierten Signale tatsächlich auf der Wechselwirkung von Sonden-DNA und komplementärer Ziel-DNA beruhen, zeigen im Folgenden zwei Kontrollmessungen.

DNA auf unfunktionalisiertem Transistor

Die Notwendigkeit der Biofunktionalisierung zur Immobilisierung der Ziel-DNA zeigt die in Abbildung 5.23 dargestellte Messung. Hier wird in einer Referenzpotentialmessung der Einfluss der DNA-Sequenz T30M, deren Zugabe zum entsprechend funktionalisierten Sensor einen Anstieg des Referenzpotentials von $\approx 50 \text{ mV}$ ergeben hat (Abb. 5.20), auf einen Sensor ohne Sondenmoleküle beobachtet.



Abb. 5.23.: Kontrollmessung DNA auf unfunktionalisiertem Sensor: Der Sensor zeigt in der Referenzpotentialmessung nahezu keine Reaktion auf die im identischen Puffer zugeführte DNA.

Zunächst wird wie bei den anderen Messungen ein stabiles Sensorsignal im Referenzpuffer (10 mM Phosphatpuffer, pH7) abgewartet, bevor bei $t = 10 \text{ min } 2 \times 50 \,\mu\text{I}$ der DNA-Sequenz T30M mit einer Konzentration von 1 $\mu\text{mol I}^{-1}$ im identischen Phosphatpuffer zugegeben werden. Der Sensor reagiert mit zwei kurzen Spannungssprüngen auf die Injektion der DNA, um kurz darauf in die Nähe des Ausgangssignals zurückzukehren. Im betrachteten Zeitraum bis t = 30 min zeigt der Sensor eine leicht driftende Referenzspannungskurve mit einer maximalen Abweichung vom Startwert von $\pm 4 \,\text{mV}$. Dies ist signifikant weniger als beim funktionalisierten Sensor. Auch die Betrachtung der Zeitkonstanten (Abb. 5.22a) zeigt bei einem unfunktionalisierten Transistor keine signifikante Änderung des Werts. Diese Beobachtungen lassen darauf schließen, dass für die Detektion von DNA-Sequenzen die Funktionalisierung eine notwendige Voraussetzung ist.

Nicht-komplementäre DNA auf funktionalisiertem Sensor

Die Selektivität der Hybridisierung zeigt sich in einer weiteren Kontrollmessung mit nichtkomplementärer DNA auf einem funktionalisierten Sensor (Abb. 5.24). Die Messung ist dabei identisch gestaltet wie die Detektion der Hybridisierung der 15 bp Sequenz (Abb. 5.18) und wird mit demselben Sensor am gleichen Arbeitspunkt durchgeführt.



Abb. 5.24.: Kontrollmessung nicht-komplementäre DNA: Die Drainstrommessung fällt geringfügig unter den Ausgangswert zurück.

Nach Abwarten des obligatorischen Referenzsignals in 10 mM Phosphatpuffer zu Beginn der Messung werden dem Sensor bei $t = 30 \text{ s} 50 \text{ }\mu\text{l}$ der DNA-Sequenz T30F1 zugeführt. Die Sequenz, die mit einer Konzentration von 1 µmol l⁻¹ im identischen Phosphatpuffer gelöst ist, weist zur komplementären Sequenz genau einen Fehler auf: an Position 11 ist Adenin anstelle von Thymin lokalisiert. Nach Injektion der DNA in die Messzelle zeigt sich zunächst ein innerhalb von wenigen Minuten vorübergehender Anstieg des Drainstroms, bevor er sich nach $\approx 10 \text{ min}$ knapp unterhalb des Referenzwerts stabilisiert. Die Differenz zum Referenzwert vor Beginn der Messungen beträgt dabei -0,56% oder $-0,48 \,\mu\text{A}$, was nach Gleichung 5.7 einer Oberflächenpotentialänderung von $\Delta \Phi = -5,3 \,\text{mV}$ entspricht. Die Abweichung vom Referenzwert ist somit deutlich kleiner als der Vergleichswert von $\approx -50 \,\text{mV}$ aus der Messung mit der exakt komplementären Sequenz T15M. Die vorhandene geringe Abweichung zum Ausgangswert kann durch Sensordrift und die in geringem Umfang auch mit der einfach unangepassten Komplementärsequenz möglichen Hybridisierung der Sonden erklärt werden.

Auch bei der Betrachtung der Zeitkonstanten (Abb. 5.22b) zeigt sich bei Verwendung der nicht-komplementären Zielsequenz keine signifikante Änderung des Werts. Die Selektivität des Sensors in Bezug auf die zu detektierende Zielsequenz ist somit gewährleistet.

5.3.5. Wiederverwendbarkeit der Sensoren

Ein wichtiges Unterscheidungsmerkmal des Sensors im Vergleich zu am Markt befindlichen DNA-Nachweisen ist, dass er aufgrund der Stabilität des Galliumnitrids und der kovalenten Anbindung der Sonden prinzipiell mehrmals verwendbar ist. Um diesen Vorteil nutzen zu können, müssen die Sonden durch einen Denaturierungsprozess wieder von den Zielsequenzen getrennt werden. Hierzu werden verschiedene Prozesse verwendet:

- Schmelzen durch Erhitzen [138]: Der Sensor wird in einer Pufferlösung 20 K über den berechneten Schmelzpunkt hinaus erhitzt, anschließend mit DI-Wasser gespült und in frischer Pufferlösung gelagert.
- Schmelzen durch chemische Destabilisierung [138]: Der Sensor wird in einer konzentrierten (8,3 mol I⁻¹) Urealösung auf 37°C erhitzt, anschließend mit DI-Wasser gespült und in frischer Pufferlösung gelagert.



Abb. 5.25.: Wiederverwendbarkeit des Sensors: Die Transferkennlinie kann nach der Hybridisierung durch einen Denaturierungsprozess (hier: Urea) wieder annähernd zurückgesetzt werden.

Bei beiden Prozessen werden die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Basenpaaren gelöst: Beim Erhitzen wird dies durch die erhöhte kinetische Energie der Moleküle erreicht, bei der chemischen Destabilisierung durch die Einlagerung von abschirmenden Stoffen wie Urea zwischen die Basen. Im Experiment (Abb. 5.25) zeigt sich, dass die durch die Hybridisierung der Sonden induzierte Verschiebung der Transferkennlinie von $\Delta U_{ref} = +54 \text{ mV}$ durch einen Denaturierungsprozess wieder aufgehoben werden kann ($\Delta U_{ref} = -13 \text{ mV}$ im Vergleich zur Ausgangslage).

Auch bei der Betrachtung der Zeitkonstanten zeigt sich, dass der Sensor durch den Denaturierungsprozess wieder in den Ursprungszustand versetzt werden kann. Hier muss jedoch zwischen den Denaturierungsprozessen unterschieden werden: Mit der konzentrierten Urealösung wird der Ausgangswert im Regelfall nicht wieder erreicht, sondern liegt etwas höher als der Ausgangswert. Eine Wiederholung der Detektion der Hybridisierung ist aber möglich (vgl. Abb. 5.26). Eine vollständige Wiederherstellung des Ausgangszustands ermöglicht im Experiment aber nur die thermische Denaturierung (Abb. 5.22c).

5.3.6. Reproduzierbarkeit bei identischem Sensor

Da im vorhergehenden Abschnitt gezeigt werden konnte, dass durch Denaturierungsprozesse ein hybridisierter Sensor wieder in seinen Ausgangszustand zurückversetzt werden kann, ist es von Interesse, ob der Sensor bei der Wiederholung eines Experiments auch vergleichbare Messwerte liefert.



Abb. 5.26.: Reproduzierbarkeit bei identischem Sensor: Die Oberflächenpotentialänderungen in elf aufeinanderfolgenden Hybridisierungszyklen eines P15-biofunktionalisierten Sensors mit der komplementären Zielsequenz T15 divergieren deutlich.

Abbildung 5.26 zeigt aus elf aufeinanderfolgenden Hybridisierungszyklen gewonnene Oberflächenpotentialänderungen auf. Die in Drainstrommessungen ermittelten Stromänderungen werden dabei nach Gleichung 5.7 in die entsprechenden Oberflächenpotentialänderungen umgerechnet. Zwischen den einzelnen Hybridisierungsschritten werden die Sonden jeweils durch ein 30-minütiges Bad in 8,3 mol I⁻¹ Urealösung denaturiert. Es zeigt sich, dass die ermittelten Werte untereinander starke Abweichungen aufweisen, bei einem Mittelwert von $\mu = -16,6 \text{ mV}$ beträgt die Standardabweichung $\sigma = 6,3 \text{ mV}$ ($\approx 38\%$ des Mittelwerts). Die Messergebnisse mit den Sensoren sind somit nicht aussagekräftig genug, um beispielsweise eine sichere und exakte Quantifizierung der Ziel-DNA-Konzentration zu ermöglichen. Eine qualitative Aussage über die Existenz der Ziel-DNA bei entsprechenden Konzentrationen ist hingegen in jedem der Einzelversuche möglich.

5.3.7. Reproduzierbarkeit bei identisch prozessierten Sensoren



Abb. 5.27.: Reproduzierbarkeit bei identisch prozessierten Sensoren: Die Drainströme bei den verschiedenen Sensoren liegen deutlich auseinander, da die Sensoren unterschiedliche Arbeitspunkte aufweisen. Auch die entsprechenden Oberflächenpotentialänderungen unterscheiden sich deutlich.

Ein ähnliches Bild zeigt sich, wenn die jeweils erste Detektion mit einem anderen, identisch prozessierten Sensor erfolgt. Eine Serie von drei Drainstrommessungen (Abb. 5.27) zeigt bei der Hybridisierung Oberflächenpotentialänderungen zwischen -11,7 und -28,1 mV. Erschwert wird die Vergleichbarkeit der Ergebnisse hierbei durch die unterschiedlichen Transferkennlinien der Sensoren, die zu unterschiedlichen Arbeitspunkten (-0,32 V $\leq U_{ref} \leq -0,09$ V) und unterschiedlichen Transkonduktanzen ($71 \ \mu\text{S} \leq g_m \leq 197 \ \mu\text{S}$) führt.

Wie im Fall der Reproduzierbarkeitsexperimente mit einem einzelnen Sensor zeigen auch diese Ergebnisse, dass quantitative Rückschlüsse aus dem Sensorsignal mit den verwendeten Sensoren nur sehr eingeschränkt möglich sind. Die qualitative Aussage über die Existenz der Ziel-DNA in der Analytlösung bleibt davon jedoch unberührt.

5.3.8. Detektionslimit

Quantitative Messungen mit dem DNA-Hybridisierungssensor haben sich durch die Reproduzierbarkeitsexperimente als äußerst schwierig und unzuverlässig erwiesen, lediglich qualitative Aussagen können in den gezeigten Messungen sicher getroffen werden. Auch für diese wird allerdings eine Mindestmenge von Ziel-DNA benötigt, um ein Sensorsignal zu generieren, da bei Unterschreiten einer gewissen Anzahl von Sequenzkopien nur ein Bruchteil der Sonden mit einem Ziel-DNA-Strang hybridisieren wird.

Um diese Nachweisgrenze für die Sensoren zu bestimmen, wird eine Konzentrationsreihe der komplementären DNA-Sequenz T30M erstellt. Mit einem Sensor werden nacheinander verschiedene Drainstrommessungen durchgeführt: zunächst eine Referenzmessung mit reiner Pufferlösung, anschließend neun Hybridisierungsmessungen mit je 50 µl T30M in 10 mM Phosphatpuffer bei steigenden Konzentrationen der DNA-Sequenz von 10^{-14} mol I^{-1} bis 10^{-6} mol I^{-1} . Zwischen den einzelnen Messungen werden die Sonden jeweils durch ein 30-minütiges Bad in 8,3 M Urealösung bei 37°C denaturiert. Die Grenzen sind dabei so gewählt, dass bei der niedrigsten Konzentration von 10^{-14} mol I^{-1} kein Sensorsignal erwartet wird ($\approx 3 \cdot 10^5$ Ziel-DNA-Moleküle auf $\approx 3 \cdot 10^{10}$ Sondenmoleküle), die höchste Konzentration entspricht der Konzentration, bei der sowohl andere Veröffentlichungen als auch die in den Kapiteln 5.3.2 und 5.3.3 gezeigten Beispielmessungen ein durch die Hybridisierung hervorgerufenes Signal zeigen.



Abb. 5.28.: Nachweisgrenze DNA-Hybridisierung: Eine Referenzpotentialänderung mit einem Betrag von $> 2\sigma$ wird erst bei 10^{-6} mol I⁻¹ Ziel-DNA-Konzentration erreicht. Die Messergebnisse sind um eine konstante Drift bereinigt, die Standardabweichung σ des Sensors wird aus der Bestimmung der Reproduzierbarkeit (Kap. 5.3.6) übernommen.

Die ermittelten Referenzpotentialänderungen (Abb. 5.28) weisen über den ganzen Konzentrationsbereich – ähnlich wie bei der Bestimmung der Reproduzierbarkeit mit identischem Sensor (Abb. 5.26) – eine relativ starke Streuung auf. Definiert man eine erfolgreiche Detektion der Hybridisierung als ein Messsignal, dessen Betrag größer als die doppelte Standardabweichung aus der Reproduzierbarkeitsmessung beim identischen Sensor ist, so ist dies nur bei der Konzentration von 10^{-6} mol l⁻¹ der Fall. Diese ist somit die untere Nachweisgrenze für den Sensor. Zusammen mit dem minimalen Analytvolumen von $20\,\mu$ l ergibt sich eine für eine erfolgreiche Detektion nötige Mindestanzahl von $6 \cdot 10^{11}$ Kopien. Dieser Wert ist deutlich höher als beispielsweise bei optischen Sensorprinzipien, liegt aber in derselben Größenordnung wie der einzige Vergleichswert für DNA aus den Referenzpublikationen von $1,5 \cdot 10^{11}$ Kopien [58].

5.3.9. Inverse Messsignale

Bei einigen Messungen im Rahmen der Arbeit wurde durch die Hybridisierung ein inverses Messsignal festgestellt. Ein Beispiel für eine derartige Messung ist in Abbildung 5.29 dargestellt. Hier wird eine Drainstrommessung während der Hybridisierung eines P15biofunktionalisierten Sensors mit der komplementären Sequenz T15 in 10 mM Phosphatpuffer durchgeführt. Im Gegensatz zum erwarteten Verhalten, dass durch die negative Ladung der hybridisierten DNA eine negative Oberflächenpotentialänderung $\Delta \phi$ und eine Verringerung des Drainstroms resultieren (vgl. Abb. 5.18), wird hier ein deutlicher Anstieg des Drainstroms um $\approx +2,5\%$ gemessen. Die Dauer des Anstiegs ist dabei nahezu identisch mit der Dauer des Rückgangs in der Vergleichsmessung, was darauf schließen lässt, dass das Sensorsignal auch in diesem Fall durch die Hybridisierung der Sonden erzeugt wird.



Abb. 5.29.: Inverses Messignal bei der Hybridisierung: Eine Drainstrommessung während der Hybridisierung zeigt einen deutlichen Anstieg des Stroms, obwohl aufgrund der negativen Ladung der DNA eine Verringerung zu erwarten ist.

Um dieses Verhalten erklären zu können, muss ein genauerer Blick auf die Versuchsbedingungen geworfen werden. Insbesondere die Lage des Arbeitspunkts des Transistors scheint für diesen Effekt von besonderer Bedeutung zu sein, da Messungen mit inversem Sensorsignal insbesondere bei Referenzspannungen im positiven Bereich oder in unmittelbarer Umgebung des Nullpunkts auftreten. Der Arbeitspunkt wird in der Regel, um ein maximales Sensorsignal erwarten zu können, am steilsten Punkt der Transferkennlinie gewählt. Dieser divergiert unter verschiedenen Sensoren jedoch deutlich. Häufig treten Werte im Bereich von $-500 \text{ mV} < U_{\text{ref, AP}} < 0 \text{ mV}$ auf, in einzelnen Fällen ist der steilste Punkt der Transferkennlinie jedoch auch im positiven Bereich zu finden. In der in Abbildung 5.29 dargestellten Messung wird der Transistor beispielsweise bei einer Referenzspannung von +400 mV betrieben, was (auch unter Berücksichtigung des Oberflächenpotentials von GaN-HEMTs von $\approx 300 \text{ mV}$ [139]) zu einem in Richtung der Sensoroberfläche gerichteten elektrischen Felds führt. Nach Kapitel 5.2.6 hat die Polarität dieses Feldes auch einen Einfluss auf die Lage der Sondenmoleküle – im Fall der DNA sorgt das zur Oberfläche gerichtete Feld für eine maximal von der Oberfläche entfernte Ausrichtung.



Abb. 5.30.: Ladungsmodell bei inversen Messsignalen: Wird der Arbeitspunkt so gewählt, dass die Sondenmoleküle von der Oberfläche weg und zum Großteil aus dem Bereich der Doppelschicht heraus bewegt werden, kann im sensitiven Bereich ein Überschuss an inverser Ladung vorliegen und somit ein inverses Messsignal resultieren.

Die Entfernung der DNA von der Sensoroberfläche hat dabei eine doppelte Auswirkung auf die Ladungsverteilung. Zum einen sinkt der Anteil der detektierten negativen Ladungen der DNA, die sich innerhalb der elektrochemischen Doppelschicht nahe der Halbleiteroberfläche befindet. Zum anderen lagern sich zwischen der DNA und der Halbleiteroberfläche bevorzugt positive Ionen der Pufferlösung an, die zum Ladungsausgleich der negativen Ladungen der DNA benötigt werden. Diese Ladungsverschiebungen können im sensitiven Bereich der elektrochemischen Doppelschicht zu einem Überschuss an positiven Ladungsträgern, also einer Inversion der Potentialänderung $\Delta \phi$, führen (Abb. 5.30). Entsprechend wird der im Experiment beobachtete Anstieg des Drainstroms indirekt durch die zusätzli-

chen, durch die Hybridisierung notwendigen positiven Ausgleichsladungsträger verursacht. Mit umgekehrten Vorzeichen ist dieses Modell ebenfalls für die Detektion positiv geladener Biomoleküle bei negativen Referenzspannungen einsetzbar. Eine derartige Messung ist in Kapitel 5.4.2 dargestellt.

5.3.10. Sensordrift

Die Messungen in diesem Kapitel sind häufig schwierig zu interpretieren und von nur begrenzter Aussagekraft, da aufgrund der Instabilität der Sensoren und der daraus folgenden schwierigen Reproduzierbarkeit der Experimente die ermittelten Sensorgrößen nicht direkt miteinander vergleichbar sind.



Abb. 5.31.: Driftverhalten des biofunktionalisierten Sensors: Drainstrommessungen von Sensoren nach der Funktionalisierung mit DNA-Sondenmolekülen zeigen ein instabiles Verhalten auf.

Die Instabilität der Sensoren wird durch Langzeit-Drainstrommessungen dokumentiert (Abb. 5.31). Hierzu werden zwei Sensoren photochemisch mit Sonden-DNA biofunktionalisiert und im Anschluss in einer lichtdichten Kammer gemessen. Beide Sensoren zeigen im Verlauf von 18 bzw. 24 h Messzeit ein instabiles Verhalten mit Drift und abrupten Sprüngen in beide Richtungen.

Der Mittelwert des Betrags der zeitlichen Ableitung des Drainstroms f wird dabei als Indikator für die Stabilität verwendet (Gl. 5.9):

$$f = \frac{1}{T} \cdot \int_{0}^{T} \left| \frac{\mathrm{d}I_{\mathrm{D}}}{\mathrm{d}t} \right| \mathrm{d}t.$$
 (5.9)

Anschaulich betrachtet ist dies der Wert, um den sich das Sensorsignal innerhalb einer bestimmten Zeitspanne durchschnittlich ändert. Die erhaltenen Werte für die Messungen im Diagramm von 24,5 μ A h⁻¹ (Sensor 1) bzw. 39,6 μ A h⁻¹ (Sensor 2) bedeuten somit, dass das Sensorsignal im Lauf einer Stunde im Schnitt um $\approx 18\%$ (Sensor 1) bzw. $\approx 28\%$ (Sensor 2) vom Ausgangswert abweicht. Bei genauerer Betrachtung der Kurven kann jedoch auch festgestellt werden, dass zwischen Phasen starker Drift und Sprüngen zwischenzeitlich immer wieder Phasen auftreten, in denen *f* deutlich geringer und der Sensor relativ stabil ist (z. B. Sensor 1 3–5 h: $f = 4,2 \,\mu$ A h⁻¹; Sensor 2 0–2,5 h: $f = 3,3 \,\mu$ A h⁻¹). In diesen Phasen ist die Durchführung von Messungen mit dem Sensor möglich.

5.3.11. Zusammenfassung DNA-Hybridisierung

Sowohl die Referenzpotential- als auch die Zeitkonstantenmessungen zeigen, dass HEMT-Biosensoren zur labelfreien Detektion der Hybrdisierung komplementärer DNA-Stränge geeignet sind. Dies wurde durch Beispielmessungen mit 15 und 30 bp komplementären DNA-Sequenzen und Kontrollmessungen mit nicht-funktionalisierten Sensoren sowie nichtkomplementären DNA-Sequenzen nachgewiesen. Beide Messmethoden haben ihre Vorund Nachteile. Während die Referenzpotentialmessungen Hinweise auf die beteiligten Ladungen und Potentiale geben, weist die Messmethode gleichzeitig oft starke Drift und Querempfindlichkeiten auf, z. B. gegenüber dem pH-Wert der Pufferlösung. Bei den Zeitkonstantenmessungen kann die Hybridisierung insbesondere mit der Zeitkonstante $\tau_{0,99}$ detektiert werden. Sie zeigt sich dort durch eine signifikante Erhöhung des ermittelten Werts bei geringen Standardabweichungen. Allerdings erlauben die Messwerte bei diesem Messprinzip keine Rückschlüsse über die genauen Vorgänge auf der Sensoroberfläche.

Aufgrund der strukturellen Stabilität der Transistoroberfläche und der kovalenten Funktionalisierung ist es möglich, die Sensoren durch Denaturierungsprozesse mehrfach zu verwenden. Die bei aufeinanderfolgenden Messungen detektierten Signale streuen dabei stark, lassen dabei aber keine Degradation der Empfindlichkeit durch Korrosion des Sensors erkennen. Die starken Abweichungen der Sensorsignale, die nur teilweise erklärt werden können, ist dennoch problematisch für die praktische Anwendbarkeit des Sensors, da somit eine Quantifizierung der Ziel-DNA nicht zuverlässig möglich ist. Zusätzlich ist das Detektionslimit des Sensors durch die Instabilität des Sensors limitiert, da nur vergleichsweise große Sensorsignale sicher erkannt werden können.

Um den Sensor für kommerzielle Anwendungen wettbewerbsfähig mit den konkurrierenden Systemen zu machen, müssen die Instabilität und die mangelnde Reproduzierbarkeit des Sensors weiter verbessert werden. Dadurch können nahezu alle der genannten Einschränkungen verbessert werden.

5.4. Antikörper-Antigen-Komplexe

Um die vielseitige Verwendbarkeit des Sensors zu untersuchen, werden Messungen von Proteinen in gebrauchtem Zellkulturmedium durchgeführt. Im Gegensatz zu den DNA-Messungen liegt das Zielmolekül bei diesen Messungen in einer komplexen Matrix aus diversen Aminosäuren, Nährstoffen, Vitaminen und Salzen aus dem Medium und zusätzlichen Stoffwechselprodukten der Zellkultur vor.

Für die Messungen werden Sensoren mit einem Antikörper funktionalisiert, um ein spezifisches Protein zu detektieren. Der Sensor wird dazu zunächst 8 min photochemisch TFAAD-funktionalisiert ($\sigma \approx 5 \cdot 10^{13} \text{ cm}^{-2}$). Anschließend erfolgt die Biofunktionalisierung gemäß Kapitel 4.6 mit dem Antikörper als Sondenmolekül.

Die Untersuchung der Proteindetektion beinhaltet neben der eigentlichen Detektionsmessung des Zielproteins mit dem antikörperfunktionalisierten Sensor zusätzlich Kontrollmessungen ohne Zielprotein bzw. ohne Antikörperfunktionalisierung, um zu zeigen, dass diese Elemente beide zur Generation eines Sensorsignals nötig sind und dieses somit tatsächlich auf der Immobilisierung des Zielproteins durch den Antikörper basiert.

5.4.1. Verwendete Proteine

CCL2

Als Zielmolekül wird CC-Chemokin-Ligand-2 (Abb 5.32, Abk. CCL2, auch monozytisch chemotaktisches Protein 1 bzw. MCP-1) gewählt, ein Signalprotein, das bei Entzündungsreaktionen produziert wird und zur chemotaktischen Rekrutierung von Monozyten bzw. T-Zellen dient [140].



Abb. 5.32.: Schematische Darstellung der Tertiärstruktur des CCL2. Wie bei anderen Chemokinen können eine dreisträngige antiparallele β -Faltblattstruktur und eine α -Helix erkannt werden. [141]

Im Rahmen der Arbeit wird CCL2 aus Makrophagenzelllinien aus dem Knochenmark der Maus (mus musculus) verwendet. Diese produzieren in der Zellkultur mindestens 40 verschiedene Zytokine, die in das Zellkulturmedium abgesondert werden, darunter auch CCL2 [142]. Das gebrauchte RPMI-1640 Zellkulturmedium enthält neben dem Zielmolekül mehr als 40 verschiedene Inhaltsstoffe [143] sowie weitere Stoffwechselprodukte der Zellkultur. Die Existenz von CCL2 wurde dabei vor der Messung mit einem Microarray nachgewiesen. Das gebrauchte Zellkulturmedium, das von der Forschungsgruppe T. Reinheckel am Zentrum für Biochemie und Molekulare Zellforschung (ZBMZ) der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg zur Verfügung gestellt wurde, wird bei den Versuchen ohne weitere Vorbehandlung direkt als Analyt verwendet und der Messzelle wie auch der verwendete 10 mM Phosphatpuffer (pH 7) über die Schlauchpumpe zugeführt.

CCL2 der Maus besteht ursprünglich aus einer Kette von 148 Aminosäuren, die nach der Genexpression durch weitere Prozessschritte auf eine Länge von 75 Aminosäuren gekürzt wird (Sequenz siehe Anhang A.3). Das resultierende Protein weist eine Masse von 8,7 kDa auf, der isoelektrische Punkt des Proteins liegt bei 9,25. Bei pH 7,0 wird somit eine positive Gesamtladung von +5,8 *e* erwartet [144]. Das Enzym liegt jedoch im biologischen Kontext oft nicht in Reinform vor, sondern glykosyliert. Dies bedeutet, dass an das Protein Saccharide angebunden sind, so dass es *in realitas* eine durchschnittliche Gesamtmasse von $\approx 20 - 30$ kDa aufweist [145].

Anti-CCL2-Antikörper

Als Sondenmoleküle zur Immobilisierung von CCL2 dienen polyklonale Anti-CCL2-Antikörper von Cell Signaling Technology, Inc. (CST #2029). Diese können über die Thiolreste im Protein vorhandenen Cysteins an den Crosslinker SSMCC angebunden werden (vgl. Abb. 4.25).

Die Antikörper werden durch Immunisierung mit Maus-CCL2-ähnlichen synthetischen Proteinen im Organismus von Kaninchen (oryctolagus cunicullus) produziert und im Anschluss aufgereinigt [145]. Die molekulare Masse der Antikörper sowie ihre genauen strukturellen und elektrischen Eigenschaften werden vom Hersteller nicht genannt, können aber durch Daten anderer Antikörper grob abgeschätzt werden. Der bei Säugetieren wichtigste Antikörpertyp Immunglobulin G weist beispielsweise ein Molgewicht von ≈ 150 kDa [146] und einen isoelektrischen Punkt – je nach Sequenz an den komplementaritätsbestimmenden Regionen – um 8 auf. Somit ist auch bei den Antikörpern eine positive Ladung zu erwarten.

5.4.2. CCL2-Detektion mit Referenzpotentialmessungen

Sensorverhalten im Kontakt mit Zellkulturmedium

Referenzpotentialmessungen zeigen, dass der Sensor bereits deutlich auf das CCL2-freie, frische Zellkulturmedium reagiert. Nach Kontakt mit dem Zellkulturmedium findet ein zweistufiger Prozess statt, der im Messsignal zu einem Anstieg der Referenzspannung führt. Der Vorgang ist durch einen Spülvorgang mit einem 10 mM Phosphatpuffer nicht reversibel und führt zusätzlich zu den Spannungssprüngen auch häufig zu einer Drift des Messsignals (Abb. 5.33). Eine exakte Erklärung für dieses Verhalten kann mit den gewonnenen Messdaten nicht gefunden werden. Eine mögliche Erklärung wäre die Adsorption



Abb. 5.33.: Einfluss des Zellkulturmediums (Referenzpotentialmessung): Beim ersten Kontakt mit Zellkulturmedium kann eine zweistufige Anhebung der Referenzspannung beobachtet werden.

von Lösungsbestandteilen auf der Sensoroberfläche, evtl. zwischen den Funktionalisierungsmolekülen.

Um den Effekt dieses ersten Kulturmedienkontakts bei den folgenden Messungen zu eliminieren, wird der Sensor bei diesen vor Beginn der eigentlichen Messungen bereits mit frischem Zellkulturmedium in Kontakt gebracht, bis ein lineares Ausgangssignal erreicht wird und anschließend mit Phosphatpuffer (pH 7) gespült.

Kontrollmessungen mit unfunktionalisiertem Sensor



Abb. 5.34.: Kontrollmessung ohne Funktionalisierung (Referenzpotentialmessung): Nach Kontakt mit CCL2-haltigem Zellkulturmedium und einem anschließenden Spülvorgang in Phosphatpuffer fällt das Signal wieder in Richtung des extrapolierten Ausgangssignals zurück.

Eine Kontrollmessung mit unfunktionalisertem Sensor und CCL2-haltigem, gebrauchtem Zellkulturmedium ist in Abbildung 5.34 dargestellt. Die Messung wird dabei analog zur Detektionsmessung mit dem funktionalisierten Sensor durchgeführt: Nach einem ersten Kontakt mit dem Zellkulturmedium wird der Sensor mit einer Flussrate von 0,5 ml min⁻¹ mit 10 mM Phosphatpuffer (pH 7) gespült. Es zeigt sich ein linear driftendes Sensorsignal, das als Referenzsignal verwendet wird.

Anschließend wird über die Schlauchpumpe CCL2-haltiges, gebrauchtes Zellkulturmedium in die Messzelle gegeben. Nach dem Transport durch die Schlauchpumpe in die Messzelle etwa zwei Minuten nach dem Fluidwechsel steigt die Referenzspannung aufgrund des leicht erhöhten pH-Werts des Zellkulturmediums (pH 7,4) gegenüber dem Phosphatpuffer an. An diesem Punkt wird der Medienfluss auf 0,1 ml min⁻¹ reduziert, um eine Wechselwirkung des Mediums mit der Sensoroberfläche zu ermöglichen. Es zeigen sich keine eindeutigen Signale im Referenzspannungsplot.

Etwa 40 Minuten später wird der Sensor mit 1,2 ml min⁻¹ Phosphatpuffer gespült. Das pH-induzierte Signal verschwindet dabei – nach wenigen Minuten ist das Sensorsignal in

die Region des extrapolierten Signals vom Beginn der Messung zurückgefallen; die Drift stabilisiert sich im Anschluss auf den Ausgangswert. Es bleibt ein geringes Sensorsignal von 16,0 mV, das durch unspezifische Adsorption, beispielsweise von Matrixproteinen, erklärt werden kann.



Kontrollmessungen mit CCL2-freiem Zellkulturmedium

Abb. 5.35.: Kontrollmessung ohne CCL2 (Referenzpotentialmessung): Nach erneutem Kontakt mit frischem Zellkulturmedium und einem anschließendem Spülvorgang mit Phosphatpuffer fällt das Signal annähernd auf die Extrapolation des ursprünglichen Driftsignals zurück.

Eine Kontrollmessung mit Anti-CCL2-antikörperfunktionalisertem Sensor und CCL2freiem, frischem Zellkulturmedium ist in Abbildung 5.35 dargestellt. Die Messung wird dabei analog zur Detektionsmessung mit dem CCL2-haltigen, gebrauchten Zellkulturmedium durchgeführt: Nach einem ersten Kontakt mit dem Zellkulturmedium wird der Sensor mit einer Flussrate von 0,5 ml min⁻¹ mit 10 mM Phosphatpuffer (pH 7) gespült. Es zeigt sich ein linear driftendes Sensorsignal, das als Referenzsignal verwendet wird.

Anschließend wird über die Schlauchpumpe erneut frisches Zellkulturmedium in die Messzelle gegeben. Nach dem Transport durch die Schlauchpumpe in die Messzelle etwa zwei Minuten nach dem Fluidwechsel steigt die Referenzspannung aufgrund des leicht erhöhten pH-Wert des frischen Zellkulturmediums (pH 7,6) gegenüber dem Phosphatpuffer an. An diesem Punkt wird der Medienfluss auf 0,1 ml min⁻¹ reduziert, um eine Wechselwirkung des Mediums mit der funktionalisierten Sensoroberfläche zu ermöglichen. Es zeigt sich, dass das Sensorsignal annähernd parallel zum ursprünglichen Signal weiter driftet.

Etwa 30 Minuten später wird der Sensor mit 1,2 ml min⁻¹ Phosphatpuffer gespült. Das pH-induzierte Signal verschwindet dabei – nach wenigen Minuten ist das Sensorsignal in den Bereich des extrapolierten Signals vom Beginn der Messung zurückgefallen. Ein klares Sensorsignal wird durch CCL2-freies, frisches Zellkulturmedium nicht erzeugt.



CCL2-Detektion mit funktionalisiertem Sensor

Abb. 5.36.: Detektion von CCL2 (Referenzpotentialmessung): Beim Kontakt mit dem CCL2-haltigen gebrauchten Zellkulturmedium kann ein zweistufiger Anstieg der Referenzspannung erkannt werden. Nach dem Spülen mit Phosphatpuffer zeigt sich das Sensorsignal mit nahezu identischer Drift wie zu Beginn der Messung, jedoch um einen Betrag von 64,1 mV gegenüber der Extrapolationsgeraden erhöht.

Ein deutliches Sensorsignal zeigt sich bei der Detektionsmessung mit Anti-CCL2antikörperfunktionalisierter Sensoroberfläche und CCL2-haltigem, gebrauchtem Zellkulturmedium (Abb. 5.36). Analog zu den Kontrollmessungen wird der Sensor auch hier zunächst mit frischem Zellkulturmedium in Kontakt gebracht, bevor er mit 10 mM Phosphatpuffer bei einer Flussrate von 0,5 ml min⁻¹ gespült wird. Es resultiert wie bei den Kontrollmessungen ein linear driftendes Sensorsignal, das als Referenzsignal verwendet wird.

Anschließend wird über die Schlauchpumpe CCL2-haltiges, gebrauchtes Zellkulturmedium in die Messzelle gegeben. Nach dem Transport durch die Schlauchpumpe in die Messzelle etwa zwei Minuten nach dem Fluidwechsel steigt die Referenzspannung aufgrund des leicht erhöhten pH-Wert des Zellkulturmediums (pH 7,4) gegenüber dem Phosphatpuffer an. An diesem Punkt wird der Medienfluss auf 0,1 ml min⁻¹ reduziert, um eine Wechselwirkung des Mediums mit der Sensoroberfläche zu ermöglichen. Darauf folgt ein charakteristischer zweiter Anstieg ab etwa 15 Minuten nach Beginn der Analytzufuhr, der – unter Berücksichtigung der Kontrollmessungen – mit der Immobilisierung von CCL2 durch die Antikörperfunktionalisierung gedeutet wird.

Etwa 70 Minuten später wird der Sensor mit 1,2 ml min⁻¹ Phosphatpuffer gespült. Das pH-induzierte Signal verschwindet dabei und nach wenigen Minuten stabilisiert sich die Drift auf den Wert vor Beginn der Messung. Zwischen dem Sensorsignal nach der Messung und der extrapolierten Ausgleichsgerade des initialen Sensorverhaltens wird eine deutliche Differenz von 64,0 mV als Resultat der Messung detektiert.

Die Messung zeigt somit einen deutlichen Effekt des CCL2-haltigen Mediums auf den funktionalisierten Sensor, der auf eine Oberflächenpotentialänderung durch die Immobilisierung des CCL2 von $\Delta \Phi = -\Delta U_{ref} = -64,1$ mV schließen lässt. Eine sichere Identifikation dieser Oberflächenpotentialänderung mit der Immobilisierung der intrinsischen Ladungen des CCL2 ist jedoch nicht unmittelbar möglich, da aus der Primärstruktur des Proteins zusätzliche positive Ladung und somit eine positive Potentialänderung erwartet wird. Dennoch gibt es einige Punkte, die eine Zuordnung dieses Signals auf die CCL2-Immobilisierung zulassen und stützen:

- Die simulierte positive Gesamtladung von +5,8 e [144] bezieht sich nur auf die Primärstruktur des CCL2. Eine durch die Glykosylierung mögliche Änderung wird davon nicht erfasst, ist aber nicht auszuschließen.
- Eventuelle Adsorbate aus dem ersten Kontakt mit dem Zellkulturmedium können den Effekt des immobilisierten CCL2 beeinflussen.
- Eine Überkompensation der positiven Ladung im sensitiven Bereich ist möglich (vgl. Kap. 5.3.9),da ein positiv geladener Sonden-Zielmolekül-Komplex am Arbeitspunkt $(-370 \text{ mV} < U_{ref} < -300 \text{ mV})$ vom Sensor weg ausgerichtet wird.
- Bei den Kontrollmessungen ohne Anti-CCL2-Antikörperfunktionalisierung bzw. ohne CCL2 wird ein entsprechendes Signal nicht detektiert.

5.4.3. CCL2-Detektion mit Zeitkonstanten bei Rechteckanregung

Neben den Referenzpotentialmessungen wird auch das Zeitverhalten der Transistoren bei Anregung mit einer Rechteckanregung untersucht. Die Messungen werden jeweils vor und nach dem ersten Medienkontakt, den beiden Kontrollmessungen und der Detektionsmessung in 10 mM Phosphatpuffer bei pH 7 durchgeführt. Aus den hochzeitaufgelösten Drainstomverläufen werden nach Kapitel 5.2.6 die Zeitkonstanten $\tau_{0,90}$ (Abb. 5.37), $\tau_{0,95}$ (Abb. 5.38), $\tau_{0,99}$ (Abb. 5.39) und τ_A (Abb. 5.40) in beide Richtungen für jeweils fünf Polaritätswechsel der Referenzspannung ermittelt. Die als Ergebnisse dargestellten Zeitkonstanten sind jeweils das arithmetische Mittel dieser Werte und sind mit einem Fehlerbalken versehen, der den Bereich $\tau_i \pm \sigma$ abdeckt.

Es zeigt sich, dass der erste Kontakt mit dem Zellkulturmedium (Abb. 5.37–5.40a), der auf die Referenzpotentialmessungen einen starken Einfluss hat, auf das kinetische Verhalten der Funktionalisierungsmoleküle keinen entscheidenden Einfluss hat. Lediglich bei $\tau_{0,99}$ und τ_A , die erhöhte Messwertabweichungen aufweisen, kann eine leichte Tendenz hin zu einer Verzögerung der Sensorantwort erkannt werden.

Die Kontrollmessung ohne Funktionalisierung (Abb. 5.37–5.40b) zeigt das erwartete Verhalten, dass der unfunktionalisierte Sensor den Referenzspannungswechseln sowohl vor als auch nach dem Kontakt mit der Analytflüssigkeit sehr schnell folgt. In einigen Fällen ist sogar die erreichbare Abtastrate des LabVIEW-Messprogramms von \approx 40 Hz für die Bestimmung der Zeitkonstanten nicht ausreichend. Die Kontrollmessung mit dem CCL2-freien, frischen Zellkulturmedium (Abb. 5.37–5.40c) zeigt ebenfalls auf keine der Zeitkonstanten einen signifikanten Einfluss.



Abb. 5.37.: Zeitkonstante $\tau_{0,90}$ bei der CCL2-Detektion: Weder der erste Medienkontakt, noch die Kontrollmessungen resultieren in einer signifikanten Änderung der Zeitkonstante $\tau_{0,90}$. Bei der Kontrolle ohne Funktionalisierung ist eine Quantifizierung aufgrund des für das sehr schnelle Verhalten zu niedrigen Samplerate des Versuchsaufbaus nicht möglich. Die Detektionsmessung zeigt einen deutlich signifikanten Anstieg der Zeitkonstante.



Abb. 5.38.: Zeitkonstante $\tau_{0,95}$ bei der CCL2-Detektion: Weder der erste Medienkontakt, noch die Kontrollmessungen resultieren in einer signifikanten Änderung der Zeitkonstante $\tau_{0,95}$. Bei der Kontrolle ohne Funktionalisierung ist eine Quantifizierung aufgrund des für das sehr schnelle Verhalten zu niedrigen Samplerate des Versuchsaufbaus teilweise nicht möglich. Die Detektionsmessung zeigt einen deutlich signifikanten Anstieg der Zeitkonstante.



Abb. 5.39.: Zeitkonstante $\tau_{0,99}$ bei der CCL2-Detektion: Im Gegensatz zu $\tau_{0,90}$ und $\tau_{0,95}$ zeigt sich bei der Bestimmung von $\tau_{0,99}$ eine größere Messunsicherheit aufgrund des flachen Verlaufs des Drainstroms im kritischen Bereich. Dennoch kann ebenfalls bei den Kontrollmessungen kein und bei der Detektionsmessung ein signifikanter Unterschied der ermittelten Zeitkonstanten erkannt werden.



Abb. 5.40.: Zeitkonstante τ_A bei der CCL2-Detektion: Wie bei $\tau_{0,99}$ treten große Abweichungen in den einzelnen Werten der ermittelten Zeitkonstanten auf. Eine signifikante Änderung der Zeitkonstante τ_A tritt wie bei den anderen Zeitkonstanten ebenfalls nur bei der Detektionsmessung auf, die Änderungen beim ersten Medienkontakt und den Kontrollmessungen sind deutlich geringer ausgeprägt.

Ein klarer Unterschied der Zeitkonstanten zeigt sich ausschließlich bei der Detektionsmessung mit CCL2-haltigem Zellkulturmedium und Anti-CCL2-antikörperfunktionalisierten Sensoren (Abb. 5.37–5.40d), dort jedoch bei allen vier betrachteten Zeitkonstanten. Es wird dabei jeweils eine Vergrößerung des Werts der jeweiligen Zeitkonstanten festgestellt, was gleichbedeutend mit einem langsameren kinetischen Verhalten der Funktionalisierungsschicht ist. Für dieses Verhalten können verschiedene mögliche Ursachen vermutet werden, die sich auch ergänzen können:

- Eine geringere Coulombkraft auf die Sonden durch Verringerung der Ladung Q: Die Referenzpotentialmessung zeigt, dass sich die Immobilisierung des glykosylierten CCL2 effektiv wie eine negative Ladung verhält. Diese kann die positive Ladung der Antikörper teilweise neutralisieren.
- Eine geringere Beschleunigung der Sonden durch Erhöhung der Masse *m*: Durch die Immobilisierung des glykosylierten CCL2 erhöht sich die Masse der Sonden um ≈ 20 %.
- Geringere Beweglichkeit der Sonden durch Vernetzung: Mehrere Sonden können an ein Antigen binden und sich somit vernetzen.

5.4.4. Zusammenfassung Antikörper-Antigen-Komplexe

Sowohl die Referenzpotential- als auch die Zeitkonstantenmessungen zeigen, dass HEMT-Biosensoren zur labelfreien Detektion von Proteinen mit Hilfe von antikörperfunktionalisierten Sonden geeignet sind. Beide Messmethoden haben ihre Vor- und Nachteile. Während die Referenzpotentialmessungen klarere Hinweise auf die beteiligten Ladungen und Potentiale geben, weist die Messmethode gleichzeitig oft starke Drift und Querempfindlichkeiten z. B. auf den pH-Wert oder unbewegliche Adsorbate auf der Sensoroberfläche auf. Bei den Zeitkonstantenmessungen können insbesondere bei den Zeitkonstanten $\tau_{0,90}$ und $\tau_{0,95}$ signifikante Erhöhungen der ermittelten Werte bei geringen Standardabweichungen festgestellt werden. Allerdings erlauben die Messwerte bei diesem Messprinzip keine sicheren Rückschlüsse über die genauen Vorgänge auf der Sensoroberfläche.

Die Messungen zeigen aber nicht nur, dass die Detektion von Proteinen möglich ist, sondern darüber hinaus, dass die spezifische Detektion von Biomolekülen auch in schwierigen Matrizes wie Zellkulturmedien möglich ist. Der AlGaN/GaN HEMT-Affinitätsbiosensor – so wie er in dieser Arbeit beschrieben ist – ist somit auch gut für Messbedingungen, wie sie im Anwendungsfall auftreten, geeignet.

6. Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurde die Biosensorik mit funktionalisierten Feldeffekttransistoren auf der Basis von AlGaN/GaN-Heterostrukturen erforscht. Insbesondere wurden dabei zwei Themenschwerpunkte bearbeitet:

- die Funktionalisierung von Galliumnitridoberflächen mit 1-Alkenen und
- biosensorische Experimente.

Funktionalisierung

Auf dem Gebiet der Funktionalisierung wurden zunächst die in der Literatur vorhandenen Theorien zur Oberflächenfunktionalisierung mit 1-Alkenen dargestellt. Dem bis dato einzigen Modell auf Galliumnitrid, der direkten Anbindung der α -Kohlenstoffatome der Alkene an Galliumatome der Halbleiteroberfläche, wurde in diesem Zusammenhang ein alternatives Modell mit einer Anbindung über eine Ga-O-C-Kette gegenübergestellt, das in dieser Form nur für die Funktionalisierung von Diamantoberflächen publiziert war. Im experimentellen Teil konnten (Sub-)monolagen von Funktionalisierungsmolekülen mit variabler Moleküldichte hergestellt werden, welche mit röntgenphotoelektronischen und rasterkraftmikroskopischen Untersuchungen charakterisiert wurden. Die daraus gewonnenen Ergebnisse lieferten – entgegen der in bisherigen Veröffentlichungen vertretenen direkten Anbindung – starke Hinweise auf das Vorliegen einer Sauerstoffbrücke zwischen Halbleiter und Kohlenstoffkette des Funktionalisierungsmoleküls.

Mit dem thermischen Funktionalisierungsprozess, der im Rahmen der Arbeit erstmals auf Galliumnitrid durchgeführt wurde, konnte zudem eine Alternative zur photochemischen Funktionalisierung gefunden werden. Dieser Prozess, der die Beeinflussung der Sensorcharakteristika durch die UV-Strahlung im photochemischen Prozess vermeidet, wurde ebenfalls per AFM und XPS charakterisiert. Die Eigenschaften decken sich dabei weitestgehend mit denen des photochemischen Prozesses; jedoch konnte durch die Existenz des Brompeaks nachgewiesen werden, dass der thermische Prozess schonender für die Funktionalisierungsmoleküle ist.

Biosensorik

Für die Biosensorik wurde ein neues Sensordesign entwickelt, durch das die Fläche des Sensorchips um mehr als 50% verringert werden konnte. Zusätzlich ermöglichte das Design den Aufbau eines Messmoduls, bei dem die elektrischen und fluidischen Anschlüsse sicher voneinander getrennt sind. Der fluidische Teil der Messzelle wurde so gestaltet, dass einerseits ein definierter Medienfluss über den Sensor mittels einer Pumpe möglich ist, gleichzeitig aber ein zweiter Zugang zum Sensor für geringe Analytvolumina ab 20 µl vorhanden ist. Während in den Referenzpublikationen solch geringe Analytvolumina nur

ohne bzw. mit Platindrähten als Referenzelektroden realisiert werden konnten, ist dies bei dieser Messzelle auch mit einer Ag/AgCl-Referenzelektrode möglich. Rund um die Messzelle wurde dann ein Messplatz aufgebaut, der eine computergestützte Durchführung von Experimenten und Messwerterfassung erlaubt.

Mit diesem Messsystem wurden schließlich biosensorische Experimente mit DNA und Proteinen durchgeführt, bei denen eine Beeinflussung des Oberflächenpotentials durch die Biomoleküle detektiert werden konnte. Die Nachweisgrenze lag dabei mit 1 μ mol l⁻¹ auf der Höhe der Referenzpublikationen; der Wert des Sensorsignals deckte sich weitestgehend mit den Werten, die aufgrund eines theoretischen Modells zum Vergleich berechnet wurden. Nur in einzelnen Experimenten wurde ein inverses Sensorverhalten erkannt – eine Erklärung für dieses Verhalten konnte aber in einem Modellschema, das die Beweglichkeit der Sonden berücksichtigt, ebenfalls gefunden werden.

Bei der Analyse der Messmethoden zeigte sich, dass bei der Aufnahme der Transferkennlinien funktionalisierter Sensoren ein Einfluss der Aufnahmegeschwindigkeit vorliegt. Dieser für die Verwendung der Lage der Transferkennlinien als Messgröße negative Aspekt wurde näher untersucht und führte schließlich zur Einführung der Zeitkonstantenmessungen. Bei diesen wird das kinetische Verhalten der beweglichen Sondenmoleküle im elektrischen Wechselfeld dazu verwendet, neue empirische Messgrößen – die Zeitkonstanten – zu definieren. Dieser Ansatz wurde in dieser Form im Rahmen dieser Arbeit erstmals genutzt und bietet insbesondere für die Detektion relativ großer, schwach geladener Moleküle neue Perspektiven. So konnte die Änderung des Sensorsignals durch die Zeitkonstanten bei der Detektion der DNA-Hybridisierung von 3,7% (bei Drainstrommessungen) auf 290% des Ausgangswerts (bei $\tau_{0,99}$) gesteigert werden. Bei der Detektion von CCL2 konnte die Empfindlichkeit noch deutlicher auf über 1600% des Ausgangswerts (bei $\tau_{0,90}$) gesteigert werden. Darüber hinaus zeigen die Zeitkonstanten auch weniger Querempfindlichkeiten gegen unspezifisch adsorbierende Matrixbestandteile.

Fazit

Summa summarum konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass labelfreie Affinitätsbiosensorik mit TFAAD-funktionalisierten GaN/AIGaN/GaN-HEMTs möglich ist. Darüber hinaus konnten insbesondere mit der Einführung eines thermischen Funktionalisierungsprozesses und der Zeitkonstanten als Messgröße neue Erkenntnisse gewonnen werden, die die praktische Anwendbarkeit des Prinzips begünstigen.

A. Biologische Sequenzen

A.1. Gensequenz HBB-001

CGGCTGTCATCACTTAGACCTCACCCTGTGGAGCCACACCCTAGGGTTGGC51CAATCTACTCCCAGGAGCAGGGAGGGCAGGAGCCAGGGCTGGGCATAAAAG102TCAGGGCAGAGCCATCTATTGCTTACATTTGCTTCTGACACAACTGTGTTC153ACTAGCAACCTCAAACAGACACC176

M V H L T P E E K S A V T A L W G ATGGTGCATCTGACTCCTGAGGAGAAGTCTGCCGTTACTGCCCTGTGGGGGC 227 K V N V D E V G G E A L G R L L V AAGGTGAACGTGGATGAAGTTGGTGGTGAGGCCCTGGGCAGGCTGCTGGTG 278 P W TQRFFE S F V Y G D L S Т GTCTACCCTTGGACCCAGAGGTTCTTTGAGTCCTTTGGGGGATCTGTCCACT 329 Ρ D Α V M G Ν Ρ Κ V Κ А Η G Κ Κ V CCTGATGCTGTTATGGGCAACCCTAAGGTGAAGGCTCATGGCAAGAAAGTG 380 A F S D G L A H L D L K Т T. G Ν G CTCGGTGCCTTTAGTGATGGCCTGGCTCACCTGGACAACCTCAAGGGCACC 431 F A T L S E L H C D K L H V D ΡE TTTGCCACACTGAGTGAGCTGCACTGTGACAAGCTGCACGTGGATCCTGAG 482 FRLLGNV L V C V Ν L A H Н F AACTTCAGGCTCCTGGGCAACGTGCTGGTCTGTGTGCTGGCCCATCACTTT 533 E F T P P V Q A A Y Q K V G K V GGCAAAGAATTCACCCCACCAGTGCAGGCTGCCTATCAGAAAGTGGTGGCT 584 G V A N A L A H K Y Η GGTGTGGCTAATGCCCTGGCCCACAAGTATCACTAA 620 GCTCGCTTTCTTGCTGTCCAATTTCTATTAAAGGTTCCTTTGTTCCCTAAG 671 TCCAACTACTAAACTGGGGGGATATTATGAAGGGCCTTGAGCATCTGGATTC 722 TGCCTAATAAAAAACATTTATTTTCA 748

Basensequenz der Exonen des HBB-001 Gens. Die untranslatierten Bereiche sind grau hinterlegt. Im Bereich der kodierenden Sequenz ist darüber die Aminosäurensequenz des translatierten β -Globins notiert. [137]

A.2. Experimentell verwendete Oligonukleotidsequenzen

T15 CCTGTGGAGAAGTCT 15 T30 CTGACTCCTGTGGAGAAGTCTGCCGTTACT 30 AGACTTCTCCACAGG P15 15 P30 AGTAACGGCAGACTTCTCCACAGGAGTCAG 30 T30F1 CTGACTCCTGAGGAGAAGTCTGCCGTTACT 30 CTGACTCTTGAGGAGAAGCCTGCCGTTACT T30F3 30

Basensequenzen der im experimentellen Teil der Arbeit verwendeten Oligonukleotide. Die grau hinterlegten Basen bei den Kontrollsequenzen T30F1 und T30F3 sind die nichtkomplementären Basen zu den Sondensequenzen P15 und P30.

A.3. Aminosäurensequenz CCL2

MQVPVMLLGLLFTVAGWSIHVLAQPDAVNAPLTCCYSFTSKMIPMSRLESY51KRITSSRCPKEAVVFVTKLKREVCADPKKEWVQTYIKNLDRNQMRSEPTTL102FKTASALRSSAPLNVKLTRKSEANASTTFSTTTSSTSVGVTSVTVN148

Aminosäurensequenz des CC-Chemokin-Ligand-2-Präkursors der Maus. Die grau hinterlegten Bereiche werden nach der Expression in einem weiteren Prozess abgetrennt, so dass eine Sequenz aus 75 Aminosäuren bleibt. [147]

B. Pufferlösungen

Im experimentellen Abschnitt der Arbeit werden verschiedene Puffer und weitere Lösungen verwendet. Diese werden nach folgenden Rezepturen hergestellt:

B.1. Phosphatpuffer

100 mM Phosphatpuffer pH 7,0 (Stammlösung)

- 1. 1000 ml DI-Wasser
- 2. 5,391 g $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$
- 3. 11,648 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$
- 4. Tropfenweise Zugabe von HCI bis pH 7,0 erreicht ist.

10 mM Phosphatpuffer pH 7,0

- 1. 900 ml DI-Wasser
- 2. 100 ml 100 mM Phosphatpuffer
- 3. Tropfenweise Zugabe von HCI bis pH 7,0 erreicht ist.

1 mM Phosphatpuffer pH 7,0

- 1. 900 ml DI-Wasser
- 2. 100 ml 10 mM Phosphatpuffer
- 3. Tropfenweise Zugabe von HCI bis pH7,0 erreicht ist.

B.2. 100 mM Triethanolaminpuffer pH 7,0

- 1. 500 ml DI-Wasser
- 2. 7,46 g Triethanolamin
- 3. Tropfenweise Zugabe von HCI bis pH7,0 erreicht ist.
B.3. 2x SSPE/0,2% SDS Puffer pH 7,4

- 1. 500 ml DI-Wasser
- 2. 8,766g NaCl
- 3. 1,560 g NaH₂PO₄
- 4. 0,292 g EDTA
- 5. 0,990g SDS
- 6. Tropfenweise Zugabe von NaOH bis pH7,4 erreicht ist.

B.4. 8,3 M Urealösung

- 1. 500 ml DI-Wasser
- 2. 250 g Urea

C. Standardfunktionalisierungsprozesse

C.1. Photochemische Funktionalisierung von Galliumnitrid mit TFAAD

Standardfunktionalisierungsprozess zur photochemischen Anbindung von TFAAD (und anderen 1-Alkenen) an Galliumnitrid-Oberflächen [31]:

- 1. Die Lampenkühlung und Abzugvorrichtung der Funktionalisierungskammer sowie die Kühlung der UV-Quelle werden eingeschaltet.
- 2. Die Probe wird für 2 min in 2% Flusssäure gegeben, um organische Verunreinigungen zu entfernen und einen reproduzierbaren Oberflächenzustand zu schaffen.
- 3. Flusssäurereste werden mit viel DI-Wasser abgespült. Anschließend wird die Probe mit Stickstoff getrocknet.
- 4. 2 µl TFAAD werden auf die GaN-Oberfläche pipettiert und mit einem beidseitig polierten Saphir abgedeckt.
- 5. Die Probe wird auf dem Probenhalter platziert und dieser in die Funktionalisierungskammer eingebaut.
- 6. Durch eine Wartezeit von 10 Minuten wird eine möglichst sauerstoffarme Atmosphäre in der Kammer erzeugt.
- 7. Die Hg/Xe-Bogenlampe wird für die Funktionalisierungsreaktion eingeschaltet.
- 8. Die Dauer der Funktionalisierung hängt von der gewünschten Funktionalisierungsdichte ab: Für Submonolagen mit einer Dichte von etwa 10^{13} cm⁻² liegt die Belichtungsdauer bei 5 (Transistor) bzw. 30 Minuten (wie gewachsen). Geschlossene Monolagen mit etwa 4 × 10^{14} cm⁻² werden nach 30 (Transistor) bzw. 120 Minuten (wie gewachsen) erreicht.
- 9. Nach Ablauf der gewünschten Funktionalisierungsdauer wird die Hg/Xe-Bogenlampe ausgeschaltet.
- 10. Eventuell in der Kammer gebildetes Ozon wird für weitere 10 Minuten abgesaugt.
- 11. Die Probe wird aus der Kammer entnommen und Stickstoff, Abluft sowie Kühlwasser abgestellt.

12. Nichtgebundene Funktionalisierungsflüssigkeit auf Probe und Decksaphir wird durch aufeinanderfolgende Spülvorgänge in Chloroform und Methanol entfernt. Abschließend wird die Probe mit Stickstoff getrocknet. Die Probe ist nun stabil und kann zu Kontrollzwecken beispielsweise mit dem Rasterkraftmikroskop analysiert werden oder direkt biofunktionalisiert werden (Anhang C.3).

C.2. Thermische Funktionalisierung von Galliumnitrid mit TFAAD

Standardfunktionalisierungsprozess zur thermischen Anbindung von TFAAD (und anderen 1-Alkenen) an Galliumnitrid-Oberflächen:

- 1. Der Ofen wird auf 180° C vorgeheizt.
- 2. Die Probe wird für 2 min in 2% Flusssäure gegeben, um organische Verunreinigungen zu entfernen und einen reproduzierbaren Oberflächenzustand zu schaffen.
- 3. Flusssäurereste werden mit viel DI-Wasser abgespült. Anschließend wird die Probe mit Stickstoff getrocknet.
- 4. Die gewünschte Kavität in der Reaktionskammer wird mit der Funktionalisierungsflüssigkeit gefüllt.
- Großflächige Funktionalisierung: Die Probe wird in die so in die Kavität eingelegt, dass die GaN-Oberfläche nach unten zeigt. Teilfunktionalisierung: Die Probe wird mit der GaN-Seite auf die Kavität gelegt. Dabei müssen Lufteinschlüsse in der Funktionalisierungsflüssigkeit vermieden werden.
- 6. Durch festes Aufschrauben der Messingabdeckung wird die Probe fixiert (Teilfunktionalisierung) bzw. die Kavität geschlossen (großflächige Funktionalisierung). Dabei müssen ebenfalls Lufteinschlüsse in der Funktionalisierungsflüssigkeit vermieden werden.
- 7. Der Probenhalter wird umgedreht, so dass die Messingseite nach unten zeigt.
- 8. Eventuell vorhandene überschüssige Funktionalisierungsflüssigkeit am Probenhalter wird abgewischt.
- 9. Der Probenhalter wird mit der Messingseite nach unten in den Ofen gegeben.
- 10. Der Ofen wird mit der Membranpumpe auf einen Druck von < 70 Pa evakuiert.
- 11. Die Funktionalisierungsreaktion startet. Nach einer Reaktionszeit von 30 min ist eine dünne Schicht von etwa 10¹³ cm⁻², nach 4 h eine geschlossene Monolage erreicht.
- 12. Der Ofen wird belüftet und der Probenhalter entnommen.
- 13. Der Probenhalter wird durch ein Wasserbad abgekühlt und die Probe entnommen.

14. Nichtgebundene Funktionalisierungsflüssigkeit auf Probe und Probenhalter wird durch aufeinanderfolgende Spülvorgänge in Chloroform und Methanol entfernt. Abschließend wird die Probe mit Stickstoff getrocknet. Die Probe ist nun stabil und kann zu Kontrollzwecken beispielsweise mit dem Rasterkraftmikroskop analysiert werden oder direkt biofunktionalisiert werden (Anhang C.3).

C.3. Biofunktionalisierung

Standardfunktionalisierungsprozess zur Anbindung von thiolmodifizierten Biomolekülen an TFAAD-funktionalisierte Oberflächen [31]:

- 1. Die Probe wird für 24 Stunden bei 85°C in 0,36 molare Lösung von HCl in Methanol gegeben. Dies führt zur Abspaltung der Trifluoracetylschutzgruppe von der Aminogruppe des TFAAD.
- 2. Eventuell auf der Probe verbleibendes HCl wird durch Abspülen mit Methanol entfernt. Anschließend wird die Oberfläche mit Stickstoff getrocknet.
- Unmittelbar danach wird die Probe f
 ür 30 Minuten in eine 3 mM Lösung von Sulfo-Succinimidyl-4-(N-maleimidomethyl)-Cyclohexan-1-Carboxylat (SSMCC) in 0,1 M Triethanolaminpuffer (pH 7,0) gegeben. Dabei reagiert die Succinimidylgruppe des Crosslinkers SSMCC mit den Aminogruppen aus dem TFAAD-Molek
 ül.
- 4. Mit einem Spülvorgang in 0,1 M Triethanolaminpuffer (pH 7) werden nicht gebundene Crosslinkermoleküle von der Oberfläche entfernt. Anschließend wird die Probe erneut mit Stickstoff getrocknet.
- 5. Für die Anbindung des thiolhaltigen Biomoleküls wird ein 2 µl Tropfen einer 200 µM Lösung des Moleküls in 0,1 M Triethanolaminpuffer (pH 7,0) auf die Oberfläche gegeben. Die Probe wird dann für mindestens 12 Stunden in eine humide Reaktionskammer gegeben, um die Verdunstung der Lösung zu verhindern.
- 6. Abschließend werden nicht gebundene Biomoleküle mit einem 2-stündigen Reinigungsbad in 2×SSPE/0,2% SDS Puffer (pH 7,4) bei 37°C entfernt, und der Reinigungspuffer mit DI-Wasser abgewaschen.
- 7. Die Probe kann nun direkt verwendet werden. Alternativ ist eine Lagerung in 1 mM Phosphatpuffer (pH 7,0) möglich.

D. Messsoftware

Für das Messsystem wurde mit LabVIEW eine Software entwickelt, die für die wichtigsten Messmethoden automatisierte Messprogramme bereitstellt. Diese sind:

Referenzstrom-Messung

Ausgehend von 0V wird die Referenzspannung U_{ref} schrittweise dekrementiert, bis ein Strom I_{ref} durch die Referenzelektrode gemessen wird, dessen Betrag größer als ein voreingestellter Grenzwert I_{max} ist. Anschließend wird die Referenzspannung auf 0V zurückgesetzt und schrittweise inkrementiert, bis der gemessene Strom durch die Referenzelektrode wieder den Grenzwert überschreitet.

Ein erhöhter Strom durch die Referenzelektrode deutet auf einen Durchbruchstrom durch das Gate oder den Redoxstrom einer chemischen Reaktion in der Messzelle hin. Im Dauerbetrieb führt dies zu irreversiblen Schäden am Sensor und/oder unbrauchbaren Messergebnissen. Daher wird die Referenzspannung bei Messprogrammen mit variabler Referenzspannung auf das Intervall $U_{\text{ref, min}} < 0 < U_{\text{ref, max}}$ begrenzt, in welchem der als Grenzwert angegebene Strom nicht überschritten wird.

Als Messparameter können neben dem Grenzstrom $I_{D, max}$ auch eine gleichzeitig anliegende Drain-Source-Spannung U_{DS} , die Durchlaufgeschwindigkeit, das Abtastintervall, die Wartezeit vor der Erfassung des Messwerts und die Anzahl der Einzelmessungen pro Messpunkt, über die gemittelt wird, eingestellt werden.

Transferkennlinien-Messung

Die Referenzspannung U_{ref} wird von $U_{ref, min}$ schrittweise bis auf $U_{ref, max}$ erhöht. Der sich dabei ergebende Drainstrom I_D wird gemessen und über der Referenzspannung aufgetragen. Anschließend kann die Transferkennlinie zusätzlich in der Gegenrichtung aufgenommen werden, um eine evtl. vorhandene Hystere in der Transferkennlinie zu erkennen.

Als Messparameter können die Messintervallgrenzen $U_{\text{ref, min}}$ und $U_{\text{ref, max}}$, die angelegte Drain-Source-Spannung U_{DS} , eine Wartezeit vor dem ersten Messpunkt, die Durchlaufgeschwindigkeit, das Abtastintervall, die Wartezeit vor der Erfassung des Messwerts und die Anzahl der Einzelmessungen pro Messpunkt, über die gemittelt wird, eingestellt werden. Zusätzlich kann ein Stromlimit $I_{\text{D, max}}$ definiert werden, um den Transistor und das Bedienpersonal zu schützen.

Ausgangskennlinien-Messung

Die Drain-Source-Spannung U_{DS} wird von $U_{DS, min}$ schrittweise bis auf $U_{DS, max}$ erhöht. Der sich dabei ergebende Drainstrom I_D wird dabei gemessen und über der Drain-Source-Spannung aufgetragen. Anschließend kann die Ausgangskennlinie zusätzlich in der Gegenrichtung aufgenommen werden, um eine evtl. vorhandene Hystere in der Kennlinie zu erkennen.

Als Messparameter können die Messintervallgrenzen $U_{\text{DS, min}}$ und $U_{\text{DS, max}}$, die angelegte Referenzspannung U_{ref} , eine Wartezeit vor dem ersten Messpunkt, die Durchlaufgeschwindigkeit, das Abtastintervall, die Wartezeit vor der Erfassung des Messwerts und die Anzahl der Einzelmessungen pro Messpunkt, über die gemittelt wird, eingestellt werden. Zusätzlich ist auch hier zum Schutz von Transistor und Bedienpersonal ein Stromlimit $I_{\text{D, max}}$ vorgesehen.

Referenzpotential-Messung

Der Drainstrom I_D wird mit einem Regelkreis auf einen Zielwert $I_{D, \text{ soll}}$ geregelt. Dabei dient die Referenzspannung U_{ref} als Stellgröße. Um einen konstanten Drain-Source-Strom zu erhalten, muss das Oberflächenpotential auf dem Sensor konstant gehalten werden. Änderungen des Oberflächenpotentials durch Ladungen am Gate müssen daher durch eine gegengleiche Änderung des Fluidpotentials über die an der Referenzelektrode angelegte Spannung U_{ref} ausgeglichen werden. Entsprechend kann (bei ausreichend hoher Präzision des Reglers) das negierte Signal der Referenzspannung als Maß für die Oberflächenpotentialänderung $\Delta \Phi$ genommen werden.

Als Messparameter können der Sollwert für den Drain-Source-Strom $I_{\rm D, \, soll}$, der Initialwert für die Referenzspannung $U_{\rm ref0}$, die angelegte Drain-Source-Spannung $U_{\rm DS}$, zwei Zeitkonstanten für die Regelung, das Abtastintervall, die Wartezeit vor der Erfassung des Messwerts und die Anzahl der Einzelmessungen pro Messpunkt, über die gemittelt wird, eingestellt werden. Das zulässige Intervall der Referenzspannung mit den Grenzen $U_{\rm ref, \, min}$ und $U_{\rm ref, \, max}$ aus der Referenzstrommessung kann ebenfalls angepasst werden.

Zeitkonstanten-Messung

Die Referenzspannung U_{ref} wird periodisch zwischen zwei Werten U_{ref1} und U_{ref2} umgeschaltet (Rechteckanregung). Der Drainstrom I_D wird über der Zeit aufgezeichnet. Der Drain-Source-Strom folgt der Rechteckanregung mit einer bestimmten Sprungantwort, deren charakteristische Zeitkonstanten anschließend aus dem Messsignal ermittelt werden können.

Als Messparameter können die beiden Referenzspannungen U_{ref1} und U_{ref2} , die angelegte Drain-Source-Spannung U_{DS} , die Zeit pro Referenzspannungsphase, das Abtastintervall, eine Wartezeit vor dem ersten Messpunkt und die Anzahl der Einzelmessungen pro Messpunkt, über die gemittelt wird, eingestellt werden. Zusätzlich kann ein Stromlimit $I_{D, max}$ definiert werden, um den Transistor und das Bedienpersonal zu schützen.

Durch Wahl eines für die Messung ausreichend hohen Wertes für die Zeit pro Referenzspannungsphase bzw. der Wahl von identischen Werten für U_{ref1} und U_{ref2} kann das Messprogramm Zeitkonstanten-Messung auch für Konstantspannungsmessungen verwendet werden. Auf eine separate Implementierung dieses Messprogramms wurde deshalb verzichtet.

D.1. Referenzstrom-Messung



D.2. Transferkennlinien-Messung



D.3. Ausgangskennlinien-Messung



D.4. Referenzpotential-Messung







D.5. Zeitkonstanten-Messung



Abkürzungsverzeichnis

Allgemeine Abkürzungen und Akronyme

Abkürzung	Bedeutung
2DEG	zweidimensionales Elektronengas
2DHG	zweidimensionales Löchergas (engl. two-dimensional hole gas)
ADF	Amsterdam Density Functional
AFM	Rasterkraftmikroskopie (engl. atomic force microscopy)
AP	Arbeitspunkt
В	Bindung
bp	Basenpaare
Br	Brücke
СВ	Leitungsband (engl. conduction band)
CCD	charge-coupled device
CPFET	Zellpotential-Feldeffekttransistor
	(engl. cell potential field-effect transistor)
CVD	chemische Gasphasenabscheidung (engl. chemical vapor deposition)
D	Drain
DI	deionisiert
dl	Doppelschicht (engl. double-layer)
DRIE	reaktives lonentiefenätzen (engl. deep reactive ion etching)
ds	doppelsträngig (engl. double-stranded)
EGFET	Elektrolyt-Gate Feldeffekttransistor
ELISA	enzyme linked immunosorbent assay
EnFET	Enzym-Feldeffekttransistor
EZ	Einheitszelle
F	Fehler
F	Fermi
F_{ab}	antigenbindendes Fragment
F _c	kristallisierbares Fragment
FET	Feldeffekttransistor
g	Bandlücke (engl. bandgap)
G	Gate
GPIB	General Purpose Interface Bus
i	intrinsisch
in	Eingang (engl. input)
HEMT	High-Electron-Mobility-Transistor
НОМО	energetisch höchstes besetztes Molekülorbital
	(engl. highest occupied molecular orbital)

Abkürzung	Bedeutung	
IAF	Institut für Angewandte Festkörperphysik	
ICP	induktiv gekoppeltes Plasma (engl. inductively coupled plasma)	
ISFET	ionensensitiver Feldeffekttransistor	
kin	kinetisch	
Laser	light amplification by stimulated emission of radiation	
LMM	im Augerprozess beteiligte Elektronenschalen. L: erzeugtes Loch,	
	M ₁ : relaxierendes Elektron, M ₂ : emittiertes Elektron	
LUMO	energetisch niedrigstes unbesetztes Molekülorbital	
	(engl. lowest unoccupied molecular orbital)	
m	Schmelzpunkt (engl. melting point)	
max	maximal	
min	minimal	
MOCVD	metallorganische chemische Gasphasenabscheidung	
	(engl. metalorganic chemical vapour deposition)	
mol	molekular	
MOSFET	Metall-Oxid-Halbleiter-Feldeffekttransistor	
	(engl. metal-oxide-semiconductor field-effect transistor)	
OF	Oberfläche	
Ρ	Sonde (engl. probe)	
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung (engl. phosphate buffered saline)	
ре	piezoelektrisch	
рН	pondus Hydrogenii	
ph	Photo	
ref	Referenz(-elektrode)	
RIE	reaktives lonenätzen (engl. reactive ion etching)	
rms	quadratischer Mittelwert (engl. root mean square)	
RPMI	Roswell Park Memorial Institute	
S	Source	
SAM	selbstorganisierende Monoschicht (engl. self-assembled monolayer)	
SGFET	Fluid-Gate Feldeflekttransistor	
CNALL	(engl. solution gate field-effect transistor)	
SMU	Strom-/Spannungsquelle mit integrierter Strom-/Spannungsmessung	
	(engl. source measurement unit)	
sp	spontan	
SS	einzeisträngig (engl. single-stränded)	
sys	System	
1	Ziei (engi. target)	
th VD	Schweile (engl. threshold)	
VDC VD	Valenzband Däntgennheteelektronener slitus slienis	
XP5	Kontgenphotoelektronenspektroskople	
	(engl. x-ray photoelectron spectroscopy)	

Abkürzung	Bedeutung
Ag	Silber
Al	Aluminium
AIN	Aluminiumnitrid
AI_2O_3	Saphir (Aluminiumoxid)
AlGaN	Aluminiumgalliumnitrid
APTES	3-Aminopropyltriethoxysilan
Au	Gold
BoNT	Botulinum Neurotoxin
BP	5-Bromo-1-penten
Br	Brom
С	Kohlenstoff
CCL2	CC-Chemokin-Ligand-2
Ca	Calcium
CI	Chlor
DLC	amorpher, diamantähnlicher Kohlenstoff (engl. diamond-like carbon)
DNA	Desoxyribonukleinsäure (engl. deoxyribonucleic acid)
F	Fluor
Fe	Eisen
Ga	Gallium
GaN	Galliumnitrid
Н	Wasserstoff
HBB	β -Globin
hCXCL9	humanes CXC-Chemokin-Ligand-9
HF	Flusssäure
Hg	Quecksilber
HO-UDPA	Hydroxyundecylphosphorsäure
K	Kalium
KIM-1	Kidney injury molecule 1
N	Stickstoff
Na	Natrium
NH ₃	Ammoniak
0	Sauerstoff
ODPA	Octadecylphosphorsaure
ODIMS	Octadecyltrimethoxysilan
P	Phosphor
PMA	Perkinsus marinus Antigen
PSA	Prostataspezifisches Antigen
PIFE	Polytetrafluorethen (Teflon)
	Rest (bellebig austauschbar)
КNA С	Ribonukieinsaure (engl. ribonucieic acid)
С:	Schweier
51	Silizium

Chemische Elemente und Verbindungen

Abkürzung	Bedeutung
SiC	Siliziumcarbid
SiN _×	Siliziumnitrid
SSMCC	Sulfo-succinimidyl-4-(N-maleimidomethyl)cyclohexan-1-carboxylat
TEA	Triethylamin
TFA	Trifluoracetyl
TFAAD	10-Trifluoracetamid-1-decen
TMGa	Trimethylgallium
Xe	Xenon
Zn	Zink

Variablen, Konstanten und Kennzeichnungen

Lateinische Buchstaben

Abkürzung	Bedeutung	Wert, Einheit
A	Fitparameter	А
A	Fläche	m ²
а	Aktivität	$mol l^{-1}$
а	Gitterparameter	m
В	Fitparameter	S
C _{ij}	Elastizitätskoeffizient	Pa
С	(spezifische) Kapazität	F, F m ⁻²
С	Gitterparameter	m
С	Konzentration (Molarität)	$mol l^{-1}$
С	Lichtgeschwindigkeit	299792458 mol I^{-1}
d	Dicke, Durchmesser	m
е	Elementarladung	1,602176535 · 10 ^{−19} C
е	Eulersche Zahl	2,718281828
e_{ij}	piezoelektrischer Koeffizient	$C m^{-2}$
E	Energie(-niveau)	J, eV
f	Stromdrift	$A s^{-1}$
F	Kraft	Ν
g_{m}	Steilheit	S
h	Plancksches Wirkungsquantum	4,135667516 \cdot 10 $^{-15}$ eV s
1	lonenstärke	$mol l^{-1}$
1	Strom	A
k _B	Boltzmann-Konstante	8,617332478 \cdot 10 ⁻⁵ eV K ⁻¹
1	(Transistor-)Länge	m
т	Steigung	m
Μ	molare Masse	kg mol $^{-1}$
N_A	Avogadrozahl	$6,022141293\cdot 10^{23}\mathrm{mol}^{-1}$
N_d	Dotierung	m ⁻³
п	Anzahl ($n \in \mathbb{N}_0$)	1

Abkürzung	Bedeutung	Wert, Einheit
n	Stoffmenge	mol
n _s	Ladungsträgerdichte	m ⁻²
р	Druck	Pa
Ρ	Polarisation	C m ⁻²
Q	Ladung	С
R	Rauheit	m
R	elektrischer Widerstand	Ω
r	Radius, Distanz	m
t	Zeit	S
Т	Zeitintervall	S
Т	Temperatur	K, °C (biol. Kontext)
U	Spannung	V
V	Volumen	m ³
W	(Transistor-)Weite	m
X	Anteil	1
Ζ	lonenwertigkeit	1

Griechische Buchstaben

Abkürzung	Bedeutung	Wert, Einheit
α	Hybridisierungsanteil	1
Δ	Differenz	_
δ^+	positiver Ladungsschwerpunkt	_
δ^{-}	negativer Ladungsschwerpunkt	_
ε	Dehnung	1
€r	relative Dielektrizitätszahl	1
ϵ_0	elektrische Feldkonstante	8,854188 \cdot 10 ⁻¹² C V ⁻¹ m ⁻¹
θ	abgeschirmter Ladungsanteil	1
λ	Wellenlänge	m
λ_D	Debye-Länge	m
μ	Mittelwert	diverse
μ_{n}	Mobilität	$m^2 V^{-1} s^{-1}$
ν	Frequenz	Hz
π	Kreiszahl	3,141592653
ρ	Dichte	kg m ^{-3}
ρ	Ladungsträgerdichte	m ⁻³
σ	elektrische Leitfähigkeit	S
σ	Flächendichte	m^{-2}
σ	Flächenladungsdichte	$C m^{-2}$
σ	Standardabweichung	diverse
au	Transmission	1
$ au_{ m i}$	Zeitkonstante	s, C (au_{A})
ϕ	(Oberflächen-)Potential	V
X	Elektronegativität	1

Nukleotid	vollständiger Name	Nukleotid	vollständiger Name
А	Adenin	G	Guanin
С	Cytosin	Т	Thymin
Aminosäure	vollständiger Name	Aminosäure	vollständiger Name
A	Alanin	М	Methionin
С	Cystein	Ν	Asparagin
D	Asparaginsäure	Р	Prolin
E	Glutaminsäure	Q	Glutamin
F	Phenylalanin	R	Arginin
G	Glycin	S	Serin
Н	Histidin	Т	Threonin
I	Isoleucin	V	Valin
K	Lysin	W	Tryptophan
L	Leucin	Y	Tyrosin

Buchstabenkodierung der Biomolekülsequenzen

Literaturverzeichnis

- [1] Williams, D. F.: *The Williams Dictionary of Biomaterials*. Liverpool University Press, 1999
- [2] Watson, J. D.; Crick, F. H. C.: Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. In: *Nature* 171 (1953), Nr. 4356, S. 737–738
- [3] Food and Agriculture Organization of the United Nations (Hrsg.): FAO Statistical Yearbook 2012. Rom: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2012
- [4] Frost & Sullivan (Hrsg.): Analytical Review of World Biosensors Market. Mountain View: Frost & Sullivan, 8. Juni 2010
- [5] Frost & Sullivan (Hrsg.): Innovations Spur Biosensors' Market Growth. Mountain View: Frost & Sullivan, 5. Mai 2010
- [6] Bergveld, P.: Development of an Ion-Sensitive Solid-State Device for Neurophysiological Measurements. In: *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* BM17 (1970), Nr. 1, S. 70–71
- [7] Bergveld, P. ; Wiersma, J. ; Meertens, H.: Extracellular potential recordings by means of a field-effect transistor without gate metal, called OSFET. In: *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 23 (1976), Nr. 2, S. 136 – 144
- [8] Janata, J.; Moss, S. D.: Chemically Sensitive Field-Effect Transistors. In: Biomedical Engineering 11 (1976), Nr. 7, S. 241–245
- [9] Clark, L. C. ; Lyons, C.: Electrode Systems for Continuous Monitoring in Cardiovascular Surgery. In: Annals of the New York Academy of Sciences 102 (1962), S. 29–45
- [10] Caras, S. ; Janata, J.: Field-Effect Transistor Sensitive to Penicillin. In: Analytical Chemistry 52 (1980), Nr. 12, S. 1935–1937
- [11] Miyahara, Y.; Moriizumi, T.; Ichimura, K.: Integrated Enzyme FETs for Simultaneous Detections of Urea and Glucose. In: *Sensors and Actuators* 7 (1985), Nr. 1, S. 1–10
- Schenck, J. F.: Technical difficulties remaining to the application of ISFET devices.
 In: Cheung, P. W. (Hrsg.): *Theory, Design and Biomedical Applications of Solid State Chemical Sensors*. Boca Raton : CRC Press, 1978, S. 165–173

- Bergveld, P.: A Critical Evaluation of Direct Electrical Protein Detection Methods.
 In: Biosensors & Bioelectronics 6 (1991), Nr. 1, S. 55–72
- [14] Koch, S.; Woias, P.; Meixner, L. K.; Drost, S.; Wolf, H.: Protein Detection with a Novel ISFET-Based Zeta Potential Analyzer. In: *Biosensors & Bioelectronics* 14 (1999), Nr. 4, S. 413–421
- Souteyrand, E.; Cloarec, J. P.; Martin, J. R.; Wilson, C.; Lawrence, I.; Mikkelsen, S.; Lawrence, M. F.: Direct Detection of the Hybridization of Synthetic Homo-Oligomer DNA Sequences by Field Effect. In: *Journal of Physical Chemistry B* 101 (1997), Nr. 15, S. 2980–2985
- [16] Park, K. Y.; Kim, M. S.; Choi, S. Y.: Fabrication and characteristics of MOSFET protein chip for detection of ribosomal protein. In: *Biosensors & Bioelectronics* 20 (2005), Nr. 10, S. 2111–2115
- [17] Jobling, D. T.; Smith, J. G.; Wheal, H. V.: Active Microelectrode Array to Record From the Mammalian Central Nervous-System in Vitro. In: *Medical & Biological Engineering & Computing* 19 (1981), Nr. 5, S. 553–560
- [18] Fromherz, P. ; Offenhausser, A. ; Vetter, T. ; Weis, J.: A Neuron-Silicon Junction
 A Retzius Cell of the Leech on an Insulated-Gate Field-Effect Transistor. In: Science 252 (1991), Nr. 5010, S. 1290–1293
- Grattarola, M.; Martinoia, S.; Carlini, G.; Cambiaso, A.; Tedesco, M.; Parodi, M. T.; Ferri, G.: Cell-Metabolism Measurements in Culture Via Microelectronic Biosensors. In: *Cytotechnology* 5 (1991), S. 57–58
- [20] Cimalla, I.; Will, F.; Tonisch, K.; Niebelschutz, M.; Cimalla, V.; Lebedev, V.; Kittler, G.; Himmerlich, M.; Krischok, S.; Schaefer, J. A.; Gebinoga, M.; Schober, A.; Friedrich, T.; Ambacher, O.: AlGaN/GaN Biosensor - Effect of Device Processing Steps on the Surface Properties and Biocompatibility. In: Sensors and Actuators B-Chemical 123 (2007), Nr. 2, S. 740–748
- [21] Kang, B. S.; Wang, H. T.; Ren, F.; Pearton, S. J.: Electrical Detection of Biomaterials Using AlGaN/GaN High Electron Mobility Transistors. In: *Journal of Applied Physics* 104 (2008), Nr. 3, S. 031101
- [22] Pearton, S. J.; Ren, F.: Gallium Nitride-Based Gas, Chemical and Biomedical Sensors. In: IEEE Instrumentation & Measurement Magazine 15 (2012), Nr. 1, S. 16–21
- [23] Amano, H.; Kito, M.; Hiramatsu, K.; Akasaki, I.: P-type conduction in Mg-doped GaN treated with low-energy electron-beam irradiation (LEEBI). In: Japanese Journal of Applied Physics Part 2-Letters 28 (1989), Nr. 12, S. L2112–L2114
- [24] Khan, M. A.; Bhattarai, A.; Kuznia, J. N.; Olson, D. T.: High Electron Mobility Transistor Based on a GaN-Al_xGa_{1-x}N Heterojunction. In: *Applied Physics Letters* 63 (1993), Nr. 9, S. 1214–1215

- [25] Denisenko, A.; Aleksov, A.; Daumiller, I.; Kohn, E.: pH Sensors Based on Wide Bandgap Semiconductors. In: 58th Device Research Conference, IEEE, 2000, S. 75–76
- [26] Stutzmann, M.; Steinhoff, G.; Eickhoff, M.; Ambacher, O.; Nebel, C. E.; Schalwig, J.; Neuberger, R.; Müller, G.: GaN-Based Heterostructures for Sensor Applications. In: *Diamond and Related Materials* 11 (2002), Nr. 3-6, S. 886–891
- [27] Steinhoff, G.; Hermann, M.; Schaff, W. J.; Eastman, L. F.; Stutzmann, M.; Eickhoff, M.: pH Response of GaN Surfaces and its Application for pH-Sensitive Field-Effect Transistors. In: *Applied Physics Letters* 83 (2003), Nr. 1, S. 177–179
- [28] Steinhoff, G.; Baur, B.; Wrobel, G.; Ingebrandt, S.; Offenhausser, A.; Dadgar, A.; Krost, A.; Stutzmann, M.; Eickhoff, M.: Recording of cell action potentials with AlGaN/GaN field-effect transistors. In: *Applied Physics Letters* 86 (2005), Nr. 3, S. 033901
- [29] Kang, B. S.; Ren, F.; Wang, L.; Lofton, C.; Tan, W. H. W.; Pearton, S. J.; Dabiran, A.; Osinsky, A.; Chow, P. P.: Electrical Detection of Immobilized Proteins with Ungated AlGaN/GaN High-Electron-Mobility Transistors. In: *Applied Physics Letters* 87 (2005), Nr. 2, S. 023508
- [30] Baur, B. ; Howgate, J. ; Ribbeck, H. G. ; Gawlina, Y. ; Bandalo, V. ; Steinhoff, G. ; Stutzmann, M. ; Eickhoff, M.: Catalytic Activity of Enzymes Immobilized on AlGaN/GaN Solution Gate Field-Effect Transistors. In: *Applied Physics Letters* 89 (2006), Nr. 18, S. 183901
- [31] Kang, B. S.; Pearton, S. J.; Chen, J. J.; Ren, F.; Johnson, J. W.; Therrien, R. J.; Rajagopal, P.; Roberts, J. C.; Piner, E. L.; Linthicum, K. J.: Electrical Detection of Deoxyribonucleic Acid Hybridization with AlGaN/GaN High Electron Mobility Transistors. In: *Applied Physics Letters* 89 (2006), Nr. 12, S. 122102
- [32] Nuzzo, R. G. ; Allara, D. L.: Adsorption of Bifunctional Organic Disulfides on Gold Surfaces. In: *Journal of the American Chemical Society* 105 (1983), Nr. 13, S. 4481–4483
- [33] Lavrich, D. J.; Wetterer, S. M.; Bernasek, S. L.; Scoles, G.: Physisorption and Chemisorption of Alkanethiols and Alkyl Sulfides on Au(111). In: *The Journal of Physical Chemistry B* 102 (1998), Nr. 18, S. 3456–3465
- [34] Bermudez, V. M.: Functionalizing the GaN(0001)-(1x1) surface I. The chemisorption of aniline. In: *Surface Science* 499 (2002), Nr. 2-3, S. 109–123
- [35] Bermudez, V. M.: Functionalizing the GaN(0001)-(1x1) surface II. Chemisorption of 3-pyrroline. In: *Surface Science* 499 (2002), Nr. 2-3, S. 124–134
- [36] Bermudez, V. M.: Adsorption of 1-Octanethiol on the GaN(0001) Surface. In: Langmuir 19 (2003), Nr. 17, S. 6813–6819

- [37] Sagiv, J.: Organized monolayers by adsorption. 1. Formation and structure of oleophobic mixed monolayers on solid surfaces. In: *Journal of the American Chemical Society* 102 (1980), Nr. 1, S. 92–98
- [38] Baur, B. ; Steinhoff, G. ; Hernando, J. ; Purrucker, O. ; Tanaka, M. ; Nickel, B. ; Stutzmann, M. ; Eickhoff, M.: Chemical functionalization of GaN and AIN surfaces. In: *Applied Physics Letters* 87 (2005), Nr. 26, S. 263901
- [39] Linford, M. R.; Fenter, P.; Eisenberger, P. M.; Chidsey, C. E. D.: Alkyl Monolayers on Silicon Prepared from 1-Alkenes and Hydrogen-Terminated Silicon. In: *Journal of the American Chemical Society* 117 (1995), Nr. 11, S. 3145–3155
- [40] Nebel, C. E.; Shin, D.; Takeuchi, D.; Yamamoto, T.; Watanabe, H.; Nakamura, T.: Photochemical attachment of amine linker molecules on hydrogen terminated diamond. In: *Diamond and Related Materials* 15 (2006), Nr. 4-8, S. 1107–1112
- [41] Kim, H.; Colavita, P. E.; Metz, K. M.; Nichols, B. M.; Sun, B.; Uhlrich, J.; Wang, X. Y.; Kuech, T. F.; Hamers, R. J.: Photochemical functionalization of gallium nitride thin films with molecular and biomolecular layers. In: *Langmuir* 22 (2006), Nr. 19, S. 8121–8126
- [42] Hoeb, M.; Auernhammer, M.; Schöll, S. J.; Brandt, M. S.; Garrido, J. A.; Stutzmann, M.; Sharp, I. D.: Thermally Induced Alkylation of Diamond. In: *Langmuir* 26 (2010), Nr. 24, S. 18862–18867
- [43] Gawalt, E. S.; Lu, G.; Bernasek, S. L.; Schwartz, J.: Enhanced Bonding of Alkanephosphonic Acids to Oxidized Titanium Using Surface-Bound Alkoxyzirconium Complex Interfaces. In: *Langmuir* 15 (1999), Nr. 26, S. 8929–8933
- [44] Hanson, E. L. ; Schwartz, J. ; Nickel, B. ; Koch, N. ; Danisman, M. F.: Bonding Self-Assembled, Compact Organophosphonate Monolayers to the Native Oxide Surface of Silicon. In: *Journal of the American Chemical Society* 125 (2003), Nr. 51, S. 16074–16080
- [45] Kim, H.; Colavita, P. E.; Paoprasert, P.; Gopalan, P.; Kuech, T. F.; Hamers, R. J.: Grafting of molecular layers to oxidized gallium nitride surfaces via phosphonic acid linkages. In: *Surface Science* 602 (2008), Nr. 14, S. 2382–2388
- [46] Kang, B. S.; Wang, H. T.; Lele, T. P.; Tseng, Y.; Ren, F.; Pearton, S. J.; Johnson, J. W.; Rajagopal, P.; Roberts, J. C.; Piner, E. L.; Linthicum, K. J.: Prostate specific antigen detection using AlGaN/GaN high electron mobility transistors. In: *Applied Physics Letters* 91 (2007), Nr. 11, S. 112106–3
- [47] Chu, B. H.; Chang, C. Y.; Kroll, K.; Denslow, N.; Wang, Y.-L.; Pearton, S. J.; Dabiran, A. M.; Wowchak, A. M.; Cui, B.; Chow, P. P.; Ren, F.: Detection of an endocrine disrupter biomarker, vitellogenin, in largemouth bass serum using AlGaN/GaN high electron mobility transistors. In: *Applied Physics Letters* 96 (2010), Nr. 1, S. 013701–3

- [48] Wang, H. T.; Kang, B. S.; Ren, F.; Pearton, S. J.; Johnson, J. W.; Rajagopal, P.; Roberts, J. C.; Piner, E. L.; Linthicum, K. J.: Electrical detection of kidney injury molecule-1 with AlGaN/GaN high electron mobility transistors. In: *Applied Physics Letters* 91 (2007), Nr. 22, S. 222101–3
- [49] Wang, Y.-L.; Chu, B. H.; Chen, K. H.; Chang, C. Y.; Lele, T. P.; Tseng, Y.; Pearton, S. J.; Ramage, J.; Hooten, D.; Dabiran, A.; Chow, P. P.; Ren, F.: Botulinum toxin detection using AlGaN/GaN high electron mobility transistors. In: *Applied Physics Letters* 93 (2008), Nr. 26, S. 262101–3
- [50] Wen, X.; Wang, S.; Gupta, S. K.; Shapiro, J.; Brillson, L. J.; Lee, S. C.; Lee, J. L.; Wu, L.: Electrical detection of biological conjugation by AlGaN/GaN heterostructure field effect transistors. In: 2008 66th Annual Device Research Conference (DRC) (2008)
- [51] Wang, Y.-L.; Chu, B. H.; Chen, K. H.; Chang, C. Y.; Lele, T. P.; Papadi, G.; Coleman, J. K.; Sheppard, B. J.; Dungen, C. F.; Pearton, S. J.; Johnson, J. W.; Rajagopal, P.; Roberts, J. C.; Piner, E. L.; Linthicum, K. J.; Ren, F.: Fast detection of a protozoan pathogen, Perkinsus marinus, using AlGaN/GaN high electron mobility transistors. In: *Applied Physics Letters* 94 (2009), Nr. 24, S. 243901–3
- [52] Wang, Y.; Lu, W.: AlGaN/GaN FET for DNA hybridization detection. In: Physica Status Solidi A : Applications and Materials Science 208 (2011), Nr. 7, S. 1623–1625
- [53] Wen, X.; Schuette, M. L.; Gupta, S. K.; Nicholson, I. Theodore R. Theodore R.; Lee, S. C.; Wu, L.: Improved Sensitivity of AlGaN/GaN Field Effect Transistor Biosensors by Optimized Surface Functionalization. In: *IEEE Sensors Journal* 11 (2011), Nr. 8, S. 1726–1735
- [54] Wen, X.; Gupta, S.; Nicholson, T. R.; Lee, S. C.; Wu, L.: AlGaN/GaN HFET biosensors working at subthreshold regime for sensitivity enhancement. In: *Physica Status Solidi C : Current Topics in Solid State Physics* 8 (2011), Nr. 7-8
- [55] Wen, X.; Gupta, S.; Yuji, W.; Nicholson, T. R.; Lee, S. C.; Wu, L.: High sensitivity AlGaN/GaN field effect transistor protein sensors operated in the subthreshold regime by a control gate electrode. In: *Applied Physics Letters* 99 (2011), Nr. 4
- [56] Casal, P.; Wen, X. J.; Gupta, S.; Nicholson, T.; Wang, Y. J.; Theiss, A.; Bhushan, B.; Brillson, L.; Lu, W.; Lee, S. C.: ImmunoFET feasibility in physiological salt environments. In: *Philosophical Transactions of the Royal Society a-Mathematical Physical and Engineering Sciences* 370 (2012), Nr. 1967, S. 2474–2488
- [57] Alur, S.; Thapa, R.; Gnaprakasa, T.; Yaqi, W.; Sharma, Y.; Javalosa, E.; Smith, E.; Ahyi, C.; Simonian, A.; Bozack, M.; Williams, J.; Park, M.: DNA Hybridization Sensor Based on AlGaN/GaN HEMT. In: *Physica Status Solidi C : Current Topics in Solid State Physics* 8 (2011), Nr. 7-8

- [58] Thapa, R.; Alur, S.; Kim, K.; Tong, F.; Sharma, Y.; Kim, M.; Ahyi, C.; Dai, J.; Hong, J. W.; Bozack, M.; Williams, J.; Son, A.; Dabiran, A.; Park, M.: Biofunctionalized AlGaN/GaN high electron mobility transistor for DNA hybridization detection. In: *Applied Physics Letters* 100 (2012), Nr. 23
- [59] UniProt: UniProt. Webseite. http://www.uniprot.org, Abruf: 6. März 2012
- [60] Chu, B. H.; Kang, B. S.; Wang, H. T.; Chang, C. Y.; Lele, T.; Tseng, Y.; Goh, A.; Sciullo, A.; Wu, W. S.; Lin, J. N.; Gila, B. P.; Pearton, S. J.; Johnson, J. W.; Piner, E. L.; Linthicum, K. J.; Ren, F.: AlGaN/GaN HEMT And ZnO Nanorod-Based Sensors for Chemical And Bio-Applications. In: Morkoç, H. (Hrsg.); Litton, C. W. (Hrsg.); Chyi, J.-I. (Hrsg.); Nanishi, Y. (Hrsg.); Piprek, J. (Hrsg.); Yoon, E. (Hrsg.): *Gallium Nitride Materials and Devices IV* Bd. 7216. Bellingham : Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers, 2009 (Proceedings of SPIE-The International Society for Optical Engineering), S. 72162A–1
- [61] Ren, F. ; Pearton, S. J.: Sensors using AlGaN/GaN based high electron mobility transistor for environmental and bio-applications. In: *Physica Status Solidi C : Current Topics in Solid State Physics* 9 (2012), Nr. 2, S. 393–398
- [62] Southern, E. M.: Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. In: *Journal of Molecular Biology* 98 (1975), Nr. 3, S. 503–517
- [63] Alwine, J. C. ; Kemp, D. J. ; Stark, G. R.: Method for detection of specific RNAs in agarose gels by transfer to diazobenzyloxymethyl-paper and hybridization with DNA probes. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 74 (1977), Nr. 12, S. 5350–5354
- [64] Nygaard, A. P. ; Hall, B. D.: A method for the detection of RNA-DNA complexes.
 In: *Biochemical and Biophysical Research Communications* 12 (1963), Nr. 2, S. 98–104
- [65] Gillespie, D. ; Spiegelman, S.: A quantitative assay for DNA-RNA hybrids with DNA immobilized on a membrane. In: *Journal of Molecular Biology* 12 (1965), Nr. 3, S. 829–842
- [66] Renart, J.; Reiser, J.; Stark, G. R.: Transfer of proteins from gels to diazobenzyloxymethyl-paper and detection with antisera: a method for studying antibody specificity and antigen structure. In: *Proceedings of the National Academy* of Sciences 76 (1979), Nr. 7, S. 3116–3120
- [67] Towbin, H.; Staehelin, T.; Gordon, J.: Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 76 (1979), Nr. 9, S. 4350–4354

- [68] Maskos, U. ; Southern, E. M.: Oligonucleotide hybridisations on glass supports: a novel linker for oligonucleotide synthesis and hybridisation properties of oligonucleotides synthesised in situ. In: *Nucleic Acids Research* 20 (1992), Nr. 7, S. 1679–1684
- [69] Guo, Z.; Guilfoyle, R. A.; Thiel, A. J.; Wang, R.; Smith, L. M.: Direct fluorescence analysis of genetic polymorphisms by hybridization with oligonucleotide arrays on glass supports. In: *Nucleic Acids Research* 22 (1994), Nr. 24, S. 5456–5465
- [70] Lund, V. ; Schmid, R. ; Rickwood, D. ; Robbiati, F. ; Homes, E.: Assessment of methods for covalent binding of nucleic acids to magnetic beads, Dynabeads[™], and the characteristics of the bound nucleic acids in hybridization reactions. In: *Nucleic Acids Research* 16 (1988), Nr. 22, S. 10861–10880
- [71] Saiki, R. K.; Walsh, P. S.; Levenson, C. H.; Erlich, H. A.: Genetic analysis of amplified DNA with immobilized sequence-specific oligonucleotide probes. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 86 (1989), Nr. 16, S. 6230–6234
- [72] Gutmann, O. ; Niekrawietz, R. ; Kuehlewein, R. ; Steinert, C. P. ; Reinbold, S. ; Heij, B. de ; Daub, M. ; Zengerle, R.: Non-contact production of oligonucleotide microarrays using the highly integrated TopSpot nanoliter dispenser. In: *Analyst* 129 (2004), Nr. 9, S. 835–840
- [73] Schwarz, S. U.: *Funktionalisierung von ionensensitiven AIGaN/GaN-Transistoren*, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Diplomarbeit, 2009
- [74] Kretschmann, E. ; Raether, H.: Radiative decay of non radiative surface plasmons excited by light. In: *Zeitschrift für Naturforschung A (Astrophysik, Physik und Physikalische Chemie)* 23A (1968), Nr. 12, S. 2135–2136
- [75] Millan, K. M. ; Mikkelsen, S. R.: Sequence-selective biosensor for DNA based on electroactive hybridization indicators. In: *Analytical Chemistry* 65 (1993), Nr. 17, S. 2317–2323
- [76] Wang, J.; Rivas, G.; Fernandes, J. R.; Lopez Paz, J. L.; Jiang, M.; Waymire, R.: Indicator-free electrochemical DNA hybridization biosensor. In: *Analytica Chimica Acta* 375 (1998), Nr. 3, S. 197–203
- [77] Pang, D.-W. ; Zhang, M. ; Wang, Z.-L. ; Qi, Y.-P. ; Cheng, J.-K. ; Liu, Z.-Y.: Modification of glassy carbon and gold electrodes with DNA. In: *Journal of Electroanalytical Chemistry* 403 (1996), Nr. 1-2, S. 183–188
- [78] Sauerbrey, G.: Verwendung von Schwingquarzen zur Wägung dünner Schichten und zur Mikrowägung. In: *Zeitschrift für Physik* 155 (1959), Nr. 2, S. 206–222
- [79] Fritz, J.; Baller, M. K.; Lang, H. P.; Rothuizen, H.; Vettiger, P.; Meyer, E.;
 J. Güntherodt, H.; Gerber, C.; Gimzewski, J. K.: Translating Biomolecular Recognition into Nanomechanics. In: *Science* 288 (2000), Nr. 5464, S. 316–318

- [80] Länge, K. ; Blaess, G. ; Voigt, A. ; Götzen, R. ; Rapp, M.: Integration of a surface acoustic wave biosensor in a microfluidic polymer chip. In: *Biosensors and Bioelectronics* 22 (2006), Nr. 2, S. 227–232
- [81] Tsortos, A.; Papadakis, G.; Mitsakakis, K.; Melzak, K. A.; Gizeli, E.: Quantitative Determination of Size and Shape of Surface-Bound DNA Using an Acoustic Wave Sensor. In: *Biophysical Journal* 94 (2008), Nr. 7, S. 2706–2715
- [82] Poghossian, A.; Cherstvy, A.; Ingebrandt, S.; Offenhausser, A.; Schöning, M. J.: Possibilities and limitations of label-free detection of DNA hybridization with field-effect-based devices. In: *Sensors and Actuators B-Chemical* 111 (2005), S. 470–480
- [83] Ambacher, O.; Foutz, B.; Smart, J.; Shealy, J. R.; Weimann, N. G.; Chu, K.; Murphy, M.; Sierakowski, A. J.; Schaff, W. J.; Eastman, L. F.; Dimitrov, R.; Mitchell, A.; Stutzmann, M.: Two dimensional electron gases induced by spontaneous and piezoelectric polarization in undoped and doped AlGaN/GaN heterostructures. In: *Journal of Applied Physics* 87 (2000), Nr. 1, S. 334–344
- [84] Schöning, M. J.; Poghossian, A.: Silicon-based field-effect devices for (bio-) chemical sensing. In: Hascik, S. (Hrsg.); Osvald, J. (Hrsg.): Proceedings of the 7th International Conference on Advanced Semiconductor Devices and Microsystems 2008 - ASDAM. Smolenice, Slovakia : IEEE, 2009, S. 31–38
- [85] Schmid, R. D.: *Taschenatlas der Biotechnologie und Gentechnik*. Weinheim : Verlag Wiley-VCH, 2006
- [86] DNA_chemical_structure_cropped.png. Wikimedia Foundation (CC BY-SA 3.0). http://wikimedia.org/wiki/File:DNA_chemical_structure_cropped.png, Abruf:
 6. Dezember 2012
- [87] Howley, P. M.; Israel, M. A.; Law, M. F.; Martin, M. A.: A rapid method for detecting and mapping homology between heterologous DNAs - evaluation of polyomavirus genomes. In: *Journal of Biological Chemistry* 254 (1979), Nr. 11, S. 4876–4883
- [88] Panjkovich, A. ; Melo, F.: Comparison of different melting temperature calculation methods for short DNA sequences. In: *Bioinformatics* 21 (2005), Nr. 6, S. 711–722
- [89] Debye, P. ; Hückel, E.: Zur Theorie der Elektrolyte. II. Das Grenzgesetz für die elektrische Leitfähigkeit. In: *Physikalische Zeitschrift* 24 (1923), S. 305–325
- [90] Atkins, P. ; Paula, J. de: *Physical Chemistry*. New York : Oxford University Press, 2010
- [91] B. Braun Melsungen AG (Hrsg.): Fachinformation Ringer-Infusionslösung B. Braun. Melsungen: B. Braun Melsungen AG, 2001
- [92] Schöning, M. J.; Poghossian, A.: Bio FEDs (Field-Effect devices): State-of-the-art and new directions. In: *Electroanalysis* 18 (2006), Nr. 19-20, S. 1893–1900

- [93] Hammer, A.; Hammer, H.; Hammer, K.: *Physikalische Formeln und Tabellen*.6. Auflage. München : J. Lindauer Verlag (Schaefer), 2000
- [94] Blackburn, G. F.: Chemically sensitive field-effect transistors. In: Turner, A. P. F. (Hrsg.); Karube, I. (Hrsg.); Wilson, G. S. (Hrsg.): *Biosensors : Fundamentals and Applications*. Oxford : Oxford University Press, 1987, S. 481–530
- [95] Yates, D. E.; Levine, S.; Healy, T. W.: Site-binding Model of the Electrical Double Layer at the Oxide/Water Interface. In: *Journal of the Chemical Society-Faraday Transactions I* 70 (1974), S. 1807–1818
- [96] Kories, R. ; Schmidt-Walter, H.: Taschenbuch der Elektrotechnik : Grundlagen und Elektronik. Frankfurt am Main : Wissenschaftlicher Verlag Harri Deutsch GmbH, 2004
- [97] Chin, V. W. L. ; Tansley, T. L. ; Ostochan, T.: Electron Mobilities in Gallium, Indium and Aluminum Nitrides. In: *Journal of Applied Physics* 75 (1994), Nr. 11, S. 7365–7372
- [98] Adachi, S.: Properties of Semiconductor Alloys: Group-IV, III-V and II-VI Semiconductors. Hoboken : John Wiley & Sons, 2009 (Wiley Series in Materials for Electronic & Optoelectronic Applications)
- [99] Pospieszalski, M. W.: Modeling of noise parameters of MESFETs and MODFETs and their frequency and temperature dependence. In: *IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques* 37 (1989), Nr. 9, S. 1340–1350
- [100] Yoneyama, H. ; Hoflund, G. B.: Adsorption on semiconductor electrodes. In: Progress in Surface Science 21 (1986), Nr. 1, S. 5–92
- [101] Eickhoff, M.; Schalwig, J.; Steinhoff, G.; Weidemann, O.; Gorgens, L.; Neuberger, R.; Hermann, M.; Baur, B.; Muller, G.; Ambacher, O.; Stutzmann, M.: Electronics and Sensors Based on Pyroelectric AlGaN/GaN Heterostructures. Part B: Sensor Applications. In: *Physica Status Solidi C : Current Topics in Solid State Physics* (2003), Nr. 6, S. 1908–1918
- [102] Bergveld, P.: ISFET, Theory and Practice. In: IEEE Sensors. Toronto, 22.–24. Oktober 2003
- [103] Linkohr, S.: AIGaN/GaN-basierte-pH-Sensoren für biochemische Anwendungen, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Dissertation, 2011
- [104] Horn, A. ; Katz, O. ; Bahir, G. ; Salzman, J.: Surface states and persistent photocurrent in a GaN heterostructure field effect transistor. In: *Semiconductor Science and Technology* 21 (2006), Nr. 7, S. 933–937
- [105] Mishra, U. K.; Parikh, P.; Wu, Y. F.: AlGaN/GaN HEMTs An overview of device operation and applications. In: *Proceedings of the IEEE* 90 (2002), Nr. 6
- [106] Wurtzite_Polyhedra.png. Wikimedia Foundation (PD). http://wikimedia.org/ wiki/File:Wurtzite_polyhedra.png, Abruf: 23. November 2012

- [107] Ambacher, O.: Growth and applications of Group III nitrides. In: Journal of Physics D-Applied Physics 31 (1998), Nr. 20, S. 2653–2710
- [108] Mortimer, C. E. ; Müller, U.: *Chemie : das Basiswissen der Chemie*. Stuttgart : G. Thieme, 2003
- [109] Yu, E. T.; Dang, X. Z.; Yu, L. S.; Qiao, D.; Asbeck, P. M.; Lau, S. S.; Sullivan, G. J.; Boutros, K. S.; Redwing, J. M.: Schottky barrier engineering in III-V nitrides via the piezoelectric effect. In: *Applied Physics Letters* 73 (1998), Nr. 13, S. 1880–1882
- [110] Strother, T.; Knickerbocker, T.; Russell, J. N.; Butler, J. E.; Smith, L. M.; Hamers, R. J.: Photochemical functionalization of diamond films. In: *Langmuir* 18 (2002), Nr. 4, S. 968–971
- [111] Hu, C. L. ; Li, J. Q. ; Chen, Y. ; Wang, W. F.: Electrophilic Reaction Mechanism for Alkyl Monolayer Formation Initiated at Isolated Dangling Bonds of the H-GaN (0001) Surface: A Periodic Density Functional Theory Study. In: *Journal of Physical Chemistry C* 112 (2008), Nr. 43, S. 16932–16937
- [112] Takeuchi, N.; Kanai, Y.; Selloni, A.: Surface reaction of alkynes and alkenes with H-Si(111): A density functional theory study. In: *Journal of the American Chemical Society* 126 (2004), Nr. 48, S. 15890–15896
- [113] Ahn, J.; Sung, M. M.; Rabalais, J. W.; Koleske, D. D.; Wickenden, A. E.: Surface composition and structure of GaN epilayers on sapphire. In: *Journal of Chemical Physics* 107 (1997), Nr. 22, S. 9577–9584
- [114] Jones, A.; O'Brien, P.: CVD of Compound Semiconductors. Hoboken : John Wiley & Sons, 2008
- [115] Nichols, B. M. ; Butler, J. E. ; Russell, J. N. ; Hamers, R. J.: Photochemical functionalization of hydrogen-terminated diamond surfaces: A structural and mechanistic study. In: *Journal of Physical Chemistry B* 109 (2005), Nr. 44, S. 20938–20947
- [116] Nichols, B. M.; Metz, K. M.; Tse, K. Y.; Butler, J. E.; Russell, J. N.; Hamers, R. J.: Electrical bias dependent photochemical functionalization of diamond surfaces. In: *Journal of Physical Chemistry B* 110 (2006), Nr. 33, S. 16535–16543
- [117] Wang, X.; Colavita, P. E.; Metz, K. M.; Butler, J. E.; Hamers, R. J.: Direct photopatterning and SEM Imaging of molecular monolayers on diamond surfaces: Mechanistic insights into UV-Initiated molecular grafting. In: *Langmuir* 23 (2007), Nr. 23, S. 11623–11630
- [118] Levinshtein, M. E.; Rumyantsev, S. L.; Shur, M. S.: Properties of advanced semiconductor materials : GaN, AIN, InN, BN, SiC, SiGe. Hoboken : John Wiley & Sons, 2001

- [119] Linkohr, S. ; Pletschen, W. ; Schwarz, S. U. ; Anzt, J. ; Cimalla, V. ; Ambacher, O.: CIP (cleaning-in-place) stability of AlGaN/GaN pH sensors. In: *Journal of Biotechnology* 163 (2013), S. 354–361
- [120] Ayers, J. E.: *Heteroepitaxy of Semiconductors : Theory, Growth and Characterization.* Boca Raton : CRC Press, 2007
- [121] Nebel, C. E. ; Rezek, B. ; Shin, D. ; Uetsuka, H. ; Yang, N.: Diamond for bio-sensor applications. In: *Journal of Physics D-Applied Physics* 40 (2007), Nr. 20, S. 6443–6466
- [122] Briggs, D.; Seah, M. P.: Practical surface analysis : by auger and x-ray photoelectron spectroscopy. Hoboken : John Wiley & Sons, 1983
- [123] National Institute of Standards and Technology (Hrsg.): NIST XPS Database. Gaithersburg: National Institute of Standards and Technology, 2012. http://srdata. nist.gov/xps/
- [124] Tanuma, S.; Powell, C. J.; Penn, D. R.: Calculations of electron inelastic mean free paths. V. Data for 14 organic compounds over the 50–2000 eV range. In: *Surface and Interface Analysis* 21 (1994), Nr. 3, S. 165–176
- [125] National Institute of Standards and Technology (Hrsg.): NIST Electron Inelastic-Mean-Free-Path Database. Gaithersburg: National Institute of Standards and Technology, 2010. http://www.nist.gov/srd/nist71.cfm
- [126] Sieval, A. B. ; Demirel, A. L. ; Nissink, J. W. M. ; Linford, M. R. ; Maas, J. H. d. ; Jeu, W. H. ; Zuilhof, H. ; Sudholter, E. J. R.: Highly stable Si-C linked functionalized monolayers on the silicon (100) surface. In: *Langmuir* 14 (1998), Nr. 7, S. 1759– 1768
- [127] Moore, J. W. ; Stanitski, C. L. ; Jurs, P. C.: Chemistry : the molecular science. Belmont, CA : Thomson Brooks/Cole, 2008
- [128] Odian, G. G.: *Principles of polymerization*. 3rd edition. Hoboken : John Wiley & Sons, 1991
- [129] Alfa-Aesar GmbH & Co. KG (Hrsg.): Sicherheitsdatenblatt 5-Bromo-1-pentene. 20100702. Karlsruhe: Alfa-Aesar GmbH & Co. KG, 2010
- [130] Fischer, K.-F.: Taschenbuch der technischen Formeln. München : Hanser Verlag, 2005
- [131] Nernst, W.: Die elektromotorische Wirksamkeit der Ionen. In: Zeitschrift für physikalische Chemie 4 (1889), S. 129–181
- [132] Podolska, A.; Seeber, R. M.; Kocan, M.; Pfleger, K. D. G.; Parish, G.; Nener, B. D.: Cell growth and attachment to AlGaN surfaces for biosensor applications. In: 2010 International Conference on Nanoscience and Nanotechnology, S. 264–267

- [133] Podolska, A.; Dunnage, S.; Umana-Membreno, G. A.; Seeber, R. M.; Fehlberg, T.; Keller, S.; Mishra, U. K.; Pfleger, K. D.; Nener, B. D.; Parish, G.: Ion sensitive AlGaN/GaN heterostructures for cell-based biosensor development. In: Proceedings of the 2010 Conference on Optoelectronic and Microelectronic Materials & Devices (COMMAD 2010), S. 137–138
- [134] Podolska, A. ; Kocan, M. ; Cabezas, A. M. G. ; Wilson, T. D. ; Umana-Membreno, G. A. ; Nener, B. D. ; Parish, G. ; Keller, S. ; Mishra, U. K.: Ion versus pH sensitivity of ungated AIGaN/GaN heterostructure-based devices. In: *Applied Physics Letters* 97 (2010), Nr. 1, S. 012108–1–3
- [135] Podolska, A.; Tham, S.; Hart, R. D.; Seeber, R. M.; Kocan, M.; Kocan, M.; Mishra, U. K.; Pfleger, K. D. G.; Parish, G.; Nener, B. D.: Biocompatibility of semiconducting AlGaN/GaN material with living cells. In: *Sensors and Actuators B-Chemical* 169 (2012), S. 401–406
- [136] Chang, Y.-C.: Effects of illumination on the excess carrier dynamics and variations of the surface states in an AlGaN/GaN heterostructure. In: *Journal of Applied Physics* 107 (2010), Nr. 3, S. 033706–7
- [137] UniProt: *Hemoglobin subunit beta Homo sapiens (Human)*. Webseite. http: //www.uniprot.org/uniprot/P68871, Abruf: 21. Juni. 2012
- [138] Janning, W. ; Knust, E.: *Genetik: Allgemeine Genetik, Molekulare Genetik, Entwicklungsgenetik.* Stuttgart : Georg Thieme Verlag KG, 2004
- [139] Waltereit, P. ; Müller, S. ; Bellmann, K. ; Buchheim, C. ; Goldhahn, R. ; Köhler, K. ; Kirste, L. ; Bäumler, M. ; Dammann, M. ; Bronner, W. ; Quay, R. ; Ambacher, O.: Impact of GaN cap thickness on optical, electrical, and device properties in AlGaN/GaN high electron mobility transistor structures. In: *Journal of Applied Physics* 106 (2009), Nr. 2, S. 023535–7
- [140] Siegenthaler, W. ; Blum, H. E.: Klinische Pathophysiologie. Stuttgart : Georg Thieme Verlag KG, 2006
- [141] Biozentrum Universität Basel: SWISS-MODEL Repository Model Details. Webseite. http://swissmodel.expasy.org/repository/smr.php?sptr_ac=P10148&csm= 29A5505FC6D94837, Abruf: 15. Februar 2013
- [142] Grosse, J.; Chitu, V.; Marquardt, A.; Hanke, P.; Schmittwolf, C.; Zeitlmann, L.; Schropp, P.; Barth, B.; Yu, P.; Paffenholz, R.; Stumm, G.; Nehls, M.; Stanley, E. R.: Mutation of mouse Mayp/Pstpip2 causes a macrophage autoinflammatory disease. In: *Blood* 107 (2006), Nr. 8, S. 3350–3358
- [143] Sigma-Aldrich (Hrsg.): Product Information RPMI-1640 Media. Saint Louis: Sigma-Aldrich, 2002
- [144] Putnam, C.: Protein Calculator v3.3. La Jolla: Scripps Research Institute, 2006

- [145] Cell Signaling Technology, Inc. (Hrsg.): Datenblatt MCP-1 Antibody (Mouse Specific). Beverly: Cell Signaling Technology, Inc., 6. November 2011
- [146] Richter, G.: Praktische Biochemie. Stuttgart : Georg Thieme Verlag KG, 2003
- [147] UniProt: *C-C motif chemokine 2 precursor Mus musculus (Mouse)*. Webseite. http://www.uniprot.org/uniprot/P10148, Abruf: 15. Februar 2013

Abbildungsverzeichnis

1.1. 1.2. 1.3. 1.4. 1.5.	Funktionalisierung von GaN-Oberflächen mit Organosilanen.Funktionalisierung von GaN-Oberflächen mit 1-Alkenen.Funktionalisierung von GaN-Oberflächen mit Organophosphorsäuren.Optische Nachweise.Elektrochemische und mikromechanische Nachweise.	6 6 7 9 11
 2.1. 2.2. 2.3. 2.4. 2.5. 2.6. 2.7. 2.8. 2.9. 2.10. 2.11. 2.12 	Chemische Struktur der DNA	14 15 16 17 18 21 22 25 28 29 30
 2.12. 2.13. 2.14. 2.15. 	Schematischer Aufbau eines Fluid-Gate-HEMTs	31 32 33 34
 3.1. 3.2. 3.3. 3.4. 3.5. 3.6. 3.7. 3.8. 3.9. 3.10. 	Prozessschema rückseitenkontaktierter Sensor (1/2)	39 40 41 42 43 44 45 46 48 48
 4.1. 4.2. 4.3. 4.4. 4.5. 4.6. 	Strukturformeln der Funktionalisierungsmoleküle	52 53 54 55 56 57

4.7.	Schichtdickenbestimmung mit AFM	58
4.8.	Modell zur Abschätzung der Funktionalisierungsdichte	62
4.9.	Oberflächenvorbehandlung mit Flusssäure (AFM)	63
4.10.	. Oberflächenvorbehandlung mit Flusssäure (XPS)	63
4.11.	. Messung der Kinetik der photochemischen Anbindung von TFAAD	64
4.12.	. Funktionalisierungsschicht ohne UG11-Filter	65
4.13.	. UV-Spektren im Funktinoalisierungsreaktor	66
4.14.	. Thermische Funktionalisierung ohne HF-Vorbehandlung (AFM)	67
4.15.	. Probenhalter für die thermische Funktionalisierung	68
4.16.	. Thermisch funktionalisierte Galliumnitridoberflächen (AFM)	68
4.17.	. Schematische Darstellung der TFAAD-Anbindung auf Galliumnitrid	69
4.18.	. Morphologie von TFAAD-Funktionalisierungsschichten (AFM)	70
4.19.	. Übersichtsspektrum XPS-Analyse	71
4.20.	. XPS-Analyse der Gallium 3s- und Stickstoff 1s-Peaks	72
4.21.	. XPS-Analyse der Aluminium 2p- und Sauerstoff 1s-Peaks	73
4.22.	. XPS-Analyse der Kohlenstoff 1s- und Brom 3d-Peaks	74
4.23.	. XPS-Analyse der Silizium 2s- und Zink 2p-Peaks	76
4.24.	. Chemie der Biofunktionalisierung von Galliumnitridoberflächen	79
4.25.	Antikörperfunktionalisierte Sensoroberfläche (AFM)	80
5.1.	Bestimmung des Betriebsbereichs	84
5.2.	Betriebsbereiche ssDNA-funktionalisierter Sensoren	85
5.3.	Transferkennlinie im Funktionalisierungsprozess	86
5.4.	Ausgangskennlinienfeld im Funktionalisierungsprozess	88
5.5.	Messprinzip Konstantspannungsmessungen	89
5.6.	Messprinzip Konstantstrommessungen	91
5.7.	Messprinzip Transferkennlinien	92
5.8.	Kinetik der Transferkennlinie	92
5.9.	Regelkreis bei Referenzpotentialmessungen	93
5.10.	Messprinzip Referenzpotentialmessungen	94
5.11.	. Einzeltransferkennlinien in der Brückenschaltung	96
5.12.	. Transferkennlinie der gesamten Brückenschaltung	96
5.13.	. Messprinzip Wheatstone-Brückenschaltung	97
5.14.	Lichtempfindlichkeit des Sensors	98
5.15.	. Referenzspannungsverlauf zur Zeitkonstantenbestimmung	99
5.16.	. Sprungantwort des Sensors	100
5.17.	Definition der Zeitkonstanten	102
5.18.	. Drainstrommessung Hybridisierung 15 bp DNA	105
5.19.	. Transferkennlinien (Ausschnitt) Hybridisierung 15 bp DNA	106
5.20.	. Referenzpotentialmessung Hybridisierung 30 bp DNA	107
5.21.	. Transferkennlinien (Ausschnitt) Hybridisierung 30 bp DNA	107
5.22.	. Zeitkonstante $ au_{0,99}$ bei der DNA-Hybridisierung \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots	108
5.23.	. Kontrollmessung DNA auf unfunktionalisiertem Sensor	109
5.24.	. Kontrollmessung nicht-komplementäre DNA	110
5.25.	. Wiederverwendbarkeit des Sensors	111
5.26.	. Reproduzierbarkeit bei identischem Sensor	112

5.27. Reproduzierbarkeit bei identisch prozessierten Sensoren	113
5.28. Nachweisgrenze bei der DNA-Hybridisierung	114
5.29. Inverses Messsignal bei der Hybridisierung	115
5.30. Ladungsmodell bei inversen Messsignalen	116
5.31. Driftverhalten des biofunktionalisierten Sensors	117
5.32. Tertiärstruktur des CCL2	119
5.33. Einfluss des Zellkulturmediums (Referenzpotentialmessung)	120
5.34. Kontrollmessung ohne Funktionalisierung (Referenzpotentialmessung) .	121
5.35. Kontrollmessung ohne CCL2 (Referenzpotentialmessung)	122
5.36. Detektion von CCL2 (Referenzpotentialmessung)	123
5.37. Zeitkonstante $ au_{0,90}$ bei der CCL2-Detektion	125
5.38. Zeitkonstante $ au_{0,95}$ bei der CCL2-Detektion	125
5.39. Zeitkonstante $ au_{0,99}$ bei der CCL2-Detektion	126
5.40. Zeitkonstante τ_A bei der CCL2-Detektion	126
Tabellenverzeichnis

1.1.	Referenzpublikationen Feldeffektbiosensoren	8
2.1.	Debyelängen verschiedener Flüssigkeiten	20
2.2.	Theoretische Sensorsignale $(1/2)$	23
2.3.	Theoretische Sensorsignale $(2/2)$	23
2.4.	Gitterparameter und spontane Polarisation	26
2.5.	Elastizitäts- und piezoelektrische Koeffizienten	27
3.1.	Heterostruktur für die Herstellung der Biosensoren	37
4.1.	Ermittelte XPS-Peaks funktionalisierter Proben (1/2)	77
4.2.	Ermittelte XPS-Peaks funktionalisierter Proben $(1/2)$	78
5.1.	Transferkennlinie im Funktionalisierungsprozess	87

Publikationsverzeichnis

Teile dieser Arbeit wurden bereits in wissenschaftlichen Magazinen, in Konferenzsammelbänden sowie durch Vorträge und Posterpräsentationen im Rahmen von Fachkonferenzen veröffentlicht:

Artikel in wissenschaftlichen Zeitschriften

- Schwarz, S. U.; Linkohr, S.; Lorenz, P.; Krischok, S.; Nakamura, T.; Cimalla, V.; Nebel, C. E.; Ambacher, O.: DNA-sensor based on AlGaN/GaN high electron mobility transistor. In: *Physica Status Solidi A : Applications and Materials Science* 208 (2011), Nr. 7, S. 1626–1629
- Schwarz, S. U.; Cimalla, V.; Eichapfel, G.; Himmerlich, M.; Krischok, S.; Ambacher, O.: Thermal Functionalization of GaN Surfaces with 1-Alkenes. In: *Langmuir* 29 (2013), Nr. 21, S. 6296–6301
- [3] Linkohr, S.; Pletschen, W.; Schwarz, S. U.; Anzt, J.; Cimalla, V.; Ambacher, O.: CIP (cleaning-in-place) stability of AlGaN/GaN pH sensors. In: *Journal of Biotechnology* 163 (2013), S. 354–361

Artikel in Konferenzsammelbänden

- Linkohr, S.; Schwarz, S. U.; Krischok, S.; Lorenz, P.; Nakamura, T.; Polyakov, V.; Cimalla, V.; Nebel, C. E.; Ambacher, O.: A novel functionalization of AlGaN/GaNpH-sensors for DNA-sensors. In: Gwo, S. (Hrsg.); Ager, J. W. (Hrsg.); Ren, F. (Hrsg.); Ambacher, O. (Hrsg.); Schowalter, L. (Hrsg.): *MRS Proceedings* Bd. 1202, 2009, S. 106–02
- [2] Linkohr, S.; Schwarz, S. U.; Krischok, S.; Lorenz, P.; Cimalla, V.; Nebel, C.; Ambacher, O.: A novel bio-functionalization of AlGaN/GaN-ISFETs for DNA-sensors. In: *Physica Status Solidi C : Current Topics in Solid State Physics* 7 (2010), Nr. 7-8, S. 1810–1813

Vorträge auf Fachkonferenzen

- [1] Schwarz, S. U.; Cimalla, V.; Nebel, C. E.; Ambacher, O.: Functionalization of AlGaN/GaN heterostructures with TFAAD. DPG-Frühjahrstagung der Sektion Kondensierte Materie (SKM). Regensburg, 21.–26. März 2010
- [2] Schwarz, S. U.; Linkohr, S.; Polyakov, V.; Lorenz, P.; Krischok, S.; Nakamura, T.; Cimalla, V.; Nebel, C. E.; Ambacher, O.: DNA-sensor based on AlGaN/GaN high electron mobility transistor. *International Workshop on Nitride Semiconductors*. Tampa, 19.–24. September 2010
- [3] Schwarz, S. U. ; Linkohr, S. ; Nakamura, T. ; Cimalla, V. ; Nebel, C. E. ; Ambacher, O.: Langzeitstabiler labelfreier DNA-Hybridisierungssensor mit kovalent gebundener Sonden-DNA. *7. Deutsches Biosensor Symposium*. Heilbad Heiligenstadt, 3.–6. April 2011
- [4] Schwarz, S. U.; Linkohr, S.; Cimalla, V.; Ambacher, O.: Advanced Design for AIGaN/GaN-FET Biosensors. 6th Workshop "Microtechnology for Chemistry and Biology Laboratories". Elgersburg, 20.–22. März 2012
- [5] Schwarz, S. U. ; Podolska, A. ; Srninivasan, A. S. ; Cimalla, V. ; Ambacher, O.: Dynamisches Messprinzip für labelfreie GaN-Affinitätssensoren. *8. Deutsches Biosensor Symposium*. Wildau, 10.–13. März 2013
- [6] Linkohr, S.; Schwarz, S. U.; Krischok, S.; Lorenz, P.; Nakamura, T.; Polyakov, V.; Cimalla, V.; Nebel, C. E.; Ambacher, O.: A novel functionalization of AlGaN/GaNpH-sensors for DNA-sensors. 18th European Workshop on Heterostructure Technology (HETECH). Ulm, 2.–4. November 2009
- [7] Cimalla, V.; Lübbers, B.; Cimalla, I.; Gebinoga, M.; Schober, A.; Polyakov, V.; Schwarz, S. U.; Linkohr, S.; Ambacher, O.: GaN based transducers for biosensing. International Union of Materials Research Societies – International Conference on Electronic Materials 2010 (IUMRS–ICEM02010). Seoul, 22.–27. August 2010
- [8] Linkohr, S. ; Schwarz, S. U. ; Polyakov, V. ; Nakamura, T. ; Cimalla, V. ; Nebel, C. E. ; Ambacher, O.: AlGaN/GaN electrolyte gate field effect transistor based DNA sensors. *19th European Workshop on Heterostructure Technology (HETECH)*. Fodele, 18.–20. Oktober 2010

Posterpräsentationen auf Fachkonferenzen

- Schwarz, S. U.; Linkohr, S.; Polyakov, V.; Cimalla, V.; Nakamura, T.; Ambacher, O.: Photochemical functionalization of AlGaN/GaN heterostructures with TFAAD. *E-MRS Spring Meeting*. Strasbourg, 7.–11. Juni 2010
- [2] Schwarz, S. U.; Linkohr, S.; Wang, C.; Knöbber, F.; Bludau, O.; Ambacher, O.: Compound semiconductor based sensors and microelectromechanical devices. *IMTEK Forschungstag.* Freiburg im Breisgau, 24. Juni 2010

- [3] Schwarz, S. U. ; Linkohr, S. ; Cimalla, V. ; Ambacher, O.: Multi-Purpose Biosensor Platform based on GaN/AlGaN/GaN Electrolyte Gate Field Effect Transistors. *IMTEK Forschungstag.* Freiburg im Breisgau, 14. Juli 2011
- [4] Linkohr, S.; Schwarz, S. U.; Williams, O.; Kriele, A.; Nebel, C. E.; Lebedev, V.; Cimalla, V.; Ambacher, O.: AlGaN/GaN-Biosensoren als stabile DNA-Sensoren. *6. Deutsches Biosensor Symposium*. Freiburg im Breisgau, 29. März–1. April 2009
- [5] Linkohr, S.; Wang, C.; Schwarz, S. U.; Cimalla, V.; Lebedev, V.; Ambacher, O.: Novel III-Nitride based Bio- and Gas Sensors. *IMTEK Forschungstag*. Freiburg im Breisgau, 18. Juni 2009
- [6] Eichapfel, G. ; Himmerlich, M. ; Krischok, S. ; Schwarz, S. U. ; Cimalla, V. ; Ambacher, O.: Influence of chemical treatments and the attachment of functional molecules on the surface properties of GaN. *DPG-Frühjahrstagung der Sektion Kondensierte Materie (SKM)*. Regensburg, 10.–15. März 2013

Danksagung

Dem Franken sagt man ja gemeinhin nach, dass es bereits ein ausreichendes Lob sei, wenn er nicht nörgelt. Doch bei all den Erfahrungen und Hilfestellungen, die ich in den letzten gut drei Jahren bei der Arbeit am Institut und der Anfertigung dieser Dissertation empfangen habe, möchte ich gerne über meinen fränkischen Schatten springen und einmal "Danke" sagen – ohne Unterstützung wäre die Anfertigung dieser Arbeit nicht möglich gewesen.

Ein erster Dank gilt Prof. Dr. Oliver Ambacher, der mir das Vertrauen entgegengebracht hat, diese Dissertation am Fraunhofer IAF im Rahmen einer Anstellung als wissenschaftlicher Mitarbeiter an seinem Lehrstuhl am Institut für Mikrosystemtechnik anzufertigen. Viele der wissenschaftlichen Arbeiten, die diesem Text zugrunde liegen, wurden von ihm (mit-)verfasst. Darüber hinaus hat er sich dazu bereit erklärt, die Arbeit als erster Referent zu begutachten und in seiner Reihe "Science for Systems" zu veröffentlichen.

Weiter möchte ich Prof. Dr. Gerald Urban für das Interesse an der Arbeit seit meinem Vortrag beim 7. Deutschen Biosensor Symposium in Heilbad Heiligenstadt und die anschließende Bereitschaft, die Arbeit als Koreferent zu begutachten, danken.

Ein ganz besonderer Dank gilt PD Dr.-Ing. habil. Volker Cimalla, in dessen Arbeitsgruppe Mikrosensoren die Arbeit angefertigt wurde. Das mir entgegengebrachte Vertrauen, große Teile der Arbeit sehr selbständig anfertigen zu können, in Verbindung mit seiner bei Fragen und Problemen jederzeit offenen Tür haben nicht nur diese Arbeit, sondern auch meinen persönlichen Arbeitsstil reifen lassen. Auch sein enormes Fachwissen aufgrund seiner wissenschaftlichen Vorarbeiten auf dem Thema sowie seine unaufgeregte Art, die eine wichtige Grundlage für das positive Arbeitsklima in der Gruppe darstellt, waren eine große Hilfe.

Vielen Dank auch an meine Kollegen aus der Arbeitsgruppe, Abteilung und dem gesamten Institut, die kleine und große Beiträge zum Gelingen der Arbeit geleistet haben:

- Dr. Stefanie Linkohr für die Einführung in die Materie und Hilfe bei verschiedenen Experimenten
- Björn Christian, Srinivasan Ashwyn Srinivasan, Johannes Anzt und Nayeli Espinosa für die Hilfe bei der Durchführung und Auswertung der Experimente
- Stefan Müller und die Abteilung Epitaxie für die Epitaxie der Heterostrukturen
- Dr. Wilfried Pletschen, Brian Raynor und der Abteilung III/V-Technologie für die Unterstützung beim Sensor- und Prozessdesign sowie für die Prozessierung der Sensoren
- Dr. Susanne Kopta, Stefan Müller und Dr. René Hoffmann für die Hilfe bei der Rasterkraftmikroskopie

- Sascha Klingelmeier, Peter Meisen und das Team der Abteilung Technische Dienste für die Hilfe beim Aufbau des Messplatzes und der Einrichtung des Sensorlabors
- die Kollegen aus IT und Verwaltung für die schnelle und zuverlässige Hilfe bei vielen kleinen Herausforderungen im Institutsalltag von A wie Administratorrechte bis Z wie Zollabfertigung
- meine Bürokolleginnen und -kollegen, insbesondere Dr. Stefanie Linkohr, Dr. Claus-Christian Röhlig und Nicola Heidrich, für die gute Zusammenarbeit, Freundschaft und die gemeinsamen Mittagspausen

Danke auch an die Arbeitsgruppen außerhalb des Fraunhofer IAF, die durch ihre sachund fachliche Hilfe sowie gemeinsame Experimente wichtige Beiträge zu dieser Arbeit geliefert haben:

- die Forschergruppe Oberflächenphysik funktioneller Nanostrukturen am Institut für Mikro- und Nanotechnologien MacroNano[®] der Technischen Universität IImenau, insbesondere PD Dr. Stefan Krischok, Dr. Marcel Himmerlich, Dr. Pierre Lorenz und Georg Eichapfel, für die Durchführung der röntgenphotoelektronischen Untersuchungen und die Hilfestellung bei der Auswertung
- Dr. Takako Nakamura vom National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (Tsukuba, Japan) für die Bereitstellung des Funktionalisierungsmoleküls TFAAD
- die Microelectronics Research Group der School of Electrical, Electronic and Computer Engineering der University of Western Australia (Crawley, Australien), insbesondere Prof. Dr. Brett Nener und Anna Podolska, für die gemeinsame Arbeit bei der Proteindetektion und die Möglichkeit, vor Ort in der Arbeitsgruppe mitzuarbeiten.
- die Forschungsgruppe Reinheckel am Institut f
 ür Molekulare Medizin und Zellforschung der Albert-Ludwigs-Universit
 ät Freiburg, insbesondere PD Dr. Thomas Reinheckel und Anja Faulhaber, f
 ür das Überlassen der Zellkulturmedien f
 ür die Proteindetektion

Ein besonderer Dank geht an die Fraunhofer Gesellschaft für die Finanzierung des "Attract"-Projekts "Sensoren für die Biomedizin und die Sicherheitstechnik – Hochsensitive, selektive elektronische Flüssigkeits-Sensoren mit integrierten Lichtemittern" und die Deutsche Forschungsgemeinschaft für die Finanzierung der Projekte "GaBios: GaN-based nanostructures for new generation of BIO-molecular Sensors" und "Tuning of the thermoelectric properties of $In_xM_{2-x}O_3$ -nanoparticles", die die finanzielle Grundlage für die Forschungstätigkeit sicherten; sowie an den Deutschen Akademischen Auslandsdienst für die Finanzierung des Projekts "AlGaN-PCD-BioLab", das mir den Forschungsaufenthalt an der University of Western Australia ermöglichte.

Last but not least gilt mein Dank auch meiner Familie, meinen Freunden und WG- und Hausmitbewohnern dafür, dass sie immer an mich geglaubt, mir den Rücken frei gehalten und mir darüber hinaus immer wieder gezeigt haben, dass es im Leben neben der Forschung noch andere Dinge gibt.

Herausgeber: Prof. Dr. Oliver Ambacher

Labelfreie Affinitätsbiosensoren auf ISFET-Basis sind eine vielversprechende Technologie für die Herstellung neuartiger Point-of-Care Biomoleküldetektoren. In dieser Dissertation werden zwei bei der Verwendung derartiger Detektoren in der Praxis auftretenden Herausforderungen am Beispiel von AlGaN/GaN-HEMTs mit offenem Gate behandelt. Zunächst wird die Funktionalisierung der Oberfläche mit biologischen Sonden, die für die Herstellung und Stabilität der Bauteile von elementarer Bedeutung ist, durch die Charakterisierung von photochemischen und thermischen Funktionalisierungsprozessen für GaN-Oberflächen näher betrachtet. Im zweiten Teil werden die so hergestellten Chips mit verschiedenen Messprinzipien charakterisiert; dabei wird ein neuartiges, dynamisches Messprinzip eingeführt, das sich die eingeschränkt bewegliche Anbindung der Sonden durch die gewählte Funktionalisierungschemie zu Nutze macht und deshalb deutlich reduzierte Querempfindlichkeiten aufweist.

