

Ladungstransport durch DNA

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Fakultät für Physik
der Universität Bielefeld

vorgelegt von

Hermann Kleine

aus Bielefeld

Universität Bielefeld
Fakultät für Physik

24. November 2004

Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig verfasst habe und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

Bielefeld, 24. November 2004

(Hermann Kleine)

Gutachter

Prof. Dr. Dario Anselmetti
Prof. Dr. Günter Reiss

Datum des Einreichens der Arbeit 24. November 2004

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	7
2	Grundlagen	9
2.1	DNA	9
2.1.1	Aufbau der DNA	9
2.1.2	Strukturformen der DNA	11
2.1.3	λ -DNA	13
2.1.4	Poly(dC) - Poly(dG) und Poly(dT) - Poly(dA)	14
2.1.5	Hydratation der DNA	15
2.1.6	Ladungseinfang durch Wasser	19
2.1.7	DNA-Kristalle	19
2.2	Theorie	20
2.2.1	Bandstruktur von DNA	22
2.2.2	Metallische Leitfähigkeit	24
2.2.3	Halbleiter	26
2.2.4	Leitfähigkeit von 1-dimensionalen Leitern	28
2.2.5	Kontaktwiderstände	29
2.2.6	Marcus-Jortner-Beziehung für einstufigen Ladungstransport	30
2.2.7	Superaustausch-Ladungstransfer für DNA	33
2.2.8	Hopping	35
2.2.9	DNA als Isolator	40
2.3	Vergleich mit Experimenten anderer Gruppen	42
2.3.1	Chemische Experimente zum Ladungstransport durch DNA	43
2.3.2	Biologische Experimente zum Ladungstransport durch DNA	45

2.3.3	Physikalische Experimente zum Ladungstransport durch DNA	50
3	Material und Methoden	63
3.1	Das Rasterkraftmikroskop	63
3.1.1	Aufbau	63
3.1.2	Messfunktionen	64
3.1.3	Artefakte	67
3.2	Aufbau der Messapparatur	71
3.3	Strukturierung	72
3.3.1	Photolacke	72
3.3.2	Belichtung	75
3.3.3	Beschichtung von Proben	75
3.3.4	Herstellung der Metall-Isolator-Metall-Strukturn	77
3.4	Immobilisierung der DNA	79
3.4.1	Substrat	79
3.4.2	Beschreibung und Funktionalisierung von Oberflächen	81
3.4.3	Puffer	93
3.4.4	Immobilisierungstechniken	94
4	Resultate und Diskussion	101
4.1	Immobilisierung von DNA auf Oberflächen	101
4.1.1	Immobilisierung auf Glas und Glimmer	101
4.1.2	Immobilisierung von DNA zwischen Elektroden	108
4.2	Strom-Spannungs-Messungen an DNA	111
4.2.1	Bewertung der Strom-Spannungs-Kennlinien	111
4.2.2	Strommessung durch kontaktierte DNA-Moleküle	116
4.2.3	Strommessung bei definierten Luftfechtigkeiten	121
4.3	Leitfähigkeitsmessungen mit dem AFM	123
4.3.1	Aufbau	123
4.3.2	Durchführung und Ergebnisse	124
4.3.3	Festkörperleitfähigkeit	125
4.3.4	Vergleich mit Experimenten anderer Gruppen	126
4.4	Diskussion der Ergebnisse	129
4.5	Polythiophen	130
4.5.1	Immobilisierung von P3OT	132
4.5.2	Dotieren von P3OT	132
4.5.3	Experimenteller Aufbau	133

<i>INHALTSVERZEICHNIS</i>	5
4.5.4 UV-VIS Spektren von P3OT	133
4.5.5 Strom-Spannungs-Messungen an P3OT	135
4.5.6 Deutung der Ergebnisse	136
5 Zusammenfassung und Ausblick	139
Literaturverzeichnis	142
Veröffentlichungen	155
Danksagung	157

Kapitel 1

Einleitung

Die Transport- und Leitungsmechanismen von Elektronen und Ladungen sind für viele biologische Prozesse von fundamentaler Bedeutung. Ein Beispiel für Elektronentransport ist die Photosynthese, bei der Sonnenlicht benutzt wird, um aus Wasser und CO₂ Glucose zu synthetisieren [1-2].

Nach der Entdeckung der Doppelhelixstruktur der DNA (Deoxyribonucleic Acid; Desoxyribonukleinsäure) durch Watson und Crick 1953 [3] gab es bereits 1962 den ersten Versuch zur Messung der Leitfähigkeit von DNA [4], wo vermutet wurde, dass der Strom durch den Wassermantel der DNA geführt wurde. Die nächsten bedeutenden Arbeiten auf diesem Gebiet waren 1998 von den Arbeitsgruppen um Jacqueline Barton [5-10] und Bernd Giese [11-13], die kleine DNA-Fragmente mit einem Donor und einem Akzeptor dotierten. Auf dem Donor konnten sich Ladungen durch den Photoeffekt bilden und auf andere Basen durch einen Hopping- oder Tunnelmechanismus weiterbewegen. Um zu klären, ob man die nur 2,3 nm dicke DNA als Nanodraht verwenden kann, gab es kurz darauf die ersten Messungen für den langreichweitigen Ladungstransport mit unterschiedlichen Ergebnissen. Hans-Werner Fink und Christian Schöneberger [14] fanden einen endlichen Widerstand in DNA-Bündeln, während C. Gomez-Navarro *et al.* [15] keinen Strom oberhalb 1 pA durch einzelne λ -DNA-Moleküle nachweisen konnten.

Wenn DNA ein Leiter wäre, könnte ein potentiell Einsatzgebiet die Mikroelektronik sein, die nach immer kleineren Bauelementen und Strukturen strebt. Dieses führt dazu, dass quantenmechanische Effekte, wie beispielsweise die Lokalisation von Ladung durch Kapazitäten, an Einfluss auf die Messung gewinnen. Für die Herstellung von zukünftigen Nano-Strukturen

werden zwei Ansätze verfolgt. Zum einen die top-down Anwendungen, bei denen, wie heute üblich, Strukturen durch Belichtungsprozesse in eine Funktionsschicht geschrieben werden. Biologische Systeme können sich hingegen bei gegebenen Umgebungseinflüssen zu bestimmten Strukturen selbst organisieren. Selbstorganisation ist ein wesentlicher Bestandteil des bottom-up - Ansatz, bei dem beispielsweise kostengünstige funktionelle molekulare Bausteine hergestellt werden, die zu übergeordneten Funktionseinheiten zusammengefügt werden können [16-17].

Für den Fall, dass DNA eine messbare intrinsische Leitfähigkeit aufweist, könnten biotechnologische Biosensoren entwickelt werden mit denen das Bindungsverhalten, beispielsweise von Medikamenten, Proteinen oder Nukleinsäuren, an bestimmte DNA-Sequenzen zeitaufgelöst untersucht werden kann [18-19]. Zudem vermuten Biologen, dass der Ladungstransport eine wichtige Rolle bei der Ableitung von Radikal-Ionen, Erkennung und Reparatur von defekten DNA-Sequenzen hat [20-21].

Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung der intrinsischen Leitfähigkeit von einzelnen Polymermolekülen: doppelsträngige DNA und Polythiophen. DNA-Moleküle wurden über mikrostrukturierte Metall-Isolator-Metall-Strukturen gestreckt und sowohl unter normalen Laborbedingungen als auch unter kontrollierten Umgebungsatmosphären (Argon, Vakuum, Stickstoff/ Wasserdampf-Gemisch) untersucht. Die Messungen wurden an synthetischen DNA-Molekülen definierter Sequenz (Poly(dG)-Poly(dC), Poly(dA)-Poly(dT)) und λ -DNA durchgeführt. Neben Messungen an einzelnen Molekülen wurden auch DNA-Netzwerke auf Leitfähigkeit untersucht.

An Polythiophen wurden Strom-Spannungsmessungen in Abhängigkeit von der Temperatur und optisch-spektroskopische Messungen durchgeführt. P3OT (Poly(3-octylthiophen-2,5-diyl)) ist ein leitfähiges organisches Polymer, dessen chemische und physikalische Eigenschaften durch Dotieren mit Goldtrichlorid verändert werden können.

Kapitel 2

Grundlagen

2.1 DNA

2.1.1 Aufbau der DNA

DNA (Deoxyribonucleic Acid; Desoxyribonukleinsäure) ist ein lineares Polymer, das aus zwei Einzelsträngen (ssDNA) zu einem Doppelstrang (dsDNA) zusammengesetzt ist, die sich rechtshändig um eine gemeinsame Achse winden. Ein Einzelstrang besitzt ein Rückgrat aus sich wiederholenden Zucker-Phosphat Einheiten (siehe Abbildung 2.1 (a)). An jeder Zuckereinheit (Desoxyribose) ist eine der vier Basen Adenin (A), Cytosin (C), Guanin (G) oder Thymin (T) angehängt. Diese beiden Einzelstränge setzen sich so zusammen, dass die Zucker-Phosphat Einheiten (siehe Abbildung 2.1 (b)) immer außen und die Basen immer innen liegen. Über Wasserstoffbrücken sind die gegenüber liegenden Basen der beiden Einzelstränge zu einem spezifischen Basenpaar, Guanin mit Cytosin (drei Wasserstoffbindungen) und Adenin mit Thymin (zwei Wasserstoffbindungen), so gebunden, dass sie fast senkrecht zur Helixachse stehen (siehe Abbildung 2.1 (c)). Die beiden Einzelstränge sind also in einem doppelsträngigen DNA-Molekül zueinander komplementär und zeigen eine antiparallele Anordnung. Beide Basenpaare besitzen in etwa die gleiche Größe und Form, so dass alle Basenpaarsequenzen möglich sind.

Die exakte Reihenfolge der einzelner Basen in der DNA wird als Sequenz bezeichnet. In der Basensequenz steckt die genetische Information, die für physiologische und biochemische Charakteristika fast aller lebender Organismen verantwortlich ist. λ -DNA (siehe Kapitel 2.1.3) besitzt beispielsweise

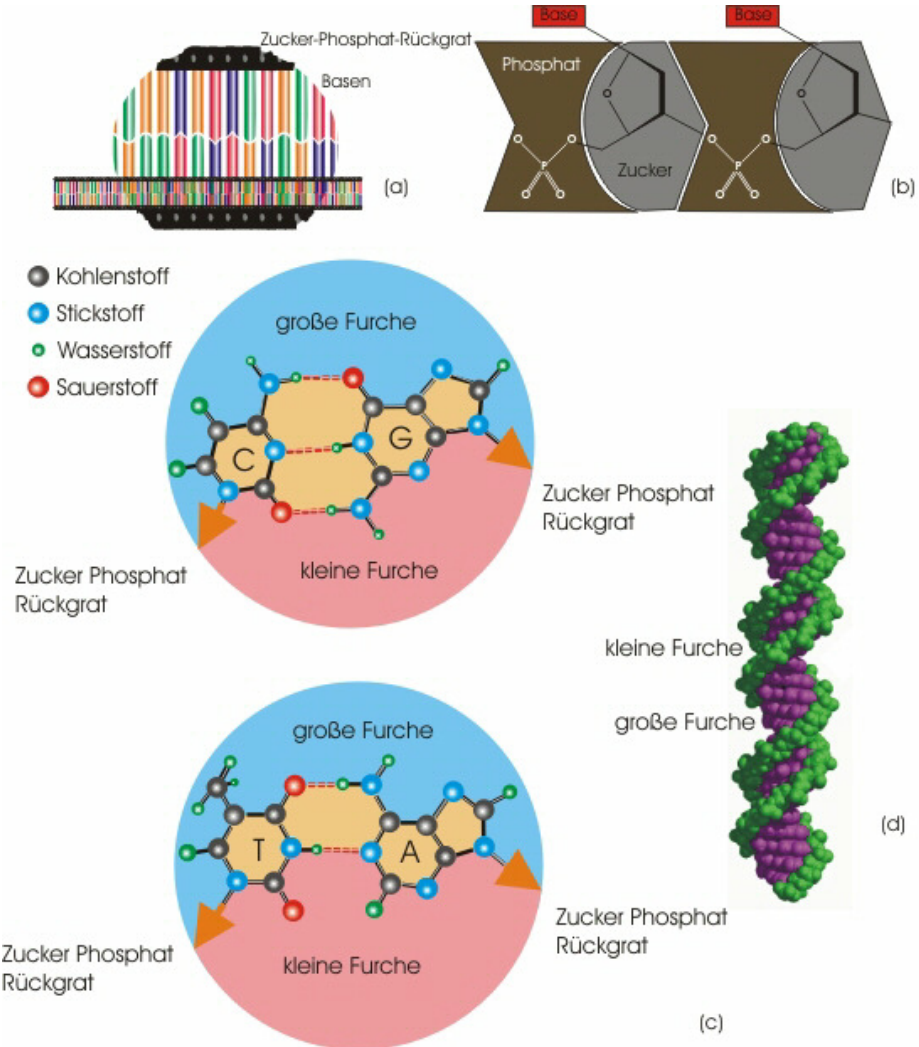


Abbildung 2.1: Schematische Darstellung der DNA. (a) Nicht verdrehte DNA, bei der die Basenpaare im rechten Winkel am Zucker-Phosphat-Rückgrats gebunden sind. (b) Aufbau des Zucker Phosphat Rückgrats. (c) Aufbau der spezifischen Basenpaare. (d) DNA-Helix mit der großen und der kleinen Furche [2].

4,6 Millionen Basenpaare, was einer Datenmenge von ca. 1,15 MBytes entspricht (der Mensch besitzt ein Genom von 3×10^9 Nucleotiden, das auf 23 unterschiedlich große Chromosomen verteilt ist). Die Wasserstoffbrücken der spezifischen Basenpaare lassen sich in biologischen Systemen reversibel lösen, was wichtig für die Vervielfältigung der Erbinformation ist [2].

Der Abstand zwischen zwei Basenpaaren in der Doppelhelix beträgt 0,34 nm, wobei die beiden Basen rund 36° gegeneinander verdreht sind und einen Durchmesser von ca. 2,37 nm haben. Die DNA ist allerdings kein starres Molekül, so ist beispielsweise die Verdrehung der beiden Basenpaare von der Basensequenz abhängig und liegt zwischen 28° und 42° . Auch die beiden zusammenhängenden Basen können gegeneinander wie bei einem Propeller verdreht werden (Propeller twisting). Durch van-der-Waals-Kräfte wechselwirken die benachbarten Basen zusätzlich, was zu einer weiteren Stabilisierung der DNA führt. Die hohe negative Ladung der Phosphatgruppen des Rückgrats unter physiologischen Bedingungen wird durch Gegenionen, die sich am Rückgrat anlagern, abgeschirmt. In Abhängigkeit der Ionenstärke ändert die DNA in einer Salzlösung ihre Konformation. der DNA in Abhängigkeit von der Salzkonzentration. Bei einer hohen Salzkonzentration neigt die DNA dazu dicht gepackt zu sein. Bei einer niedrigen Salzkonzentration ist sie dagegen eher gestreckt [2]. In elektrischen Feldern, wie sie beispielsweise in der Nähe von Zellmembranoberflächen vorkommen, kann die DNA-Struktur von der B-Konformation (Siehe Kapitel 2.1.2) in eine entwundene offene Struktur übergehen [22-24].

Die DNA besitzt zwei Vertiefungen, welche man als große und kleine Furche bezeichnet. Diese entstehen dadurch, dass sich die glykosidischen Bindungen, über die die Basenpaare mit dem Zucker verbunden sind, nicht diametral gegenüber stehen (siehe Abbildung 2.1 (c) und (d)). In der B-Form ist die kleine Furche rund 0,6 nm breit und 0,75 nm tief, die große Furche ist ca. 1,2 nm breit und 0,85 nm tief [2].

2.1.2 Strukturformen der DNA

Unter physiologischen Bedingungen liegt die DNA in der B-Konformation (B-DNA, Watson-Crick-DNA) vor, in der sie vollständig hydratisiert ist. Sinkt die relative Feuchtigkeit in der Umgebung unter 75% so geht die Struktur in die A-Konformation über. Bei dieser ist die DNA kürzer und die Basen sind stärker gegen die Helixachse geneigt. Die DNA ist in der A-Form wesentlich

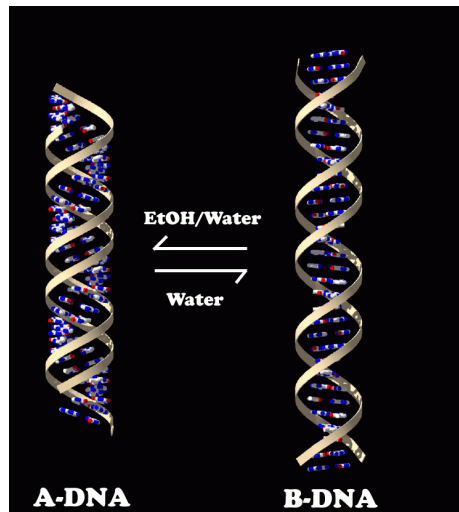


Abbildung 2.2: Durch Einstellen der Feuchtigkeit kann man die Konformation der DNA beeinflussen. Durch Erhöhung des Ethanolanteils in der Lösung, in der sich die DNA befindet, geht die B-DNA in eine A-DNA über.

gedrungener und hat mit 0,28 nm pro Basenpaar eine geringere Steigung der Helix pro Basenpaar (siehe Abbildung 2.3).

	A-Konformation	B-Konformation
Windung	rechts	rechts
Durchmesser	2,55 nm	2,37 nm
Basenpaare pro Windung	11	10
Windung pro Basenpaar	33,6°	35,9°
Basenneigung zur Achse	19°	-1,2°
Propellertwist	18°	16°

Tabelle 1: Strukturdaten zu den verschiedenen Konformationsmöglichkeiten von dsDNA [2].

Zieht man an B-DNA mit Kräften von 40 - 70 pN je nach G-C-Gehalt, verhält sie sich wie eine elastische Feder [25]. Bei höheren Kräften kommt es zu Phasenübergängen in der DNA [26-27]. Bevor die DNA anfängt zu schmelzen geht sie in die S-DNA (stretched-DNA; siehe Abbildung 2.4) über. In dieser Konformation wird die DNA so entwunden, dass sie einer leicht

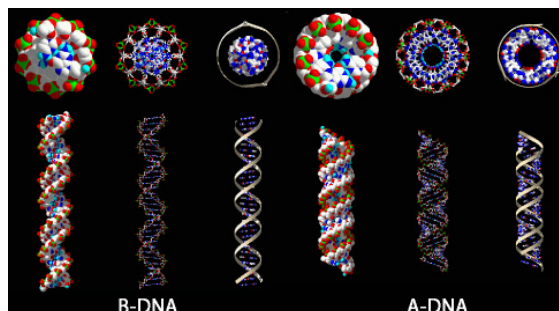


Abbildung 2.3: Unterschied zwischen A-DNA und B-DNA, siehe Text.

verdrillten Leiter ähnelt. Sie kann in dieser Konformation bis zu 170 % der ursprünglichen Konturlänge der B-DNA erreichen [26-28]. In einer Kraft-Distanz-Kurve ist die S-Form deutlich anhand eines Plateaus erkennbar, das zwischen 40-80 pN, je nach Sequenz, liegt. Der Übergang von der B-DNA in die S-DNA ist reversibel. Häufig ist es für die DNA energetisch günstiger wenn sie im Rückgrat früh reißt und dabei in großen Domänen verdrillt bleibt [29-30].

Bei Kräften > 100 pN wird die DNA um mehr als das Zweifache ihrer Länge gestreckt und kann zu zwei ssDNA-Molekülen schmelzen [29]. Bei G-C reichen Sequenzen (3 Wasserstoffbrücken) kommt es erst bei höheren Kräften zum Schmelzen als bei A-T reichen Sequenzen (2 Wasserstoffbrücken) [31].

2.1.3 λ -DNA

λ -DNA ist das Genom des λ -Bakteriophagen, der *Escherichia coli* befällt. Sie besitzt 4,6 Millionen Basenpaare und besitzt eine Kontourlänge von 16,2 μm lang. λ -Phagen können entweder die Wirtszelle zerstören oder ihre DNA in das Bakteriengenom integrieren. Im lytischen Zyklus werden mit Hilfe von Proteinen der Zelle schnell ca. 100 neue virale DNA-Stränge erzeugt und zu neuen Viruspartikeln verpackt bis die Zelle platzt und die neuen Viruspartikel freigesetzt werden. Beim lysogenen Zyklus dringt die λ -DNA in das Genom der Wirtszelle ein und wird so lange repliziert bis sie aktiviert wird. Dafür benutzt λ -DNA überhängende Einzelstränge an den 5'-Enden, die als cos-Stellen bezeichnet werden. Diese cos-Stellen werden auch als Klonierungsvektoren benutzt, um Erbinformation in fremde DNA einzubauen.

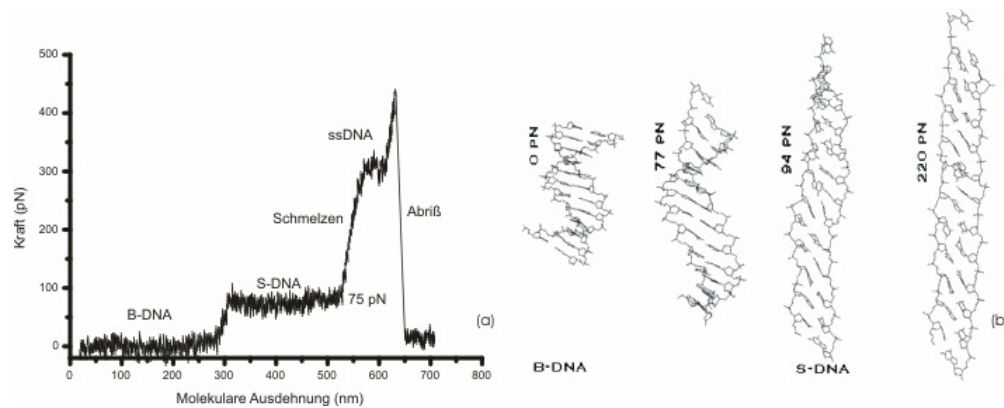


Abbildung 2.4: (a) Kraft-Distanz-Kurve für eine Poly(dC) - Poly(dG) DNA, die mit einer AFM Spitze gestreckt wurde. Zuerst befindet sich die DNA in der B-Konformation, in der sie mit leichtem Kraftaufwand entwunden wird. Im Bereich von 30 pN bis 50 pN befindet sich die DNA im entropischen Bereich, in dem sie sich wie eine elastische Feder verhält. Im anschließenden Plateau ist DNA in der S-Konformation. Zum Schluss zerreißt die DNA und wird nur noch als Einzelstrang gezogen [29]. (b) Schematische Darstellung von DNA, die bei verschiedenen Kräften bestimmte Konformationen einnimmt [29].

Das Verhältnis zwischen Adenin und Guanin in λ -DNA liegt bei ca. 1:1,05 [2].

2.1.4 Poly(dC) - Poly(dG) und Poly(dT) - Poly(dA)

DNA-Moleküle, die nur aus einer Sorte der Basenpaare bestehen, bezeichnet man als Poly(dC)-Poly(dG)-dsDNA bzw. als Poly(dT)-Poly(dA)-dsDNA. Diese Moleküle werden synthetisch hergestellt und kommen so in der Natur nicht vor, da sie verglichen mit natürlichen DNA-Strängen relativ instabil sind. Die in dieser Arbeit benutzte Poly(dC)-Poly(dG)-dsDNA (Amersham Pharmacia Biotech, USA) ist durchschnittlich 920 Basenpaare lang, was einer Länge von ca. 310 nm entspricht. Poly(dT)-Poly(dA)-dsDNA ist durchschnittlich 1500 Basenpaare lang, also 510 nm. Poly(dC)-Poly(dG)-dsDNA soll aufgrund ihrer elektronischen Struktur die beste Leitfähigkeit aufweisen.

2.1.5 Hydratation der DNA

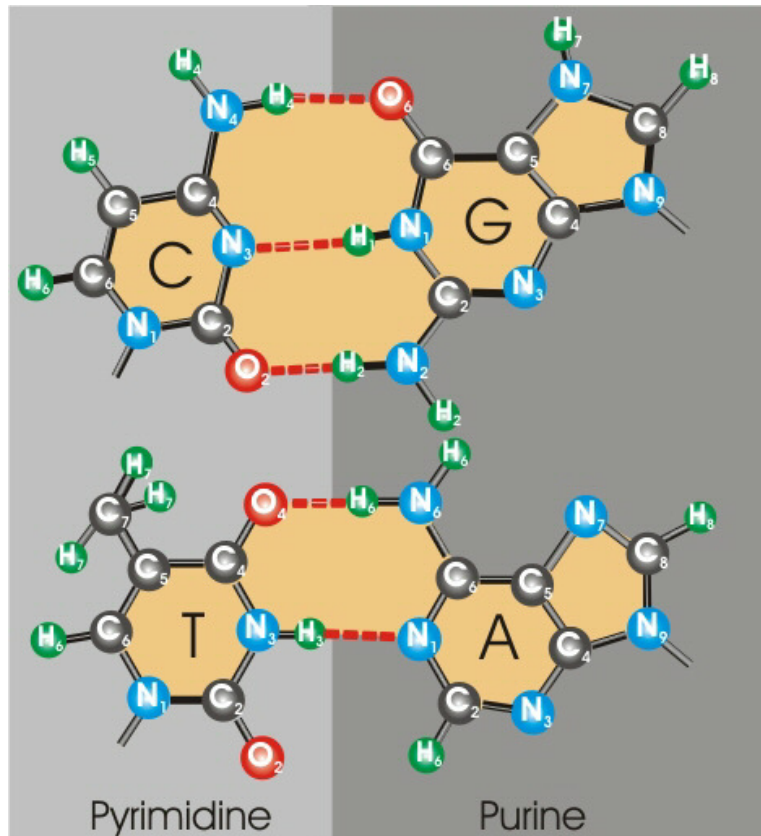


Abbildung 2.5: Bezeichnung der Atome bei den Basenpaaren.

Durch seine Polarität ist Wasser (Dipolmoment 81 Debye) ein gutes Lösungsmittel für polare Moleküle, da Wasser um dessen Bindungen konkurriert und so die Bindungskräfte schwächt. Wassermoleküle bilden um DNA verschiedene Mantelschichten unterschiedlicher Dichte und Struktur. In diesen Mantelschichten sind die Wassermoleküle höher geordnet als im Bulkwasser¹, weshalb die Entropie des Wassers erniedrigt wird. Die gesamte Entropie ist also größer bei ungestreckten DNA-Molekülen, da es mehr freie ungeordnete

¹Mit Bulkwasser sind die Moleküle gemeint die nur untereinander, nicht aber mit fremden Molekülen, wechselwirken.

Wassermoleküle gibt. Die spontane Faltung von Makromolekülen ist entropiegetrieben, weil sie größtenteils auf der Freisetzung von Wasser beruht, was auch als hydrophober Effekt bezeichnet wird.

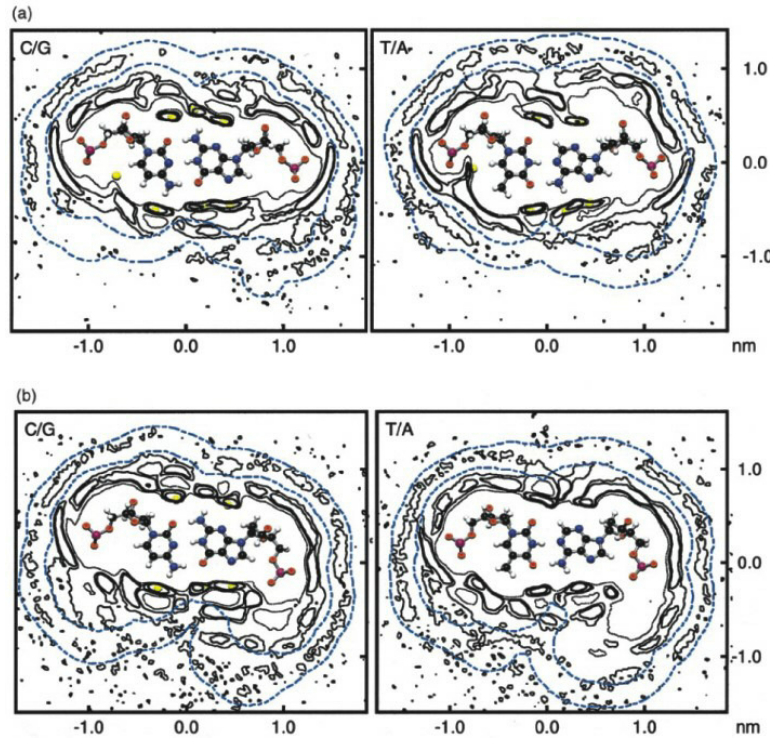


Abbildung 2.6: Querschnitt der Dichte des Wassermantels um die Basenpaare in einem DNA-Molekül. (a) B-Konformation; (b) A-Konformation [38].

In der großen und in der kleinen Furche liegen potenzielle Donor- und Akzeptorstellen für Wasserstoffbrücken, die spezifische Wechselwirkungen mit Proteinen oder Wasser eingehen können. In der kleinen Furche können das N-3 eines Purins (Adenins, Guanin) sowie das O-2 eines Pyrimidins (Thymin, Cytosin) als Wasserstoffakzeptoren dienen. Die Aminogruppe am C-2 von Guanin kann ein Wasserstoffdonor sein. In der großen Furche liegen das N-7 des Guanin und Adenin als ein potenzieller Akzeptor sowie das O-4 des Thymin und das O-6 des Guanin. Die Aminogruppen am C-6 des Adenin um am C-4 des Cytosin können als Wasserstoffdonoren dienen (siehe Abbildung 2.5). Da die große Furche mehr Merkmale zur Unterscheidung

eines Basenpaares aufweist und außerdem größer und besser zugänglich ist als die kleine Furche ist sie für Wechselwirkungen und spezifische Bindung mit Proteinen wichtiger [2]. Grundsätzlich ist die große Furche immer stärker hydratisiert als die kleine Furche [31-32]. Wie sich genau das Wasser an die DNA bindet, beispielsweise als Mantel oder als immobilierter Wasserblock, ist experimentell schwer nachzuweisen, da das Wasser für Untersuchungen durch Röntgenbeugung zu schwach an die DNA gebunden ist und für Kernspinresonanzuntersuchungen (NMR) zu dynamisch ist [33]. Die Bindung von Wassermolekülen an die Basenpaare ist weitaus besser untersucht als für die Bindungen an das Phosphat-Zucker-Rückgrat [32-33].

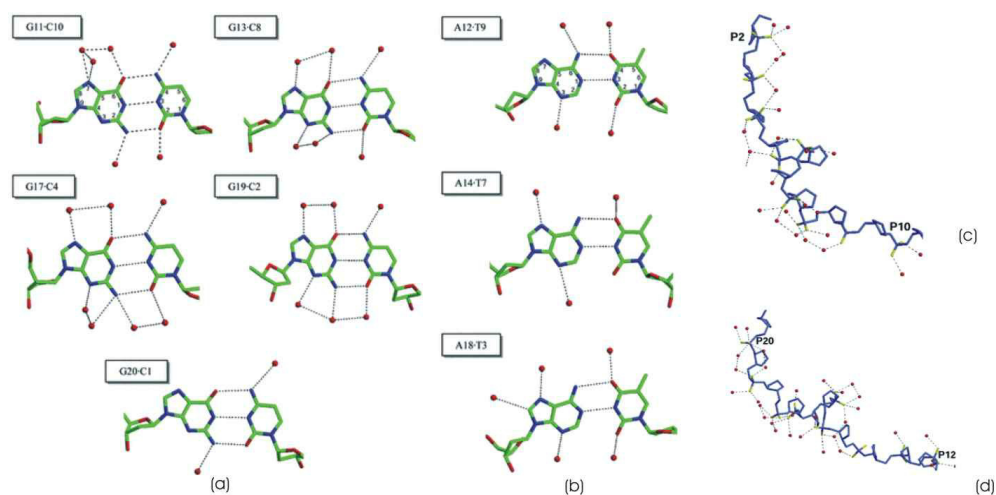


Abbildung 2.7: Verschiedene Basenpaare für eine d(C1C2T3C4G5C6T7C8T9C10)-d(G11A12G13A14G15C16G17A18G19G20) B-DNA, für welche die gebundenen Wassermoleküle (rot) berechnet wurden. Kohlenstoff-Atome sind grün, Stickstoff-Atome blau und Sauerstoff-Atome rot eingezeichnet. (a) G-C-Basenpaare, (b) A-T-Basenpaare [34]. (c) Berechnete Hydratation von Wassermolekülen (rot) an die Zucker-Phosphat-Rückgratstruktur (blau) einer d(C1C2T3C4G5C6T7C8T9C10)-d(G11A12G13A14G15C16G17A18G19G20) B-DNA [34]. (d) Berechnete Wasserdichte um ein A-T-Basenpaar [47].

Das negativ geladene Rückgrat der DNA wird durch einen Wassermantel stabilisiert, der stark von dem Wassergehalt der Umgebung abhängt. So kann

ein Sauerstoffatom vom Phosphat 5 bis 6 Wassermoleküle bei einer Luftfeuchtigkeit von 65 % binden, bei einer Feuchtigkeit von 80 % dagegen 20 Moleküle. Die DNA Konformation hängt auch stark vom Wassergehalt der Umgebung ab, so kann die B-Konformation nur bei einem hohen Wassergehalt der Umgebung existieren. Für die B-Konformation sind 18-19 Wassermoleküle pro Basenpaar, für die A-Konformation nur 13 bis 15 Moleküle nötig. Bei einer Luftfeuchtigkeit von 0% binden an einem Basenpaar 5-6 Wassermoleküle. G-C-Basenpaare haben mit Wasser eine stärkere Wechselwirkung als A-T-Basenpaare, da sie eine Wasserstoffbrücke mehr absättigen [35].

Bei geringer Feuchtigkeit findet an der DNA keine Diffusion mit dem Bulkwasser statt, und das Wasser ist stark am Rückgrat lokalisiert. Wasser wird zuerst an der kleinen Furche abgebaut, weil es dort schwächer gebunden wird als am Rückgrat [33,35-37].

Die Wassermoleküle, die an die DNA binden, besitzen andere physikalische Eigenschaften als im Bulkwasser. So ist für an DNA gebundene Wassermoleküle die Mobilität im Bulkwasser größer (die mobilsten Wassermoleküle befinden sich im Rückgrat [33]), die Dichte ist größer, die Kompressibilität kleiner [40] und das Wasser verliert seine Tetraederstruktur. Wie stark eine DNA hydratisiert wird, hängt auch von den Basen und der Basensequenz ab (siehe Abbildung 2.7). Die geringste Hydratation liegt bei 55 % bis 60 %. Erhöht man den Anteil eines Basenpaars so steigt die Hydratation. Allerdings ist die Erhöhung der Bindung von Wasser an die DNA nicht anteilig an ein bestimmtes Basenpaar gebunden sondern von der Sequenz abhängig, da die funktionellen Gruppen der DNA miteinander in Wechselwirkung treten können. So gibt es etwa Unterschiede bei der Hydratation von N6 und N7 in verschiedenen Sequenzen [32-33,36-37,41-42]. Auch die Größe der Furchen hängt von der Basensequenz ab, wodurch sich nicht nur die Anzahl der Wassermoleküle in der Furche verändert sondern auch deren Struktur. Dies ist beispielsweise für bestimmte Medikamente wichtig, die sich über die Wasserstruktur spezifisch an die DNA binden [42]. Bei sehr engen Furchen kommt es zu Wechselwirkung zwischen den Phosphatgruppen des Rückgrates [43]. Die größte Abhängigkeit von der Basensequenz findet man in der ersten Mantelschicht (durchschnittlich 29,1 H₂O-Moleküle) um die DNA, während es für die zweite (31 H₂O-Moleküle) und dritte Schicht weniger wichtig ist. Die verschiedenen Wasserschichten um die DNA stabilisieren sich untereinander. Allerdings ist über die Struktur der äußeren Mantelschichten fast

nichts bekannt, da die Wassermoleküle zu ungeordnet, mobil und zu schwach gebunden sind [43].

Lässt man immobilisierte DNA auf einem Substrat eintrocknen, so kann sie partiell entwunden werden oder zusammenfallen. Das bedeutet einen Verlust an Stabilität, da sie flach auf der Oberfläche liegt (siehe Abbildung 4.4 (b)) und die negativen Ladungen des Phosphatrückgrats nicht mehr so gut durch Gegenionen abgeschirmt werden können wie im nativen Zustand [22].

Bringt man DNA in ein elektrisches Feld, so wird in dem Mantel aus Wasser und Gegenionen, welche die negative Ladung des Rückgrats abschirmen, ein Dipol induziert. Mit Hilfe dieses Dipols kann man in einem homogenen elektrischen Feld DNA bewegen bzw. in einem inhomogenen Feld die DNA bewegen und strecken [48].

2.1.6 Ladungseinfang durch Wasser

Wasser, bzw. H_3O^+ und im Wasser gelöste einwertige Ionen wie beispielsweise Natriumionen binden sich an die nach außen zeigenden Wasserstoffbrücken der DNA, welche dann zu einem Strom beitragen können, wenn von außen elektrische Spannung an die DNA angelegt wird. Wird Ladung durch eine DNA geführt, kann diese bei Basensequenzen mit niedrigem Ionisationspotential (z. B. GG) länger gefangen werden. An diesen Stellen kann die Ladung mit dem Wasser aus der Umgebung wechselwirken und eingefangen werden. Das Verhältnis zwischen Transportrate und Einfangmechanismus liegt zwischen 10^{-3} für eine schnelle Reaktion mit dem Wasser und 10^{-5} für eine langsame Reaktion [44]. Will man also Ladungstransport durch DNA messen, so muss sich die Ladung schneller bewegen als sie vom Wasser eingefangen werden kann [11-13].

2.1.7 DNA-Kristalle

Wenn sich dsDNA-Moleküle weniger als 1 nm annähern, treten sie über die Wassermoleküle in Wechselwirkung, wobei die van-der-Waals Kraft noch vernachlässigt werden kann. Dicht gepackte DNA-Moleküle können so einen Kristall bilden, bei dem die DNA-Moleküle untereinander mit einer dünnen, stark geordneten und lokalisierten Wasserschicht verbunden sind [32,37]. Vor allem Cytosin-reiche Sequenzen können stark miteinander wechselwirken [45]. Für DNA in der B-Konformation gibt es über 15 verschiedene Möglichkeiten

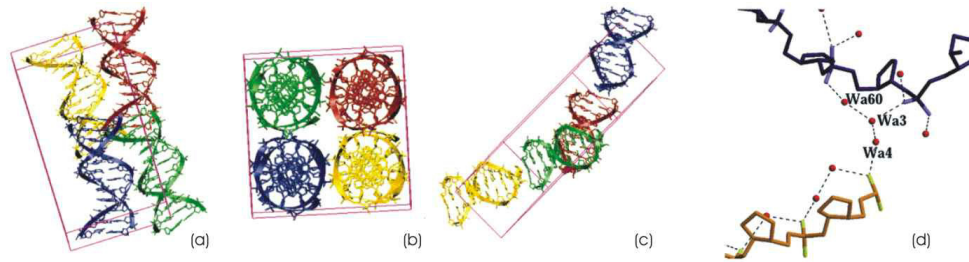


Abbildung 2.8: Verschiedene Möglichkeiten wie einzelne DNA-Sequenzen miteinander wechselwirken können; (a) kleine Furche - kleine Furche Wechselwirkung; (b) Rückgrat - Rückgrat Wechselwirkung; (c) Rückgrat - Furche Wechselwirkung [46]. (d) Zwei $d(C1C2T3C4G5C6T7C8T9C10) \cdot d(G11A12G13A14G15C16G17A18G19G20)$ B-DNA-Stränge, die durch Wassermoleküle verbunden sind [34].

einen Kristall zu bilden. Es gibt beispielsweise Rückgrat - Rückgrat, Rückgrat - Furche oder kleine Furche - kleine Furche Wechselwirkungen (siehe Abbildung 2.8) [46].

2.2 Theorie

Ob sich DNA wie ein Ohmscher Leiter, ein Halbleiter oder wie ein Isolator verhält, ist umstritten. Bei den ersten Überlegungen für den Ladungstransport durch DNA wurde 1962 eine π_Z - π_Z Wechselwirkung der benachbarten Basen vorgeschlagen (siehe Abbildung 2.9) [4]. Eley und Spivey, vermuteten, dass die bindenden und antibindenden π - und π^* - Orbitale eines Basenpaares, die 4 eV auseinanderliegen, durch starke Wechselwirkung mit den benachbarten Basen der Helix ihren energetischen Abstand so verringern, dass die DNA sich wie ein Halbleiter verhalten würde. Wären die Wechselwirkungen mit den benachbarten Basen so stark, dass die p -Orbitale überlappen können, würde man sogar eine metallische Leitfähigkeit finden [18]. Rechnungen zeigen, dass diese Superposition der Orbitale vor allem bei den C-N und C-C Bindungen stattfindet, wo die Ladungen hauptsächlich lokalisiert sind [17]. Experimente haben gezeigt, dass Ladungen nur über die Basen transportiert werden und nicht über den DNA-Rückgrat. Für den Ladungstransport durch DNA werden verschiedene Mechanismen, wie beispielsweise

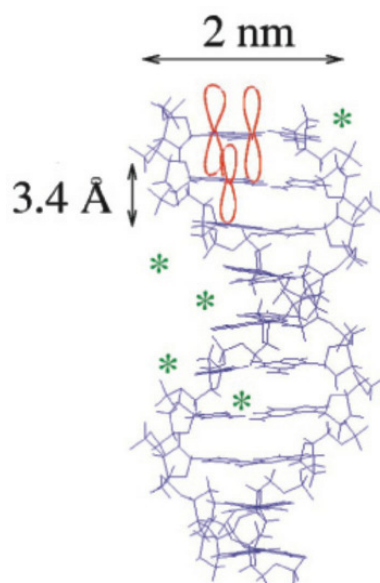


Abbildung 2.9: DNA Doppelhelix mit einigen π_z -Orbitalen und einigen positiven Gegenionen (Sterne), welche das negative Rückgrat abschirmen sollen [18].

Tunneln, "Singlestep Superexchange", Löcher Hopping oder phononenunterstütztes Polaronenhopping, diskutiert. Welcher der Transportmechanismen zum Tragen kommt, hängt dabei häufig von der Basenpaarsequenz der DNA oder ihrer Struktur ab [1,49].

Damit die Ladung beim Ladungstransport nicht eingefangen wird, darf das Ionisationspotential der beteiligten Basen, bzw. Basenpaare nicht zu weit auseinander liegen. Chen *et al.* [50] haben die Ionisationspotentiale für die Basen bzw. für die Basenpaare berechnet (Tabelle 2).

Adenine	Guanine	Thymine	Cytosine	C-G	A-T
7,9 eV	7,8 eV	9,2 eV	8,45 eV	7,32 eV	7,99 eV

Tabelle 2: Ionisationspotential der Basen und Basenpaare [50]

Dabei haben sie festgestellt, dass sich die Wasserstoffatome bei der Oxidation der Basenpaare wie bei einem Abakus bewegen. Durch Änderung der Geometrie können die ionisierten Basenpaare ihre Energie absenken und so eine

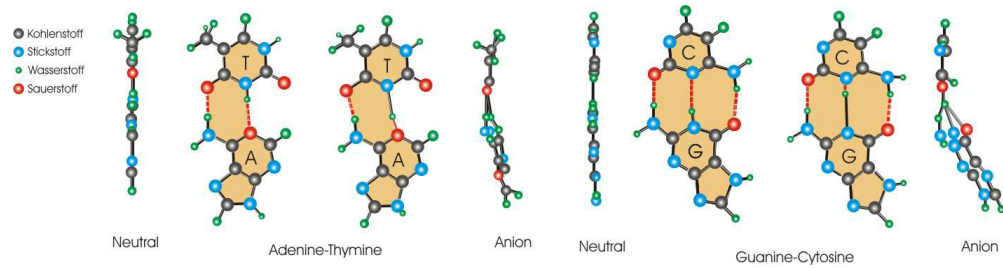


Abbildung 2.10: Durch Ionisation der Basenpaare ändert sich deren Geometrie und die Wasserstoffatome verändern ihre Position [51].

stabilere Form einnehmen, um auf diese Weise die Ladung zu kompensieren (siehe Abbildung 2.10). Für die Elektronenaffinität gilt für die Basen die Reihenfolge $G \gg A > T > C$ [50,52]. Da Guanin am einfachsten zu oxidieren ist, kommt es so zu einer Lochleitung. Allerdings hängt das Oxidationspotential und das Ionisationspotential einer Base stark von ihren nächsten Nachbarn ab. Meistens findet der Ladungstransport über den Hüpfmechanismus von Guanin zu Guanin statt. A-T Basen sind somit Potentialbarrieren, die überwunden werden müssen. Je mehr A-T Basenpaare zwischen den Guaninbasen sind, desto breiter ist der Potentialwall und desto unwahrscheinlicher ist der Ladungstransport. Befinden sich allerdings zu viele A-T Basenpaare zwischen den Guaninbasen, kann es vorkommen, dass Ladung auf A-T Basenpaaren lokalisiert wird.

2.2.1 Bandstruktur von DNA

Bei der Bindung von zwei Atomen erhält man zwei getrennte Energieniveaus. Addiert man weitere Atome, so erhält man Niveaus, die beim Übergang zu grossen Atomverbänden quasi kontinuierliche Bänder bilden. Die Breite der Bänder ist proportional zur Stärke der Wechselwirkung mit den Nachbaratomen. Durch Wechselwirkung der Leitungselektronen mit den Ionenrümpfen der Atome kommt es zu Bereichen, die für Elektronen verboten sind, wodurch Bandlücken entstehen können. Die elektrischen Eigenschaften eines Leiters werden durch die Bandkanten der Zustandsdichte beschrieben. Sind die erlaubten Energiebänder vollständig besetzt oder leer, so kann sich kein Elektron in einem \vec{E} -Feld bewegen, weshalb sich das Objekt wie ein Isolator verhält. Sind die Bänder nur teilweise besetzt, so können sich die Elektronen

in einem Feld frei bewegen und die Leitung ist metallisch. Wenn alle Bänder bis auf ein oder zwei fast vollständig besetzt oder leer sind und zwischen Valenz- und Leitungsband eine Energielücke von 1 eV bis 2 eV besteht, so spricht man von einem Halbleiter (siehe Abbildung 2.12).

Die Näherungsmethode, die von den Wellenfunktionen der freien Atome ausgeht, wird als LCAO (Linear Combination of Atomic Orbitals; Linearkombination von Atomzuständen) bezeichnet [53]. Um die Zustandsdichte und die Bandstruktur bei der DNA zu berechnen, wird meistens die LCAO-Methode angewandt.

Da die Basen der DNA keine regelmäßige Anordnung aufweisen, sondern aus physikalischer Sicht zufällig verteilt sind, ist die Wellenfunktion sehr stark lokalisiert. Blochleitung wäre also nur im periodisch aufgebauten Zucker-Phosphat-Rückgrat möglich. Eine periodische Verteilung von Basen erzeugt schmale Peaks gleicher Intensität in den elektrischen Zuständen. Eine unperiodischen Verteilung von Basen erzeugt breitere Peaks mit kleinen Energielücken, wodurch die Ladungen stärker lokalisiert sind [54-55].

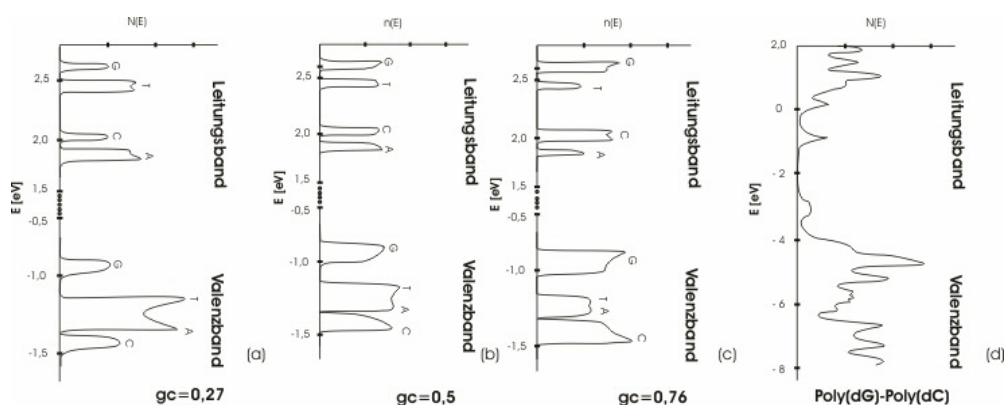


Abbildung 2.11: Beispiele für die Zustandsdichte von DNA-Molekülen mit verschiedenen Anteilen des Basenpaares Guanin - Cytosin; (a) $g-c = 0,27$ (b) $g-c = 0,5$ (c) $g-c = 0,76$ [55]. (d) Zustanddichte für ein einzelnes G-C-Basenpaar (oben) und einer Poly(dG)-Poly(dC)-DNA (unten) [56].

Takeda [55] berechnete die Bandstruktur einer DNA als eindimensionales Zufallspolymer, welche durch eine eindimensionale Wellenfunktion beschrieben

wird. In diesem quasi eindimensionalen System kommt es an den Bandkanten zu Singularitäten. Durch das Variieren der Anteile der Guanin - Cytosin Basenpaare (0,27; 0,5; 0,76) gegenüber der Adenin - Thymin Basenpaare entstehen unterschiedlich hohe und breite Peaks in der Zustandsverteilung des Valenz- und des Leitungsbands. In Abbildung 2.11 sieht man, dass in der Zustandsverteilung das Band, das durch die Guanin-Basen entsteht, im Valenzband immer isoliert ist und die höchste Energie hat. Durch Entfernen eines Elektrons aus dem Valenzband entsteht also immer ein Loch auf dem Guanin. Im Leitungsband hat Adenin immer die geringste Energie. Angeregte Elektronen werden durch den geringen Orbitalüberlapp der Basen stark auf dem Adenin lokalisiert, da keine Verbindung zu den anderen Bändern vorhanden ist. Maragakis *et al.* [57] finden für die Breite der verbotenen Zone E_g von Poly(CG)-Poly(CG)-dsDNA einen Wert von 2,1 eV. Andere Ergebnisse zeigen Werte von 1,8 eV bis 6,5 eV bzw. sogar 11,7 eV [58]. Je größer ein Basenanteil in einem Zufallspolymer ist, desto stärker werden angeregte Ladungen auf einer Base lokalisiert, wodurch das System instabil wird. Höhere Lebewesen schieben vermutlich DNA-Elemente ein, um ein ausgeglichenes Verhältnis zwischen den beiden Basenpaaren zu erhalten und können so ihre DNA stabilisieren [55].

Auch der Abstand der Basenpaare zueinander hat Einfluss auf die Bandlücke. Der Drehwinkel der Basen zueinander ist ebenfalls von Bedeutung, denn auch größere Drehwinkel verkleinern den Abstand der Leitungsbänder [60-61].

Weiteren Einfluss auf die Bandstruktur haben Gegenionen, die sich an das Rückgrat der DNA anlagern und neue Bänder erzeugen können, die unabhängig von der DNA sind [17,20,54,58,60-63]. Dabei haben die polaren Wassermoleküle einen größeren Einfluss auf den Löchertransport als die gelösten Ionen aus der Lösung [64].

2.2.2 Metallische Leitfähigkeit

In einem elektrischen Feld \vec{E} wirkt auf ein Elektron die Kraft F_E mit

$$\vec{F}_e = -e\vec{E}. \quad (2.1)$$

Infolge von Stößen zwischen Elektronen und Verunreinigungen, Gitterfehlern und Phononen bei einer mittleren Stoßzeit τ entsteht ein stationärer Zustand, bei dem der Geschwindigkeit \vec{v} durch

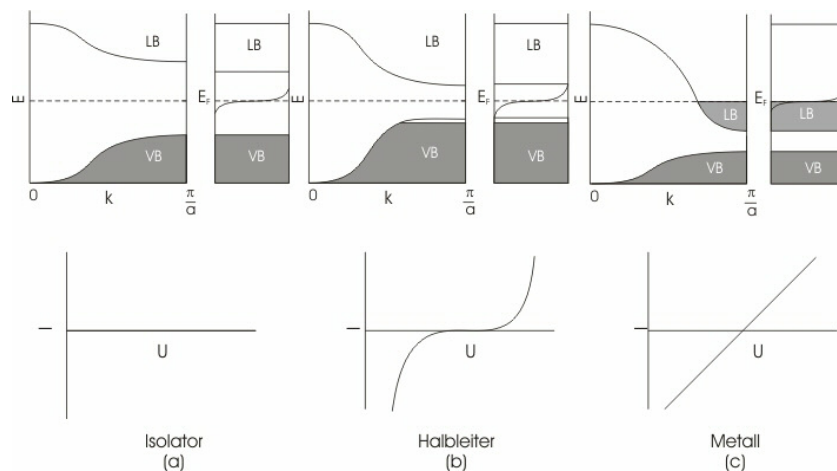


Abbildung 2.12: Leitungsbander und die dazugehörigen Strom-Spannungslinien für (a) Isolatoren, (b) Halbleiter und (c) Leiter.

$$\vec{v} = \frac{-e\vec{E}\tau}{m} \quad (2.2)$$

gegeben ist. Für n Elektronen findet man folglich eine Stromdichte \vec{j} , für die gilt

$$\vec{j} = ne\vec{v} = \frac{-ne^2\vec{E}\tau}{m} = \sigma\vec{E}, \quad (2.3)$$

und der elektrischen Leitfähigkeit σ

$$\sigma = \frac{-ne^2\tau}{m}. \quad (2.4)$$

Der differentielle Widerstand ρ wird durch

$$\rho = \frac{1}{\sigma} \quad (2.5)$$

definiert was zu

$$\vec{j}_\rho = \vec{E} \quad (2.6)$$

führt, also dem linearen Zusammenhang zwischen angelegtem Feld und Stromdichte, die man auch als ohmsche oder metallische Leitfähigkeit bezeichnet [53].

2.2.3 Halbleiter

Im Gegensatz zu Metallen, bei denen der Widerstand mit der Temperatur aufgrund der höheren Schwingung der Atomrümpfe zunimmt, nimmt die Leitfähigkeit von Halbleitern mit der Temperatur ab, da Wärmeenergie benötigt wird um Elektronen vom Valenzband über die Bandlücke ins Leitungsband anzuheben. Der so entstandene unbesetzte Elektronenzustand im Valenzband kann in einem elektrischen Feld bewegt werden, so dass sich dieses Loch wie ein positiv geladenes Elektron mit einer effektiven Masse m_L bewegt. Die Größe der Bandlücke E_g ist die Differenz zwischen dem Leitungsband E_{LB} und dem Valenzband E_{VB} , also

$$E_g = E_{LB} - E_{VB}. \quad (2.7)$$

Nicht nur die Elektronen im Leitungsband, sondern auch die Löcher im Valenzband tragen zur Leitfähigkeit bei. Die Größe der Leitfähigkeit und der Elektronenkonzentration hängt vom Verhältnis zwischen der Bandlücke E_g und der Temperatur T ab. Die Elektronenkonzentration im Leitungsband n wird durch

$$n(E) = \int D_e(E) f_e(E) dE \quad (2.8)$$

beschrieben. $D_e(E)$ ist die Zustandsdichte, die durch

$$D_e(E) = \frac{1}{2\pi^2} \left(\frac{2m_e}{\hbar^2} \right)^{\frac{3}{2}} \sqrt{E - E_{LB}} \quad (2.9)$$

definiert wird. $f_e(E)$ ist die Fermi-Dirac-Verteilung

$$f_e(E) = \frac{1}{e^{\frac{E-E_F}{k_B T}} + 1}, \quad (2.10)$$

für die mit dem chemischen Potential bzw. mit dem Fermi-Niveau E_F und der Annahme $E - E_F \gg k_B T$ die Näherung

$$f_e(E) \approx e^{-\frac{E-E_F}{k_B T}} \quad (2.11)$$

gilt. Nach der Integration erhält man für die Elektronenkonzentration

$$n(E) = 2 \left(\frac{m_e k_B T}{2\pi \hbar^2} \right) e^{\frac{E_{LB}-E_F}{k_B T}}. \quad (2.12)$$

Für die Lochkonzentration p erhält man mit der Fermi-Dirac-Verteilung $f_L(E)$

$$f_L(E) = 1 - f_e(E) \approx e^{\frac{E_F-E_{VB}}{k_B T}} \quad (2.13)$$

und der Zustandsdichte $D_L(E)$

$$D_L(E) = \frac{1}{2\pi^2} \left(\frac{2m_L}{\hbar^2} \right)^{\frac{3}{2}} \sqrt{E_{VB} - E}. \quad (2.14)$$

analog

$$p(E) = \int D_l(E) f_l(E) dE = 2 \left(\frac{m_l k_B T}{2\pi \hbar^2} \right)^{\frac{3}{2}} e^{\frac{E_F-E_{VB}}{k_B T}}. \quad (2.15)$$

Multipliziert man beide Konzentrationen, so erhält man eine Gleichgewichtsbeziehung:

$$p(E) n(E) = 4 \left(\frac{k_B T}{2\pi \hbar^2} \right) (m_e m_l) e^{\frac{E_g}{k_B T}}. \quad (2.16)$$

Diese Gleichgewichtsbeziehung, welche auch Massenwirkungsgesetz genannt wird, ist bei einer gegebenen Temperatur immer konstant und gilt auch, wenn der Halbleiter dotiert oder verunreinigt ist. Mit der Beweglichkeit von Elektronen μ_e und Löchern μ_L erhält man für die Leitfähigkeit den Ausdruck

$$\sigma = (ne\mu_e - pe\mu_L). \quad (2.17)$$

Legt man eine Spannung an einen Halbleiter an, so ergibt sich die für einen Halbleiter charakteristische Kennlinie [53].

2.2.4 Leitfähigkeit von 1-dimensionalen Leitern

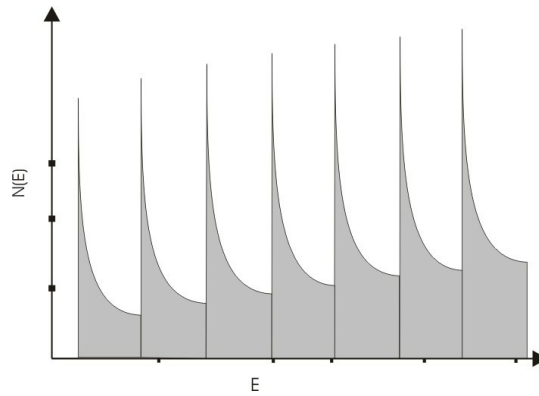


Abbildung 2.13: Zustandsdichte D_{1D} in Abhängigkeit von der Energie.

Nano- oder Quantendrähte sind Leiter mit einem Durchmesser von 1 nm bis 10 nm. Durch die daraus resultierenden Randbedingungen werden die Energiezustände in radialer Richtung quantisiert und durch die Quantenzahlen i und j beschrieben werden. Für einen 1-dimensionalen Draht der Länge L erhält man, mit der effektiven Masse m^* , für die Zustandsdichte

$$D_{1D}(E)dE = \sum_{i,j} \frac{L}{2\pi} \sqrt{\frac{2m^*}{\hbar^2}} \frac{dE}{\sqrt{E - E_{i,j}}}. \quad (2.18)$$

Für einen Quantendraht mit dem Radius R erhält man für die Energie E_{n_x, n_y} die Zustände

$$E_{n_x, n_y} = \frac{\hbar^2 z_{i,j}^2}{2m^* R^2}, \quad (2.19)$$

mit dem Parameter $z_{i,j}$ (Tabelle 3) der durch die Besselfunktionen gegeben ist [16,65].

$z_{i,j}$	j	0	1	2	3	4
i						
1		2,4048	3,8317	5,1356	6,3802	7,5883
2		5,5201	7,0156	8,4172	9,7610	11,0647
3		8,6537	10,1735	11,6198	13,0152	14,3725
4		11,7915	13,3237	14,7959	16,2235	17,6160
5		14,9309	16,4706	17,9598	19,4094	20,8269

Tabelle 3

Analog zu (2.4) erhält man mit der Stoßzeit $\tau(E)$ und der Fermifunktion $f(E)$ für die Leitfähigkeit in einem 1-dimensionalen Draht $\langle\sigma\rangle$

$$\langle\sigma\rangle = \frac{e^2}{m^*} \int D_{1D}(E) f(E) \tau(E) dE \quad [66]. \quad (2.20)$$

2.2.5 Kontaktwiderstände

Bei der Deutung der Strom-Spannungskennlinien ist die Interpretation des Verhaltens der DNA an den Metallkontakten wichtig. An den Kontaktstellen zwischen der DNA und dem Metall kann es zu starken Wechselwirkungen kommen, bei der sich die Energiezustände der Elektrode und des Moleküls vermischen. Es kann zu schwachen Wechselwirkungen kommen, bei denen kapazitive Effekte, wie beispielsweise eine Coulombblockade entstehen. Eine Coulombblockade würde eine intrinsische Energielücke bei einer Messung beeinflussen [17,67-70]. In der Landauer-Theorie wird der Übergang zwischen der DNA und der Elektrode als Störung an den Grenzflächen beschrieben, an der die Ladungsträger gestreut werden. [17,49,68]. Ein einfaches Modell für einen DNA/ Platin Kontakt (siehe Abbildung 2.14) erhält man, wenn man die Austrittsarbeit von Platin $E_{Pt} = 5,36$ eV vom Ionisationspotential der DNA E_{DNA} abzieht. Für die Energiebarriere Δ gilt dann:

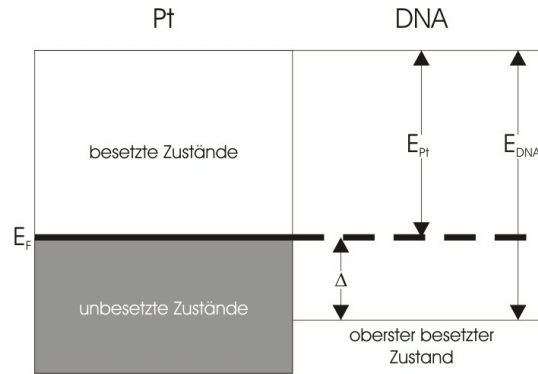


Abbildung 2.14: Einfache Darstellung eines Platin/ DNA-Kontaktes bei dem es durch die Verbindung zu keiner Änderung der Energieniveaus kommt [71].

$$\Delta = E_{DNA} - E_{Pt}. \quad (2.21)$$

Wenn man annimmt, dass an den Kontakten jeweils eine Spannung von $E_{DNA} - E_{Pt}$ und $E_{DNA} + E_{Pt}$ anliegen muss, um Ladungen durch die DNA zu leiten, so erhält man für die Schwellspannung

$$U_S = 2 \frac{E_{DNA} - E_{Pt}}{e} = 2 \frac{\Delta}{e}. \quad (2.22)$$

Da das Ionisationspotential für DNA von der Basensequenz abhängt, ist auch die Schwellspannung basenabhängig. Für eine Poly(G)-Poly(C)-DNA finden Berlin *et al.* [71-72] für die Schwellspannungen einen Wert von $U_S \approx 3$ eV [71-72]. Bei einer Messung würde die DNA danach ein Halbleiterverhalten zeigen.

2.2.6 Marcus-Jortner-Beziehung für einstufigen Ladungstransport

Bei der Marcus-Jortner-Theorie wird die Transferrate für Ladungen k durch den Orbitalüberlapp zwischen benachbarten Basen, bzw. zwischen benachbarten Basenbausteinen berechnet. Dafür benutzt man die Annahme, dass

der Ladungstransport erheblich schneller ist als die Schwingungen der beteiligten Kerne gegeneinander. Dabei gilt die Hamilton Funktion H , die sich aus einem stationären Anteil H_0 , zu dessen Eigenfunktionen $u_n(x)$ die Eigenwerte E_n gehören und einem kleinen konstanten Störterm H' zu

$$H = H_0 + H' \quad (2.23)$$

zusammensetzt, erhält man mit Fermis goldener Regel für die Übergangsrate $k_{i \rightarrow f}$ vom Zustand i nach f den Ausdruck:

$$k_{i \rightarrow f} = \frac{2\pi}{\hbar} |H_{if}|^2 (FC), \quad (2.24)$$

bei der \hbar die Plankkonstante und

$$|H_{if}| = \langle u_i | H' | u_f \rangle \quad (2.25)$$

ist. $|H_{if}|$ ist das elektronische Matrixelement, das den elektrischen Übergang zwischen den Zuständen i und f beschreibt. $|H_{if}|$ ist proportional zum Überlapp der Elektronenwellenfunktion der Anfangs- und Endzustände u_i und u_f [1-73]. Bei einem Übergang eines Elektrons vom Ausgangsmolekül zum Zielmolekül kann die Zustandsdichte durch das Franck-Condon-Integral

$$(FC) = \sum_{n=0}^{\infty} \sum_{n'=0}^{\infty} \left(\int \chi_{in}(r) \chi_{fn'}(r) dr \right)^2 \left(1 - e^{-\frac{\hbar\omega}{k_B T}} \right) \delta(n'\hbar\omega - n\hbar\omega - \Delta E) \quad (2.26)$$

beschrieben werden. Dabei ist das Franck-Condon-Integral die Summe der Produkte der Überlappungsintegrale für die Vibrationswellenfunktionen $\chi_i(r)$ und $\chi_f(r)$ der Kerne, deren Anregungen durch den Boltzmannfaktor gewichtet werden. ω ist die Schwingungsfrequenz des Moleküls, ΔE ist die Vibrationsenergie, die beim Elektronenübergang verloren geht. Marcus [74-75] fand für das Franck-Condon-Integral

$$(FC) = \frac{1}{\sqrt{4\pi\lambda k_B T}} e^{-\frac{(\Delta G_{et}^0 + \lambda)^2}{4\lambda k_B T}}. \quad (2.27)$$

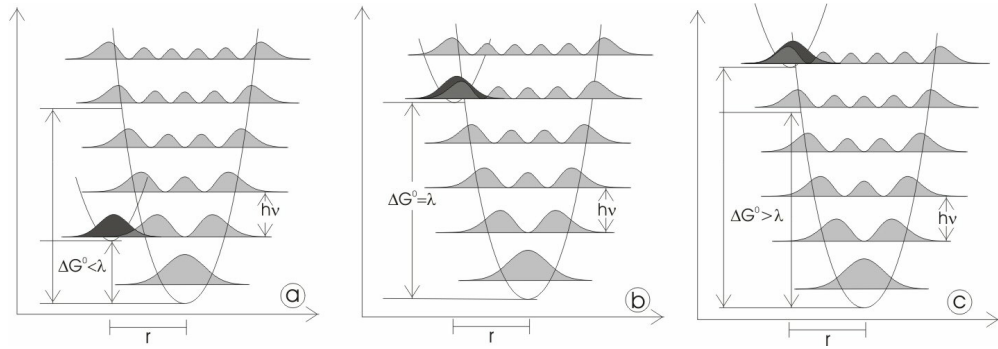


Abbildung 2.15: Darstellung der freien Energie und der dazugehörigen Wellenfunktionen. Das Franck-Condon-Integral ist proportional zum Überlapp der Wellenfunktionen der Kernschwingungen von Ausgangs- und Endzuständen mit den verschiedenen freien Energien (a) $\Delta G_{et}^0 < \lambda$ (b) $\Delta G_{et}^0 = \lambda$ (c) $\Delta G_{et}^0 > \lambda$ [76].

ΔG_{et}^0 ist die Differenz der freien Energie zwischen Ausgangszustand und Endzustand. ΔG_{et}^0 ist bei einer starken Kopplung von Anfangs- und Endzustand adiabatisch, bei einer schwachen nicht adiabatisch [49]. λ beschreibt die Reorganisationsenergie, die die Veränderung des effektiven Potentials des Moleküls beim Übergang vom Anfangszustand in den Endzustand beschreibt, ohne den Elektronentransport zu berücksichtigen. Das Franck-Condon-Integral ist maximal, wenn die Freie Energie der Reorganisationsenergie entspricht (siehe Abbildung 2.15). Beim Ladungstransport über größere Distanzen verlieren die Schwingungszustände der Kerne gegenüber den elektronischen Matrixelementen an Bedeutung [1].

Die Kinetik $k_{i \rightarrow f}$ eines Elektronenübergangs von einem Molekül zum nächsten wird dann durch

$$k_{i \rightarrow f} = \frac{2\pi}{\hbar} |H_{if}|^2 \frac{1}{\sqrt{4\pi\lambda k_B T}} e^{-\frac{(\Delta G_{et}^0 + \lambda)^2}{4\lambda k_B T}}, \quad (2.28)$$

beschrieben [77-78]. Um $|H_{if}|$ zu beschreiben, muss man die Schrödinger-Gleichung für das entsprechende Potential lösen. Unabhängig vom Potential kann $|H_{if}|$ fast immer durch

$$|H_{if}| = V_0 e^{-\beta r} \quad (2.29)$$

beschrieben werden, wobei die Konstanten V_0 und β durch das entsprechende Potential festgelegt werden [1,18,79-82]. Zusammengefasst und vereinfacht findet man dann die Marcus-Levich-Jortner-Beziehung:

$$k_{i \rightarrow f} = \frac{2\pi}{\hbar} V_0^2 (FC) e^{-\beta r}, \quad (2.30)$$

die nicht nur Donor-Akzeptor-Systeme, sondern auch Donor-Brücke-Akzeptor-Systeme beschreibt. Bei den in dieser Arbeit betrachteten Systemen sind die dazwischen liegenden Brücken die Basen der DNA. Da der Abstand r im Exponenten der Exponentialfunktion steht, erhält man für die Übergangsrate eine starke Abhängigkeit von der Distanz. Ein weiteres Standardverfahren, um für ein beliebiges Potential $V(x)$ die Übertragungsrate zu erhalten, ist die WKB-Näherung (Wentzel, Kramers, Brillouin), die durch

$$k_{i \rightarrow f} = C e^{-\frac{2\sqrt{2m}}{\hbar} \int_a^b \sqrt{|V(x)|} dx} \quad (2.31)$$

definiert wird. C ist eine Proportionalitätskonstante, m ist die Masse des Partikels und a und b sind Anfangs- und Endpunkt der Barriere.

2.2.7 Superaustausch-Ladungstransfer für DNA

Da die bisherigen experimentellen Ergebnisse durch die Marcus-Levich-Jortner-Beziehung unbefriedigend beschrieben werden, wird für den Elektronentransport durch DNA der Superaustausch-Ladungstransfer (Superexchange) postuliert, bei dem man virtuelle Zustände auf den Barriereatomen annimmt. Diese Zustände werden als virtuell bezeichnet, weil ihre Besetzung mehr Energie benötigen würde als im Ursprungssystem mit dem Elektron im Donor vorhanden ist und somit klassisch verboten ist ($\Delta G_{DB} > 0$). Der Superaustausch-Mechanismus ist eine Alternative zum Tunnelmechanismus, der es erlaubt Ladung auch über größere Distanzen zu transportieren, da Donor, Brücken und Akzeptor-Zustände des Systems kohärent gemischt werden [83]. Diese Form der langreichweitigen Wechselwirkung wurde ursprünglich

von Kramers für Elektronenspins in magnetischen Materialien beschrieben [84]. Die angeregten Schwingungszustände des Anfangssystems

$$(d^*\{B_1, B_2, \dots B_i, \dots B_N\}a)$$

sind resonant mit dem Endzustand

$$(d^\pm\{B_1, B_2, \dots B_i, \dots B_N\}a^\mp),$$

bei einer Energiedifferenz von $\Delta G_{DA} > 0$, gekoppelt. Die Schwingungszustände, bei denen die Ladung auf den dazwischen liegenden Basen lokalisiert ist, befinden sich mit dem Anfangszustand nicht in Resonanz. Für die Transportrate k findet man genauso wie bei der Marcus-Levich-Jortner-Beziehung eine exponentielle Abhängigkeit mit der Distanz bzw. mit der Anzahl der Basenpaare N :

$$k \sim e^{-\bar{\beta}N}, \quad (2.32)$$

so dass der nicht resonante Elektronentransport nur für kleine Distanzen wichtig ist. Die Werte für $\bar{\beta}$ liegen zwischen $0,4 \text{ \AA}^{-1}$ und $1,6 \text{ \AA}^{-1}$, je nach Basensequenz [18,81-82]. Da DNA ein dynamisches Molekül ist, existiert die B-Konformation der DNA nur im zeitlichen Mittel. Der Orbitalüberlapp zwischen den Basen ist zu klein, weshalb der Elektronentransfer mit mehr als 4 bis 6 Basen vom Superaustausch in einen Hopping-Mechanismus übergeht, der im nächsten Abschnitt beschrieben wird. Über wie viele Basen der Übergang stattfinden kann, hängt von der elektrischen Kopplung mit den benachbarten Basen, der Temperatur und dem Energieunterschied zwischen dem Ausgangszustand und der nächsten Base ab [63].

Wenn nicht lokalisierte Zustände existieren, werden die Elektronen auf den lokalisierten Zuständen nur virtuell gebunden. Lokalisierte und nicht lokalisierte Zustände können bei einer gegebenen Konformation nicht die gleiche Energie haben [79].

Nitzan ist es auf eine elegante Weise gelungen für das Superaustauschmodell durch Vergleich der Kopplungsmatrixelemente eine Beziehung zwischen der Leitfähigkeit σ [S] und der Transportrate k [s^{-1}] mit

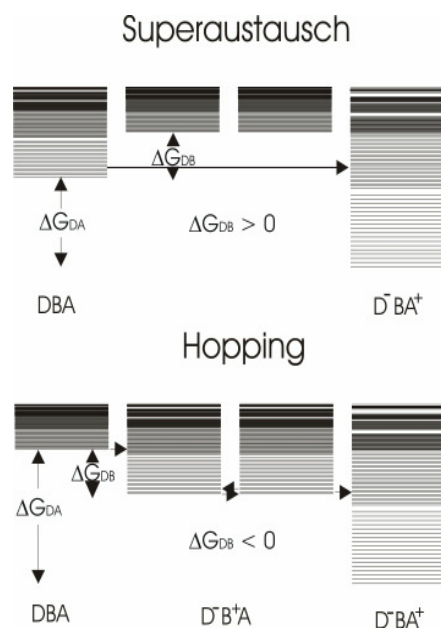


Abbildung 2.16: Schwingungszustände für (a) Superaustausch und (b) Hopping.

$$\sigma \sim 10^{-17} k \quad (2.33)$$

zu finden, durch die man die Ergebnisse der physikalischen und chemischen Experimente vergleichen kann [49,85].

2.2.8 Hopping

Die Hopping-Leitfähigkeit ist ein Leitungsmechanismus, der unter anderem bei amorphen Halbleitern vorkommt und durch die grundlegenden Arbeiten von Mott beschrieben wird. Durch Lokalisierung von Ladung auf einem Polaron (Phonon-Elektron-Wechselwirkung) kommt es durch Verschieben der umliegenden Atome zu einer Energierniedrigung E_P . Durch thermische Anregung von Ladungen, die in lokalisierten Bandzuständen gefangen sind, können diese von einem Zustand zum nächsten durch einen Tunnelmechanismus springen. Beim normalen Hopping tragen die Elektronen, deren Be-

weglichkeit reduziert ist, am meisten zum Ladungstransport bei. Die Wahrscheinlichkeit für den Übergang zwischen zwei Zuständen ist proportional zum Überlapp der Wellenfunktion der beiden Zustände. Für Kristalle mit kleinen Polaronen, für die eine starke Phononen-Elektronen-Wechselwirkung ($J \ll E_P$) gilt, findet man dann für die Hopping-Leitfähigkeit σ_h

$$\sigma_h = \frac{(ea)^2}{\hbar} n \left(1 - \frac{1}{e^{-\frac{E_F}{k_B T}}} \right) \frac{\pi}{2} \frac{J^2}{k_B T \sqrt{E_A k_B T}} e^{-\frac{E_A}{k_B T}} \quad (2.34)$$

mit der Gitterkonstanten a , der Ladungsträgerkonzentration n , der chemischen Energie E_F , der Aktivierungsenergie E_A und dem Überlappungsintegral J , das durch

$$J = \int \varphi^* H_e \varphi dr \quad (2.35)$$

definiert wird. Dabei ist φ die Wellenfunktion eines Elektrons und H_e der Hamilton-Operator des Elektronensystems. Für Ladungen, die nur mit dem nächsten Nachbarn in einem starken elektrischen Feld \vec{E} wechselwirken, kann man die Stromdichte j durch

$$j = \sigma_h \left| \vec{E} \right| \frac{\sinh \left(\frac{e |\vec{E}| a}{k_B T} \right)}{\frac{e |\vec{E}| a}{k_B T}} e^{-\frac{(e |\vec{E}| a)^2}{16 E_A k_B T}} \quad (2.36)$$

beschreiben [79,86-87]. Ab einer Temperatur $T < T_0$ kommt es zu einem stärkeren Einfluss der Dimension d , in der sich die Ladungsträger bewegen können. Durch den Einfluss der Lokalisierung der Ladung auf die Aktivierungsenergie entwickelt sich Gleichung (2.34) zu

$$\sigma_h = \sigma_0 e^{-C \left(\frac{T_0}{T} \right)^\gamma} \quad (2.37)$$

mit einer dimensionslosen Konstanten C . Der Einfluss der Dimension wird durch

$$\gamma = \frac{1}{1+d} \quad (2.38)$$

beschrieben. Die Größe der Ladungsträgerlokalisierung bestimmt die Dimension des Leiters [88]. Das Modell von Shen [16,89] beschreibt die Leitfähigkeit in elektrisch leitenden Polymeren, wo unter der Annahme von hochleitfähigen Regionen, die von Potentialbarrieren getrennt sind, ebenfalls Tunnelprozesse stattfinden. Dementsprechend ergibt sich eine Temperaturabhängigkeit durch

$$\sigma_h = \sigma_0 e^{-\left(\frac{T_1}{T_0+T}\right)}. \quad (2.39)$$

Hole Resting Modell

Bei der DNA ist das thermische Hopping die inkohärente Bewegung der Ladung, die auf den π -Orbitalen der Basen lokalisiert ist. Dabei kommt es zu Wechselwirkungen und Energieaustausch zwischen Basen und Ladungsträgern [18,61,81]. Die Energie der Ladung muss sich dafür nahe der Fermienergie befinden. Im Anfangszustand befindet sich der Donor im angeregten Zustand

$$(d^*\{B_1, B_2, \dots, B_i, \dots, B_N\}a)$$

und ist in Resonanz mit den stark entarteten Schwingungszuständen der Basen

$$(d^\pm\{B_1, B_2, \dots, B_i^\mp, \dots, B_N\}a),$$

bei einer Energiedifferenz $\Delta G_{DB} < 0$. Die Schwingungszustände der Basen befinden sich wiederum mit dem Endsystem

$$(d^\pm\{B_1, B_2, \dots, B_i, \dots, B_N\}a^\mp)$$

in Resonanz. Die Ladung kann also zufällig zu beiden Seiten hin und her hüpfen. Wenn keine Spannung an die DNA angelegt wird und die Wahrscheinlichkeit für Hin- und Rücksprünge gleich ist, so kann die Transportrate k durch

$$k \sim \frac{1}{N^2} \quad (2.40)$$

beschrieben werden. Wenn eine Spannung an die DNA angelegt wird, wird k durch

$$k \sim \frac{1}{N^\eta} \quad (2.41)$$

dargestellt, wobei der Wert von η zwischen 1 und 2 liegt. In diesem Modell wird nicht berücksichtigt, dass die Energiezustände auch von den Basen und ihrer Sequenz abhängen, es werden also alle Basen gleich behandelt [18].

Im einfachsten Bild, dem Hole Resting Modell, wird die Ladung nur auf einer Base lokalisiert, dem Guanin und kann sich dann von dort zum nächsten Guanin, durch Tunneln oder Superaustausch-Ladungstransfer, weiterbewegen. Giese und Mitarbeiter erweiterte dieses Bild so, dass Ladung zwischen DNA-Basen bzw. Basensequenzen tunnelt, die ähnliche Redoxpotentiale besitzen. Der langreichweitige Ladungstransport in DNA ist also eine Anzahl von Tunnelprozessen, die nacheinander reversibel stattfinden. Bei Sequenzen, bei denen die Guanin-Basen durch A-T Basenpaare getrennt sind, wird die Geschwindigkeit des Ladungstransports über das ganze Molekül durch die Sequenz mit den meisten A-T-Basenpaaren dominiert [18,59,90-91]. Der Hoppingmechanismus ist vor allem beim langreichweitigen Ladungstransport dominant.

Thermisches Polaronen Hopping

Polaronen entstehen durch Phonon-Elektron-Wechselwirkung, die eine Strukturänderung im Gitter hervorruft. Diese Strukturänderung ist vor allem in Ionenkristallen durch die Coulomb-Wechselwirkung mit den Ionen sehr groß, während in kovalent gebundenen Stoffen die Atome neutral sind und somit eine geringe Wechselwirkung mit den Elektronen haben. Durch die Wechselwirkung der Atome mit dem Elektron erhöht sich dessen effektive Masse. Elektronen von großen Polaronen bewegen sich in einem Band. Elektronen von kleinen Polaronen werden oft an geladenen Atomen gefangen, von denen sie bei hohen Temperaturen durch thermisch angeregte Sprünge davon

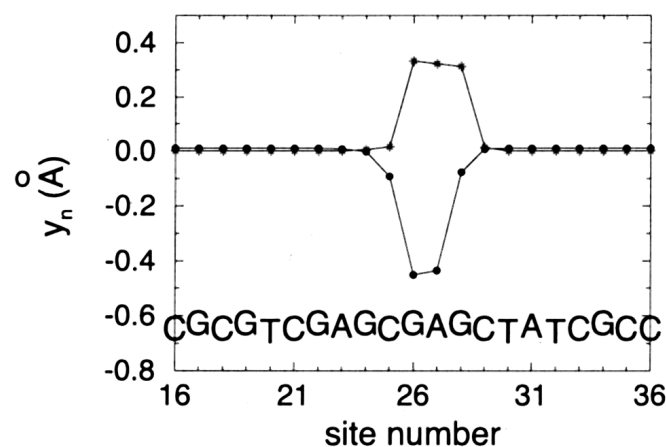


Abbildung 2.17: Die Punkte beschreiben die Verschiebung der Basen aus der Gleichgewichtslage nachdem eine Ladung aufgebracht wurde. Die Sterne zeigen die Veränderung in der Aufenthaltswahrscheinlichkeit [49].

hüpfen können. Ist die Temperatur zu niedrig, so sind die Ladungen unterhalb des Leitungsbandes lokalisiert. Überlappen die Wellenfunktionen von benachbarten Zuständen, so hat das Elektron die Möglichkeit zum nächsten Atom zu tunneln [79].

Bei DNA ist die Größe eines Polarons nicht nur auf eine Base beschränkt, sondern kann sich auf mehrere Basen verteilen, deren genaue Größe von der Basensequenz abhängig ist. Das Zentrum dieser Polaronen liegt in der Regel auf einer Guaninbase. Für die Polaronen ist es energetisch günstiger, wenn die Ladung delokalisiert ist. Die Reorganisationsenergie sorgt dafür, dass die Verteilung der Ladung über die Basen begrenzt ist. In Abbildung 2.17 ist ein Beispiel für eine Basensequenz zu sehen, auf der die Veränderung der Wellenfunktion der einzelnen Basen und deren Verschiebung aus der Gleichgewichtslage beschrieben wird. Die Ladung wird auf 7 Basen verteilt und sorgt dafür, dass dort die Basen zusammenrücken. Alle anderen Basen vergrößern ihre Distanz zum nächsten Nachbarn. Mit Hilfe von Phononen können diese Polaronen durch thermische Anregung auf der DNA reversibel verschoben werden, weshalb die Leitfähigkeit stark von der Temperatur abhängig ist. Je geringer die Temperatur, desto geringer ist die Abhängigkeit der Leitfähigkeit von der Temperatur. Für Sequenzen, die eine große Anzahl von

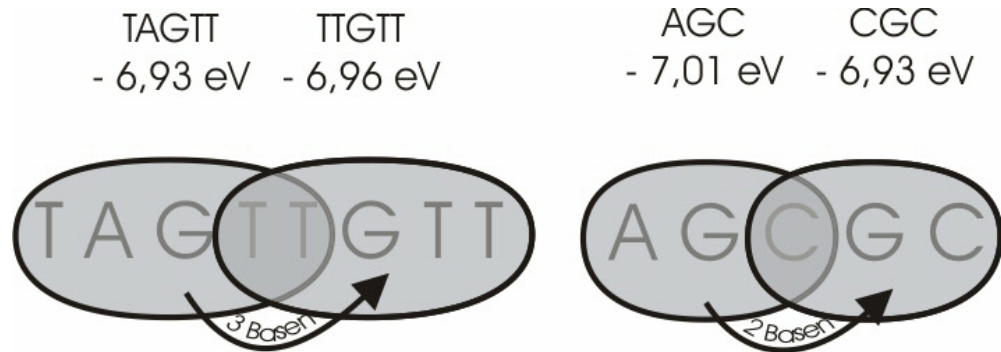


Abbildung 2.18: Beispiele für einen Sprung zwischen zwei isoelektrischen Zuständen.

T-A-Basenpaaren enthalten, kann der Transport durch die Drift der Ladung beschrieben werden. In Abbildung 2.18 werden zwei Beispiele für Sprünge zwischen isoelektrischen Zuständen über mehrere Basen gezeigt. Durch die Bewegung der Polaronen werden auch die Dipole der Wassermoleküle aus der Umgebungsschicht neu ausgerichtet [49,52,63-64,92-94].

TGGGT	TGGAT	TGGTT	TGGCT
6,34 eV	6,50 eV	6,59 eV	6,63 eV
TAGGT	TAGAT	TAGTT	TAGCT
6,50 eV	6,73 eV	6,93 eV	7,01 eV
TTGGT	TTGAT	TTGTT	TTGCT
6,52 eV	6,76 eV	6,96 eV	7,12 eV
TCGGT	TCGAT	TCGTT	TCGCT
6,44 eV	6,63 eV	6,91 eV	6,96 eV

Tabelle 4: Beispiele für die Ionisationspotentiale verschiedener Sequenzen [51]

2.2.9 DNA als Isolator

Ist die Bandlücke E_g größer als 5 eV können Elektronen nur noch unter großem Aufwand in das Leitungsband gehoben werden, weshalb es zu keinem nennenswerten Ladungstransport kommt. Solche Materialien, wie beispielsweise Glas, bestimmte Kunststoffe oder Keramik nennt man Isolatoren.

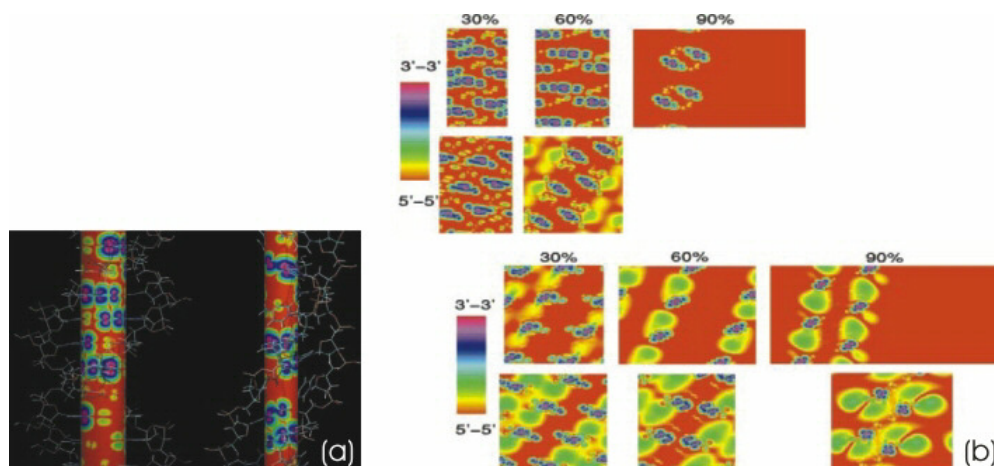


Abbildung 2.19: (a) Teil einer Poly(CG)-Poly(CG)-DNA, bei der die Elektronendichte des Valenzbandes dargestellt wird, links in der B-Konformation rechts, 30 % überstreckt. (b) Oben: Höchstes besetztes Valenzband mit der entsprechenden Elektronendichte für unterschiedlich gestreckte DNA. Unten: Niedrigstes besetztes Leitungsband mit der entsprechenden Elektronendichte für unterschiedlich stark gestreckte DNA [57].

Dass DNA für Längen, die größer als 10 nm sind, ein Isolator ist kann viele Gründe haben. Beispielsweise können Ladungen durch Wassermoleküle, die sich im Rückgrat der DNA befinden, abgefangen werden [11-13]. Auch auf die Reorganisationsenergie haben die Gegenionen Einfluss und können den Ladungstransport behindern [49]. Fehlt der DNA dieser Mantel aus Gegenionen, so verändert sie ihre Konformation, kann beispielsweise von der B-Konformation in die A-Konformation übergehen oder sogar noch stärker zusammenfallen. Streckt man DNA beispielsweise durch Meniskuskräfte beim Aufbringen auf eine Struktur, so vergrößert man die Distanz zwischen den Basen. Da der Orbitalüberlapp der Basen exponentiell vom Abstand der Basen abhängt, fällt die Leitfähigkeit beim Überstrecken der DNA stark ab, wodurch es zu einer Lokalisation der Ladungen kommt [62]. Dieses zeigen Maragakis *et al.* [57] am Beispiel eines Poly(dCG) - Poly(dCG), bei dem Minibänder in der Nähe der Fermikante durch Strecken der DNA gemixt werden. Die Verdrehung der Basenpaare gegeneinander hat auch Einfluss auf die Hopping-Matrix Elemente (siehe Abbildung 2.19).

Bei Raumtemperatur schwingen zwei Basen durchschnittlich in einem Abstand von $0,3 \text{ \AA}$ bis $0,4 \text{ \AA}$ zueinander. Dieser Wert liegt um eine Größenordnung höher als in einem Festkörper [20]. Damit Ladung transportiert werden kann, muss sie sich schneller bewegen, als die DNA schwingt [63]. Die Schwingungsperiode einer DNA beträgt zwischen 30 und 300 ps. Durch die Schwingung um die Kippwinkel, mit dem die Basenpaare gegeneinander verdreht sind, kommt es ebenfalls zu einer Verringerung des Ladungstransports. Bei Raumtemperatur hat DNA eine durchschnittliche Schwingungsamplitude von 3° [95]. Diese Nichtgleichgewichtszustände erzeugen eine Energielücke. Die Längen- und Winkelschwingungen können den Elektronentransport so stark behindern, dass kein Ladungstransport durch DNA mehr möglich ist.

2.3 Vergleich mit Experimenten anderer Gruppen

Die Motivation, den Ladungstransport durch DNA zu messen, ist für Biologen, Chemiker und Physiker verschieden. Für Biologen ist der Transport von Ladung, die durch Umgebungs- und Umwelteinflüsse auf Basen (z. B. durch ultraviolette Strahlung) entsteht, wichtig für das Verständnis der Entstehung von Krebs und Mutationen. Die biochemischen Experimente zeigen eindeutig, dass Ladungstransport durch DNA existiert. Die Experimente der Physiker sind vor allem durch eine technologische Motivation für spätere Anwendungen, wie beispielsweise für Biochips oder in der Mikrosystemtechnik, geprägt. Außerdem erhofft man sich durch Variation der Temperatur, der Elektrodenabstände oder des Stromspannungsverhaltens Erkenntnisse über die Ladungstransportmechanismen zu erhalten. Würde man für die Kennlinien beispielsweise eine Stufenform finden, so besäße die DNA diskrete Energiezustände. Findet man ein kontinuierliches Spektrum, so hat DNA Festkörpereigenschaften [17,49]. Allerdings gibt es bei den experimentellen Ergebnissen starke Unterschiede. So wurden bei Experimenten anderer Gruppen ohmsche, halbleitende, supraleitende oder isolierende Strom-Spannungslinien gemessen.

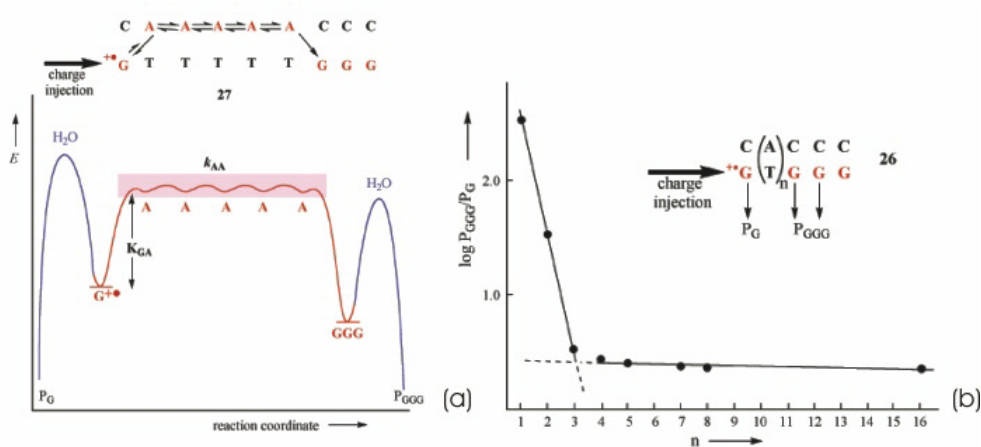


Abbildung 2.20: Ein Enoletherradikalkation bindet selektiv an die DNA und oxidiert eine Guaninbase. Wenn die oxidierte Guaninbase mit der ersten Adeninbase schneller reagierte als mit dem umgebenden Wasser, kam es durch Ladungstransport durch eine reiche A-T-Basenpaarsequenz zur Oxidation einer zweiten Guaninbase, bei der die DNA durch eine Reaktion von Wasser mit Piperidin geschnitten wurde. Die Fragmente konnten durch Gelelektrophorese sichtbar gemacht werden. (a) Darstellung der Energieniveaus, der oxidierten Guanin- und Adeninbasen beim Ladungstransport durch DNA und der Reaktion der ionisierten Basen mit dem Wasser. (b) Transportraten k in Abhängigkeit von der Anzahl n der A-T-Basenpaare zwischen den Guaninbasen. Ab $n \geq 4$ wird die Ladung nicht mehr durch einen Tunnelmechanismus, sondern über einen Hoppingmechanismus transportiert [11].

2.3.1 Chemische Experimente zum Ladungstransport durch DNA

Für die Ladungstransportmessungen in einer Lösung wurden meistens ein Ladungsdonor und -akzeptor an eine definierte DNA-Sequenz gebunden. Die Akzeptoren können durch Aufnahmen eines Elektrons eine positive Ladung auf der DNA erzeugen, die dann über Distanzen von bis zu 20 nm zu einem Donator transportiert werden können. Die verschiedenen Transportraten werden auf die unterschiedlichen Redoxpotentiale der in den Experimenten eingesetzten Akzeptoren und Donoren zurückgeführt. Für die Transportraten fand man Werte zwischen 10^5 s^{-1} und 10^{12} s^{-1} [59,96-97]. Als Donatoren

und Akzeptoren können metallische Interkalatoren, organische Interkalatoren oder modifizierte Basen dienen, wie beispielsweise Rh(III), Anthrachinon Derivate, Glycosyl-Radikale oder Stilbene. Die Distanzabhängigkeit vom Ladungstransport hängt stark vom Wassereinfang ab, der bei höheren pH-Werten stärker wird [90]. Damit Ladung transportiert werden kann, darf ihre Verweildauer auf einer Base nicht länger sein als die Dauer für die Reaktion, die zum Wassereinfang führt. Beim Ladungstransport kann die DNA durch Bildung von Ontermediaten chemisch modifiziert werden, oder es wird ein verändertes Floureszenzsignal detektiert [59,90,98]. Für diese Messungen ein Ensemble von Molekülen nötig. Die Ersten, die solche Experimente durchgeführt haben, war die Forschergruppe um Jacqueline Barton. Sie stellten fest, dass das Donatormolekül nicht mehr fluoresziert, wenn es an DNA gebunden wird. Sie vermuteten, dass die angeregte Ladung über die Basen zum ebenfalls an die DNA gebundenen Akzeptor abfließen kann. Mit diesem Prinzip war es Barton möglich, Basen in einer Entfernung bis zu 20 nm zu oxidieren [10,18].

In den Experimenten von der Gruppe um Bernd Giese wurde durch einen Donator, Anthrachinon (AQC), der bei einer Bestrahlung von Licht mit einer Wellenlänge von 350 nm Ladung in der DNA erzeugte, benutzt. AQC hat flache Aromaten, die in die DNA interkalieren können. Die auf der DNA befindlichen Ladungen konnten durch "Hüpfen" über einzelne Guanin-Basen, die jeweils durch zwei A-T-Basenpaare getrennt waren, maximal eine GGG-Sequenz erreichen. In einem weiteren Experiment konnte gezeigt werden, dass bei einer erhöhten Anzahl der T-A-Basenpaare zwischen einer oxidierten Guanin-Base und einer GGG-Sequenz die Reaktionsrate stark abfällt. Ab einer Größe von 3 oder 4 Basenpaaren ist die Rate für den Ladungstransfer für jedes weitere T-A-Basenpaar fast konstant. Giese erklärt dieses Ergebnis damit, dass bei kleinen T-A-Sequenzen die Ladung in einem einzelnen Schritt zum Akzeptor tunneln kann, bei größeren aber auch die Adeninbasen Ladungsträger sind, durch die die Ladung durch den Hoppingmechanismus transportiert wird. DNA ist ein dynamisches System, weshalb ihre B-Konformation nur im zeitlichen Mittel existiert und bei größeren Abständen kein Orbitalüberlapp mehr vorhanden ist. Bei größeren Sequenzen ist die Reaktion G^+ -Base mit einer Adenin-Base energetisch günstiger als mit der GGG-Sequenz und der distanzunabhängige Hopping-Mechanismus kommt zum Tragen. Die lokalisierte Ladung der Basen steht in Konkurrenz zu den Abfangreaktionen der Wassermoleküle aus der Lösung. Mit Hilfe der

Wasserreaktion kann Piperidin die DNA dort spalten. Anschließend können die DNA Fragmente durch Gelelektrophorese sichtbar gemacht werden. Die relative Geschwindigkeit des Ladungstransfers hängt mit dem Verhältnis der Spaltprodukte G und GGG zusammen, wodurch in diesen Experimenten eine exponentielle Abhängigkeit der Kinetik des Ladungstransports von der Anzahl der Basenpaare gefunden wurde. Vergrößert man den Abstand zwischen Guanin-Basen, so wird der Ladungstransfer langsamer, was bedeutet, dass auch die Basensequenz eine wichtige Rolle spielt [11-13,52,59,63,90].

2.3.2 Biologische Experimente zum Ladungstransport durch DNA

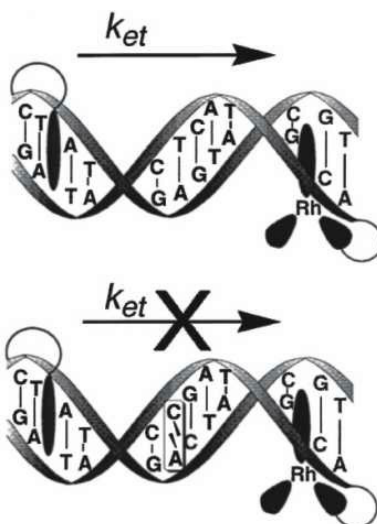


Abbildung 2.21: Untersuchung des Ladungstransfers durch eine Basenfehlpaarung. Oberes Bild: Links ist Ethidium in der DNA interkaliert, bei dem eine Ladung durch ein Photon erzeugt wird. Diese kann zu dem Rhodium-Komplex wandern, weshalb es zum Fluoreszenzquenching kommt. Unten: Befindet sich eine Basenfehlpaarung in der Sequenz, so wird der Ladungstransport unterbrochen [21].

Durch Umwelt- und Umgebungseinflüsse, wie beispielsweise Radikale, oxidativen Stress oder kurzwellige Photonen können DNA oder auch andere

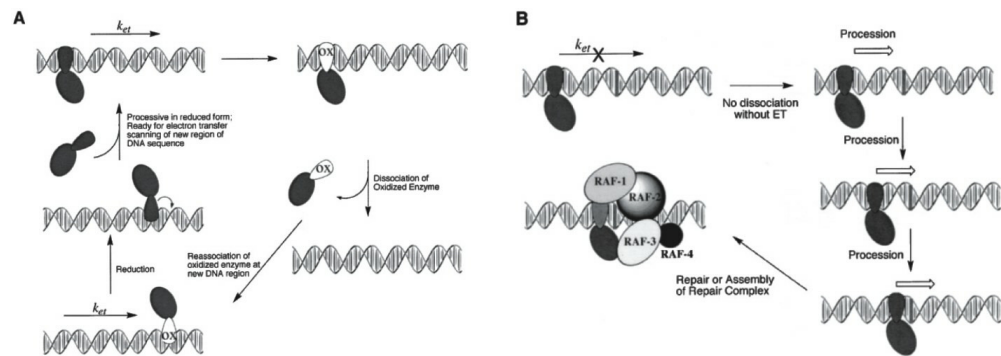


Abbildung 2.22: Möglicher Ablauf einer Sequenzerkennung durch langreichweitigen Ladungstransfer. (A) Ungestörter Fall: Ein Enzym (1) bindet sich an die DNA und tritt mit einem zweiten Enzym durch Elektronentransfer in Wechselwirkung, wodurch das erste Enzym oxidiert (2) wird. Das oxidierte Enzym (3) dissoziiert von der DNA und bindet an einer anderen Stelle (eventuell auch eine andere DNA) wieder an die DNA (4) und wird dort durch ein Elektron, das entweder von einem oxidierten Enzym (1) oder von einer oxidierten Base kommt, reduziert. Nun kann das Enzym (5) wieder ein Elektron an dieser oder einer anderen Stelle abgeben und der Vorgang beginnt von neuem. (B) Gestörter Fall: Ein Enzym (1) bindet sich an die DNA und kann nicht oxidiert werden, da durch den Defekt der DNA keine Ladung weitergegeben werden kann, weshalb es (2) nicht von der DNA dissoziieren kann und sich solange auf der DNA weiter bewegt (3) bis es an der Fehlstelle ankommt (4) und dort ein Reparaturprotein aktivieren kann [21].

Biomoleküle, die sich innerhalb einer Zelle befinden, wie beispielsweise Membranlipide oder Proteine, oxidiert werden. Diese Oxidationsprozesse können Auslöser für Veränderungen sein, wie beispielsweise Krebs, Arthritis oder Diabetes [63,98]. Eine Base der DNA kann ein Elektron verlieren, so dass auf der Base ein positiv geladenes Loch entsteht. Da die DNA an dieser Stelle instabil ist, kann es passieren, dass sie dort auseinanderbricht. Guaninradikalkationen sind besonders langlebig und die DNA ist dort besonders gefährdet. Kann die Ladung zu einer leicht zu oxidierenden GGG Sequenz (GGG reagiert 3 mal schneller mit G^+ als G) transportiert werden, so hat sie dort die Möglichkeit, mit der Umgebungslösung in Wechselwirkung zu treten und ein Elektron einzufangen, so dass die DNA wieder neutral ist und nicht

mehr angegriffen werden kann. Diese einfache zu oxidierenden Basensequenzen befinden sich beispielsweise in Telomeren, den eukaryontischen Chromosomenenden, die DNA schützen sollen [18,97,99]. Bei Bakterien gibt es das Enzym Photolyase das über die Oxidation eines Flavin-Cofaktors Elektronen zum Defekt leitet [96].

Eine ungelöste Frage bei der Reparatur von defekten DNA-Segmenten ist, wie die Reperaturenzyme die defekten Sequenzen erkennen können. Die defekten Sequenzen haben eine veränderte Struktur, die die thermodynamischen und die kinetischen Eigenschaften der Sequenz, aber auch deren funktionale Gruppen der Wasserstoffdonoren und -akzeptoren in der großen und kleinen Furche, verändern. Das hilft den Enzymen, die defekten Stellen zu markieren. Spektroskopische Untersuchungen zeigen, dass Fehlpaarungen, wie beispielsweise G-A, A-A, G-G usw. nur Veränderungen der Konformation der B-DNA auf kleinen Bereichen ergeben. Die Kinetik des langreichweitigen Ladungstransports ist stark abhängig von der Struktur und der Zusammensetzung der Basensequenz [90,96]. Bei der Bindung von Proteinen oder Medikamenten spielt die Verteilung der elektrischen Ladung bei der Sequenzerkennung eine Rolle [18,21]. So wurden Proteine entdeckt, die oxidierte Basen identifizieren und reparieren können, bei denen der Mechanismus für die Erkennung nicht klar ist. Eine Möglichkeit wäre, dass sich zwei Proteine als Sender und Empfänger an die DNA hefteten, die den Ladungstransport durch die DNA über den kontaktierten Sequenzabschnitt analysieren. Findet das Protein einen veränderten Ladungstransport über die Sequenz, kann es diesen Bereich für ein Protein, das diese Sequenz reparieren kann, markieren. Ein Beispiel für einen möglichen Ablauf ist in Abbildungen 2.22 und 2.23 gezeigt. Durch diesen Mechanismus können größere Bereiche der DNA schneller untersucht werden als wenn nur die von einem Enzym direkt kontaktierte Sequenz untersucht wird, was bei den 2 m (10^9 Basenpaare) langen Strängen der DNA des Menschen, die sich innerhalb eines Tages repliziert, von großer Bedeutung ist [20-21,101]. Ein weiteres Beispiel für einen Reparaturmechanismus ist die Injektion eines Elektrons in durch UV-Strahlung geschädigte DNA, wobei die Enzyme CPD-Photolyase und (6-4)- Photolyase die DNA reparieren [102].

Hartzell *et al.* [103-104] haben λ -DNA mit Disulfid-Gruppen an ihren 3'-Enden funktionalisiert (Abbildung 2.24 unten) und durch ein elektrisches Wechselfeld (10^6 V/m) bei einer Frequenz von 1 MHz über 50 μm breite Elektroden gespannt, die 8 μm weit auseinander lagen (siehe Abbildung 2.24

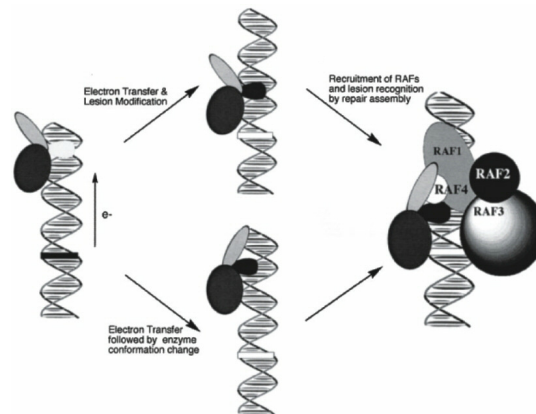


Abbildung 2.23: Eine weitere Möglichkeit, einen Defekt einer Base zu erkennen, deren Redoxpotential verändert ist. Das Enzym bindet an die DNA und kann durch den Defekt eine Ladung erhalten oder abgeben, wodurch entweder der Defekt (oben) durch die Ladungsänderung deutlicher wird oder sich die Konformation des Enzym (unten) ändert. Anschließend wird ein Reparaturprotein aktiviert, das den Defekt behebt [21].

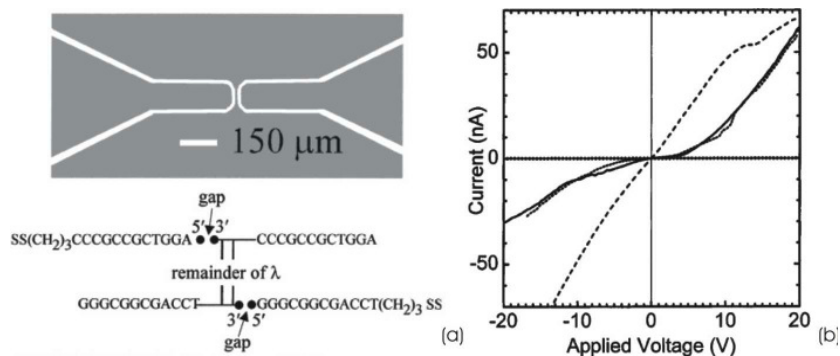


Abbildung 2.24: (a) Oben: Layout der Elektroden. Unten: λ-DNA, die mit Disulfid an den 3'-Enden funktionalisiert wurde und die Sequenz, an der die DNA geschädigt wurde. (b) In der Strom-Spannungskurve erkennt man deutlich die höhere Leitfähigkeit und das ohmsche Verhalten der reparierten DNA (gestrichelte Linie) im Gegensatz zu der geschädigten DNA (bei der gepunkteten Linie wurde die Spannung von - 20 V nach + 20 V durchgefahren, bei der durchgezogenen von + 20 V nach - 20 V) [103] [104].

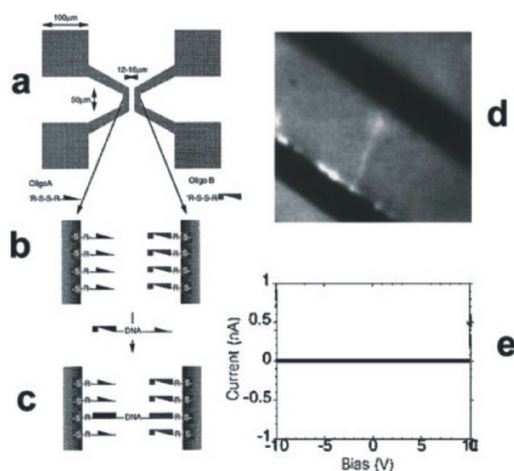


Abbildung 2.25: Braun et. al. haben über einen 12 μm großen Spalt λ -DNA gespannt, wobei kein Strom gemessen wurde. (a) Schematische Darstellung der Elektroden. (b) Funktionalisierte Oberfläche und DNA mit einem Linker. (c) DNA bindet an die Oberfläche. (d) Fluoreszenzbild einer DNA zwischen den Elektroden (e) Die Strom-Spannungs-Kennlinie weist auf einen Isolator hin [105].

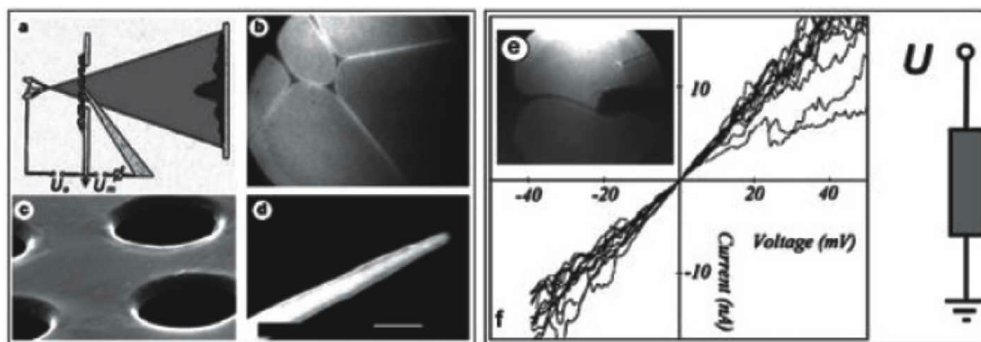


Abbildung 2.26: (a) Schematischer Aufbau eines LEEPS. (b) DNA-Bündel, die über ein 2 μm großes Loch gespannt wurden. (c) Lochplatte. (d) Eine Wolframelektrode. (e) Ein DNA-Bundle wird mit einer Wolframspitze kontaktiert. (f) Strom-Spannungs-Kennlinie einer Messung. [14]

oben). Die Disulfid-Gruppe hat die Eigenschaft, kovalent an die Goldelektroden binden können. Zwischen dem 3'-Ende der λ -DNA und dem 5'-Ende der Disulfid-Gruppen entstand eine Lücke, die durch ein T4-Ligase-Enzym geschlossen werden konnte. Die reparierte DNA zeigte eine ohmsche Leitfähigkeit und war deutlich höher (siehe Abbildung 2.24) als bei der ursprünglichen λ -DNA. Die Strukturen wurden auf p-Silizium, das eine 450 nm hohe Oxidschicht besaß, durch Photolithographie erstellt. Die Elektroden bestanden aus 8 nm Chrom als Haftvermittler und 30 nm Gold als Funktionsschicht, die durch Aufdampfen aufgebracht wurden. Die Strom-Spannungs-Kennlinien wurden bei normalen Umgebungsbedingungen aufgenommen. Die Leitfähigkeit war leicht abhängig von der Luftfeuchtigkeit.

2.3.3 Physikalische Experimente zum Ladungstransport durch DNA

Bei Vergleichen der verschiedenen Experimente muss man die Unterschiede der Elektroden, der Messumgebungen, der DNA Immobilisierung und ihre Struktur beachten [49]. Den ersten Versuch zur Leitfähigkeit von DNA gab es 1962 von D. D. Eley und D. I. Spivey. In diesem Experiment wurde die DNA in eine Zelle gepresst und dort an zwei Seiten kontaktiert [4]. Allerdings stellte sich später heraus, dass sich mobile Ladungsträger aus der eisähnlichen Wasserschicht stammen, die sich um die DNA herum befindet [17]. Die erste Strom-Spannungs-Messung an einem einzelnen DNA-Strang wurde 1998 von Braun *et al.* [105] veröffentlicht (siehe Abbildung 2.25). Bei diesem Experiment wurde eine 16 μm lange λ -DNA über einen 12 μm Spalt gespannt, bei dem kein signifikanter Strom bis zu einer Spannung von 10 V gemessen wurde.

Fink *et al.* (siehe Abbildung 2.26) spannten 1999 λ -DNA-Bündel über ein 2 μm großes Loch in einer Metallplatte, welche dann mit Hilfe einer Elektronen-Punktquelle (Low-Energie Electron Pointsource - LEEPS) auf einem Schirm als Beugungsbild sichtbar gemacht werden konnte. Mit einer Wolframspitze konnten die λ -DNA-Bündel geschnitten und so kontaktiert werden, dass man zwischen Spitze und Metallplatte eine Spannung anlegen konnte. Bei der Strom-Spannungs-Messung fand man ein ohmsches Verhalten der DNA in einer Größenordnung von 2,5 M Ω bei 600 nm langen Bündel [14].

De Pablo *et al.* (siehe Abbildung 2.27) haben λ -DNA dicht auf einem Glimmersubstrat gestreckt und anschließend mit einer Schattenmaske mit Gold

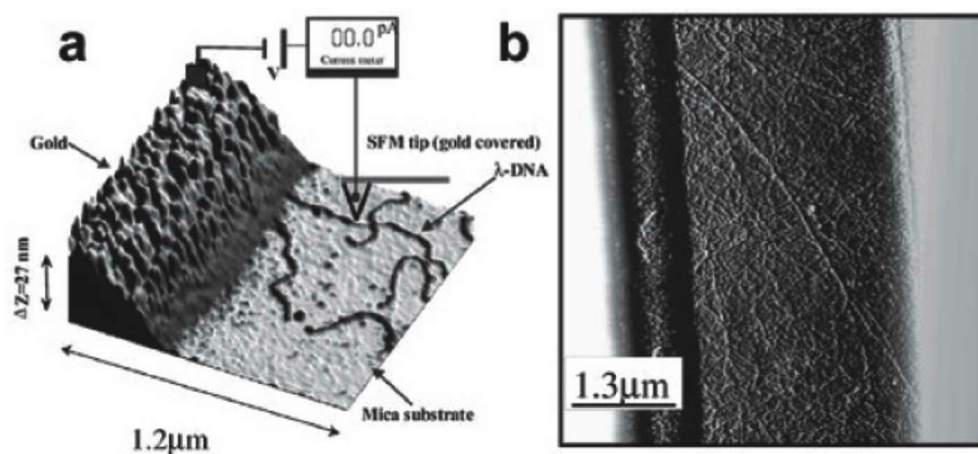


Abbildung 2.27: (a) AFM-Bild einer DNA auf einem Glimmersubstrat, das mit einer Goldschicht bedampft wurde und anschließend mit einer metallischen AFM-Spitze kontaktiert wurde. (b) AFM-Bild eines dichten DNA-Netzwerks [15].

bedampft. Eine mit Gold bedampfte AFM-Spitze wurde in einem Abstand von 70 nm von der Goldkante als Gegenelektrode benutzt. Bei den anschließenden Messungen wurde kein Strom über 1 pA gefunden. Nach der Messung wurde die Probe einem Elektronenstrahl, dessen Elektronen eine Energie von ca. 100 eV (10 A/m^2 , 10 min) hatten, ausgesetzt. Bei der anschließenden Messung der Strom-Spannungskurve zeigte sich ein deutlich metallisches Verhalten der Probe, bei einem Widerstand von ca. $2 \times 10^8 \Omega$. Daher gehen weshalb De Pablo *et al.* davon aus, dass bei der Messung von Fink *et al.* [14] die Elektronen die Karbonwasserstoffe aus dem Restgas aufgebrochen sind und so die DNA manipuliert haben [15].

Eine 30 Basenpaare ($10,4 \text{ nm}$) lange Poly(dG)-Poly(dC)-dsDNA haben Porath *et al.* (siehe Abbildung 2.28) zwischen zwei Platin-Elektroden gespannt und anschließend bei Temperaturen zwischen 4 K und 300 K halbleiterartiges Verhalten mit $0,5 \text{ V}$ bis 1 V großen Plateaus gefunden. Die Messungen wurden im Vakuum und bei tiefen Temperaturen durchgeführt, um Ionenleitung auszuschließen. Die Ergebnisse ließen sich gut reproduzieren [106].

In der gleichen Arbeitsgruppe fanden Storm *et al.* (siehe Abbildung 2.29) keine Stromleitung durch dsDNA(Poly(dG)-Poly(dC)-dsDNA,

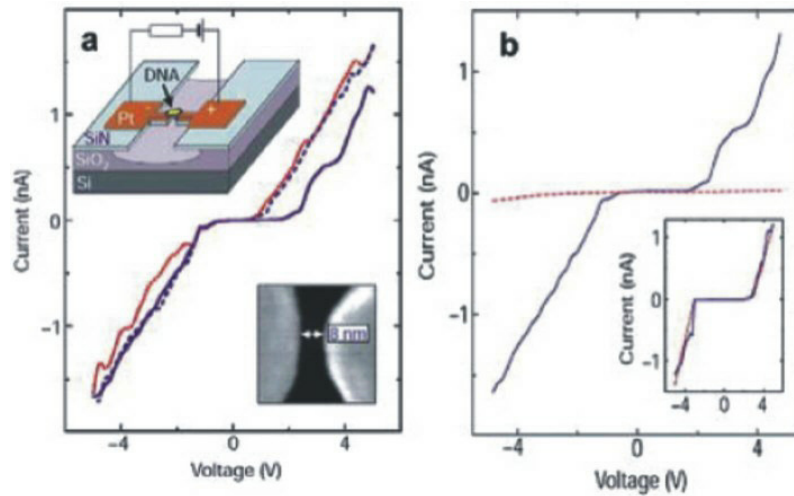


Abbildung 2.28: (a) Ein 10,4 nm langes DNA-Molekül wird durch ein elektrisches Feld zwischen zwei Elektroden, die 8 nm weit auseinander liegen, gefangen. Die Strom-Spannungskurve weist auf einen Halbleiter hin. (b) Strom-Spannungs-Linie eines DNA-Moleküls, das zwischen den Elektroden gefangen wurde. Anschließend wurde die DNA mit einem DNase I Enzyme geschnitten, worauf kein Strom mehr gemessen werden konnte [106].

Poly(dT)-Poly(dA)-dsDNA, λ -DNA) für Metallelektroden, die größer als 40 nm waren, in einer trockenen Stickstoffatmosphäre. Bei der normalen Feuchtigkeit der Raumluft wurde ein Widerstand von 1 T Ω gefunden [107].

λ -DNA wurde von Kasumov *et al.* (siehe Abbildung 2.30) über Rhenium-Kohlenstoff-Elektroden, die auf ein Glimmersubstrat aufgedampft wurden, gespannt. Die Messungen wurden bei verschiedenen Temperaturen durchgeführt, wobei ab Temperaturen unter 1 K durch Nahwechselwirkungen (Proximity-Effekt) Supraleitfähigkeit gefunden wurde [108].

Die gleiche Gruppe hat in einem weiteren Experiment (siehe Abbildung 2.31) mit einem Rastertunnelmikroskop und mit einem leitfähigen AFM DNA, die über eine Goldkante gestreckt wurde, vermessen und auch dort leitfähige DNA gefunden. Kasumov *et al.* erklären das damit, dass die DNA durch Aufbringen eines Pentylamin-Molekülfilm, an dessen Molekülende sich ein NH₃⁺-Rest befindet, die hydrophoben Merkmale der DNA so schwächt, dass auf einem Glimmersubstrat die DNA 2,4 nm hoch ist [109].

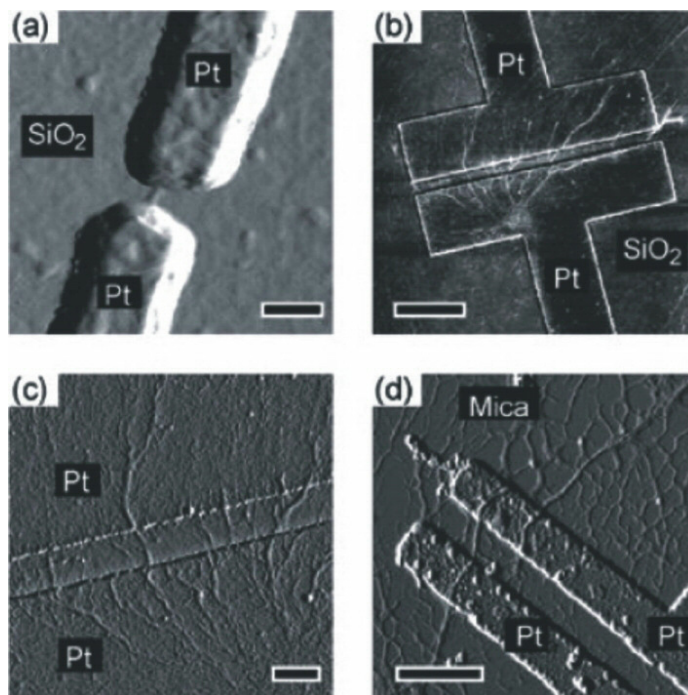


Abbildung 2.29: AFM-Bilder von verschiedenen Strukturen mit DNA, bei denen keine Leitfähigkeit gefunden wurde [107].

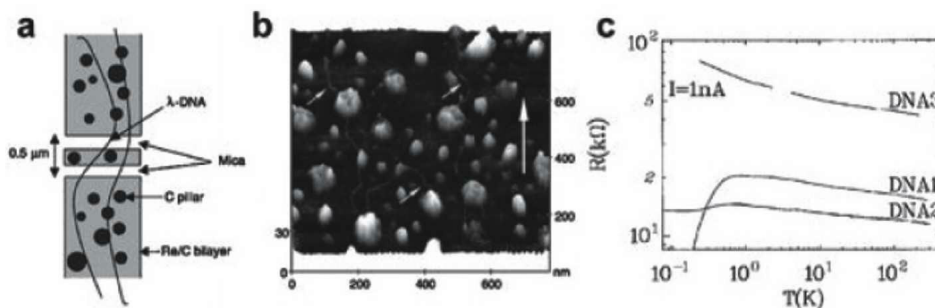


Abbildung 2.30: (a) Schematische Zeichnung einer Probe. (b) AFM-Bild von DNA-Molekülen auf einer Re/C-Schicht (c) Messung der Widerstände von einzelnen und mehreren DNA-Molekülen in Abhängigkeit von der Temperatur [108].

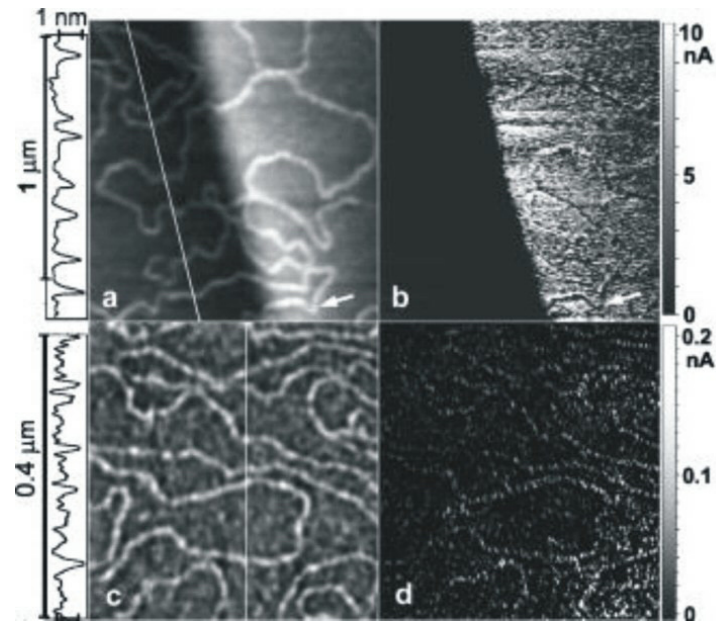


Abbildung 2.31: (a) AFM-Abbildung von DNA über einer Platinkante, ohne Pentamin auf einem Glimmersubstrat. (b) Strombild, aufgenommen von einem AFM mit einer leitfähigen Spitze. DNA ist ein Isolator. (c) AFM-Abbildung von DNA auf einem Substrat, auf dem Pentylamini aufgebracht wurde. (d) Strombild der gleichen DNA von einem AFM mit einer leitfähigen Spitze. [109].

Guckenberger *et al.* [111] entwickelten eine Technik, mit der DNA und andere Biomoleküle durch ein STM (Rastertunnelmikroskop; Scanning Tunneling Microscope) bei geringen Tunnelströmen (0,05 pA bis 1 pA) abgebildet wurden, indem man den Faraday Effekt des aus der Luftfeuchtigkeit auf der Probe kondensierten Wasserfilms, ausnutzte. In Abbildung 2.32 (a) erkennt man Plasmid DNA über einer Platin-Kohlenstoffelektrode. Dabei fanden sie, für DNA isolierendes Verhalten, bei dem vermutlich eine andere Wasserstruktur die Leitfähigkeit, im Gegensatz zu der des Glimmers, heruntersetzt. Um den Einfluss der relativen Luftfeuchtigkeit auf der Oberfläche zu untersuchen, wurde eine Spitze in der Mitte eines auf einem Glimmersubstrat aufgedampften Platin-Kohlenstoffringes, der einen Durchmesser von 0,3 mm hatte, in das Substrat gerammt. Bei den anschließenden Messungen wurde

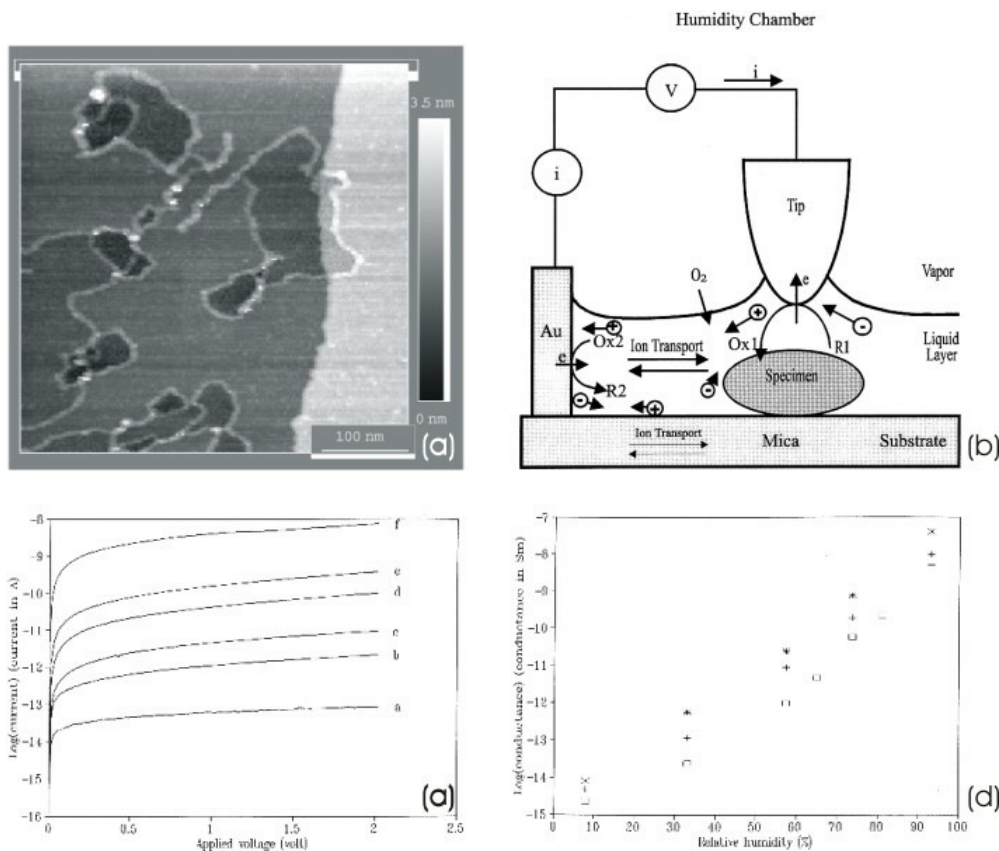


Abbildung 2.32: (a) Plasmid-DNA wurde auf einem Glimmersubstrat, das mit einer Schattenmaske mit Gold bedampft wurde, immobilisiert und anschließend mit einem STM bei einer Luftfeuchtigkeit von 66 % abgebildet. Der Tunnelstrom betrug 0,25 pA bei einer Spannung von - 2,5 V [111]. (b) Modell für Leitfähigkeit durch Wasserfilme. Eine STM-Spitze über einem Molekül, das auf einem Glimmersubstrat immobilisiert wurden. Die Ladungsträger werden durch elektrolytische Reaktionen an der Oberfläche und an den Elektroden gebildet. R und Ox stehen in der Darstellung für die Reduktion und Oxidation des Elektrolyten. (c) Messung von Strom-Spannungslinien von einer STM-Spitze, die sich in einem Abstand von 1 mm von einer Goldelektrode befand, bei verschiedenen relativen Luftfeuchtigkeiten. a: 33 % b: 58 %, c: 65 %, d: 74 %, e: 81%, f: 93%. Kurvenform, Offset und Leitfähigkeit (d) zeigen das gleiche Verhalten wie die Proben, die in Kapitel 4.3.2 besprochen wurden. Die Vierecke in (d) stehen für destilliertes Wasser, Kreuze für einen Phosphatpuffer und Sterne für einen Tris/EDTA- Puffer. [112]. (e) Strom-Spannungs-Kurve mit einer STM-Spitze, die in die Probe gefahren wurde. Ab einer bestimmten Spannung kann es zu elektrochemischen Reaktionen mit den Elektroden kommen [114].

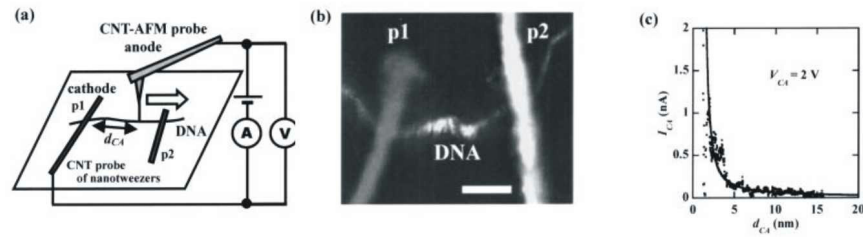


Abbildung 2.33: (a) Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus. P1 und P2 sind Carbon Nanotubes, von denen P1 als Elektrode benutzt wurde. Als Gegenelektrode wurde eine Carbon Nanotube, die an einer AFM-Spitze befestigt wurde, benutzt. (b) AFM-Abbildung einer DNA zwischen zwei Carbon Nanotubes. Der Balken hat eine Größe von 10 nm. (c) Abhängigkeit der gemessenen Ströme vom Abstand [116].

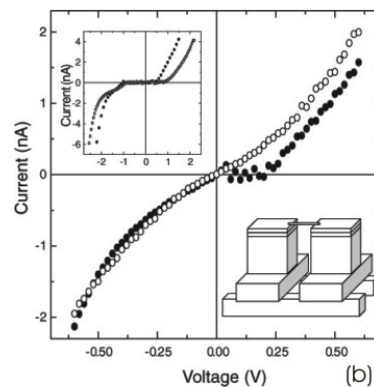
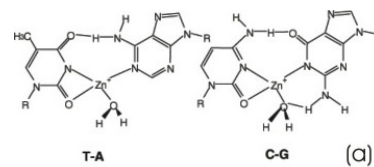


Abbildung 2.34: (a) Schema der Basenpaare einer M-DNA, bei der an der Position N3 das Thymin und an der Position N1 von Guanin die Wasserstoffatome durch Zn^{+} Ionen ersetzt wurden. (b) Strom-Spannungskennlinie eines Bündels von M-DNA (offene Kreise) und B-DNA (geschlossene Kreise) über Elektroden, die $10 \mu\text{m}$ weit auseinander lagen (Schema unten rechts). Oben links: Strom-Spannungskennlinie einer Messung im Vakuum [117].

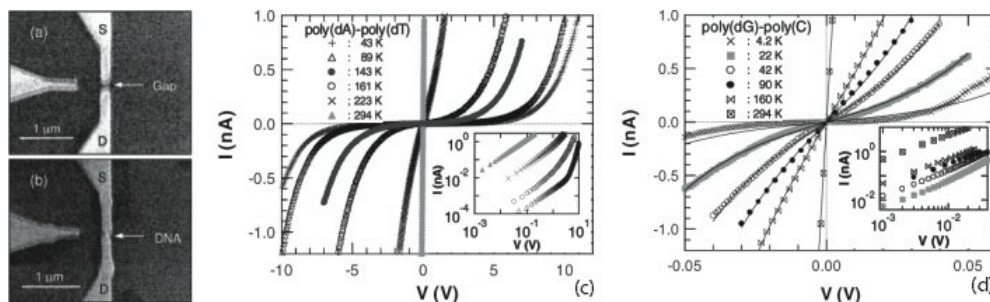


Abbildung 2.35: (a) REM-Aufnahme einer Au/ Ti-Elektrode. (b) Die gleichen Elektroden, zwischen denen ein Poly (dG) - Poly(dC)-Molekül kontaktiert wurde. Strom-Spannungs-Kennlinien für (c) Poly (dA) - Poly (dT) und (d) Poly (dG) - Poly (dC) Moleküle, bei denen man eine deutliche Halbleiterkennlinie erkennen kann. Die kleinen Bilder sind mit einer doppelt logarithmischen Skala gedruckt [118].

eine exponentielle Abhängigkeit des Stroms der zwischen Spitze und Goldring fließt und der relativen Luftfeuchtigkeit gefunden. Die Größe der Leitfähigkeit konnte über einen längeren Zeitraum bei der gleichen Probe variieren. Auch die Oberflächenbeschaffenheit und -funktionalisierung hatte auf die Leitfähigkeit einen großen Einfluss, so war beispielsweise die Leitfähigkeit einer Probe nach der Behandlung der Oberfläche von Glimmer durch eine Glimmentladung deutlich höher. Dieses könnte der Grund sein, warum Kasumov *et al.* ohne ihre Oberflächenbehandlung durch eine Glimmentladung in Anwesenheit von Pentylamin keine DNA mit dem STM beobachteten, da die Ströme ohne Oberflächenbehandlung zu gering waren. Die Leitfähigkeit ist also abhängig von der Höhe und der Struktur des Wasserfilms auf der Oberfläche. Guckenberger *et al.* vermuteten, dass es sich bei den Ladungsträgern, die diesen überraschend hohen Strom zeigten, um Protonen handelt, die beispielsweise durch einen Hüpfmechanismus entlang der Wasserstruktur geleitet wurden. In Abbildung 2.32 (b) wird eine Spitze in einem Wasserfilm gezeigt, die an Redox- und Oxidationsprozessen beteiligt ist. Fan *et al.* behaupten im Gegensatz zu Guckenberger *et al.*, dass sich die STM-Spitze im Wasserfilm befindet. Die gleiche Gruppe fand eine Abhängigkeit der Form des Offsets und der Leitfähigkeit der Stromspannungslinie zwischen einer Goldkante und einer 1 mm entfernten STM-Spitze, wie sie auch in Kapitel 4.3.2 besprochen wird (siehe Abbildung 2.32 (c) und (d)). In beiden

Veröffentlichungen wurden die Leitfähigkeiten und kapazitiven Effekte durch elektrolytische bzw. Protonenleitung des Wassers begründet [111-115].

Zwei Carbon Nanotubes wurden in einem Abstand von 20 nm auf einer Oberfläche so deponiert, dass sie über einem DNA-Strang lagen und anschließend kontaktiert wurden (siehe Abbildung 2.33). Ein Carbon Nanotube an einer AFM-Spitze wurde als dritte Elektrode benutzt. Shigematsu *et al.* haben dann an eine der beiden Nanotubes auf dem Substrat und an den Nanotube an der AFM-Spitze eine Spannung von 2 V angelegt und dabei für den Strom eine exponentielle Abhängigkeit für Abstände von 2 nm bis 20 nm gemessen. Als an beide Nanotubes auf dem Substrat eine Spannung angelegt wurde, konnte kein Strom gemessen werden [116].

Rakitin *et al.* (siehe Abbildung 2.34) haben ein λ -DNA Bündel über eine sehr hohe Elektrode gespannt, die zwischen 1 μm und 30 μm weit auseinander lagen. Für normale λ -DNA fanden sie ein Halbleiterplateau von einer Größe von 0,5 V. Wenn die DNA mit einem zusätzlichen Metallion pro Basepaar modifiziert wurde, zeigte die Strom-Spannungs-Kurve fast schon metallische Eigenschaften [117].

Im Experiment von Yoo *et al.* (siehe Abbildung 2.35) wurden mehrere Poly(dG)-Poly(dC) und Poly(dA)-Poly(dT) Moleküle über eine 20 nm große Elektrode gleichzeitig gespannt. Durch eine dritte Gate-Elektrode konnte die Leitfähigkeit beeinflusst werden. Das System zeigte eine Halbleiterkennlinie, deren Leitfähigkeit temperaturabhängig war [118].

M. Bockrath *et al.* haben mit einem AFM die elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen einer Oberfläche mit λ -DNA untersucht und dabei festgestellt, dass sich DNA (bis 1,5 nm hoch) wie ein Isolator verhält [119].

Ströme von 0,01 nA bis 0,1 nA finden Lee *et al.* (siehe Abbildung 2.36) in einem sehr dichten DNA-Film über Elektroden, die 200 nm weit auseinanderlagen. Wurde ein Gasgemisch aus Sauerstoff und Stickstoff in die Meszkammer eingelassen, stiegen die Ströme stark an. Poly (dG)-Poly (dC) zeigt beim Einlassen von Sauerstoff nicht nur höhere Ströme als Poly (dT)-Poly (dA), sondern auch Eigenschaften eines p-Halbleiters, während Poly (dT)-Poly (dA) die Eigenschaften eines n-Halbleiters zeigt. Lee *et al.* erklären dieses damit, dass die DNA mit dem Sauerstoff dotiert wird. Im Vakuum werden keine signifikanten Ströme gemessen [120].

Otsuka *et al.* (siehe Abbildung 2.37) überzogen Elektroden, die 100 nm weit auseinander lagen, mit einem dicken Film von Poly (dG)-Poly (dC) oder Poly

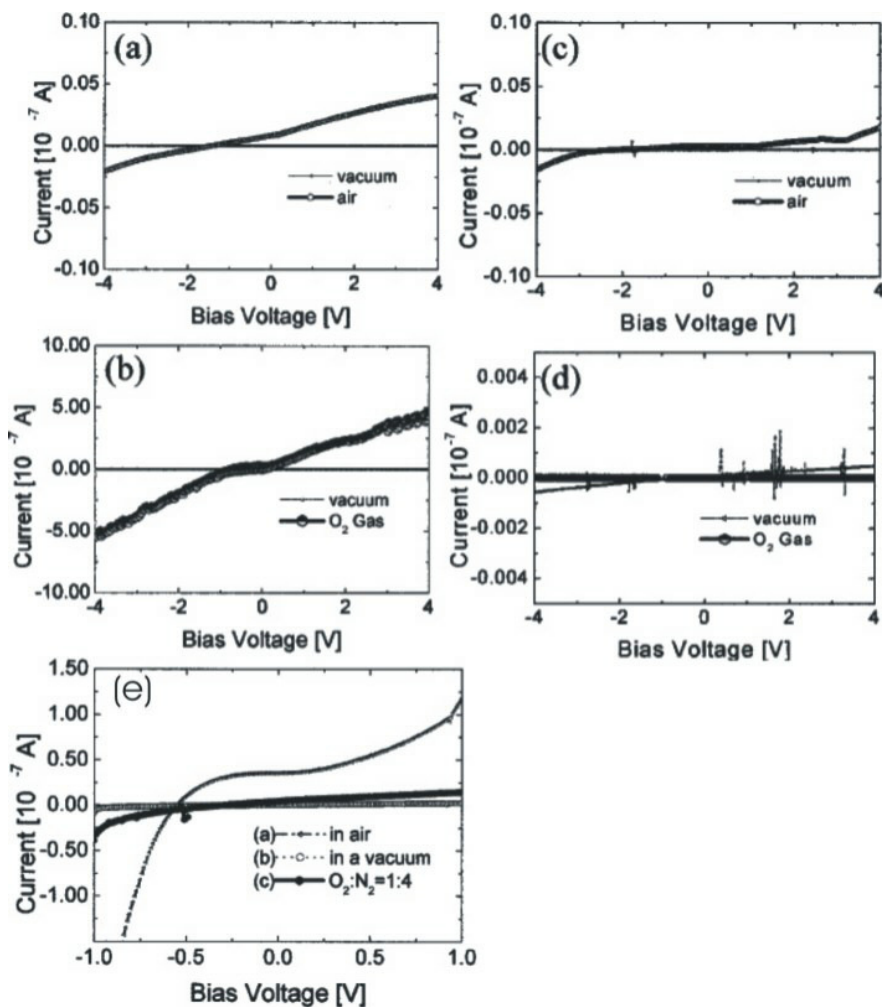


Abbildung 2.36: (a) Strom-Spannungskennlinien für einen Poly (dG)-Poly (dC)-Film über einem 200 nm breiten Spalt gelegt an Luft, im Vakuum und einem Sauerstoff/ Stickstoff Gemisch. (b) Kennlinie für Poly (dG)-Poly (dC) an Luft und Vakuum. (c) Kennlinie für Poly (dT)-Poly (dA) an Luft und Vakuum. (d) Kennlinie für Poly (dG)-Poly (dC) an Sauerstoff und Vakuum. (e) Kennlinie für Poly (dT)-Poly (dA) an Sauerstoff und im Vakuum. [120].

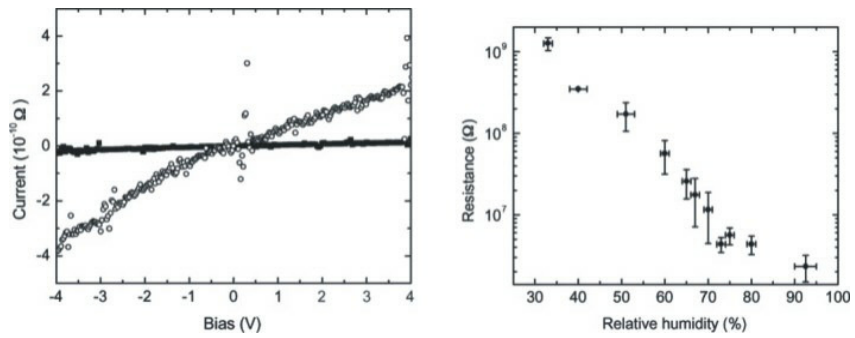


Abbildung 2.37: (a) Typische Strom-Spannungskurve für eine Messung von Poly (dG)-Poly (dC). (b) Exponentielle Abhängigkeit des Widerstandes von der relativen Feuchtigkeit [121].

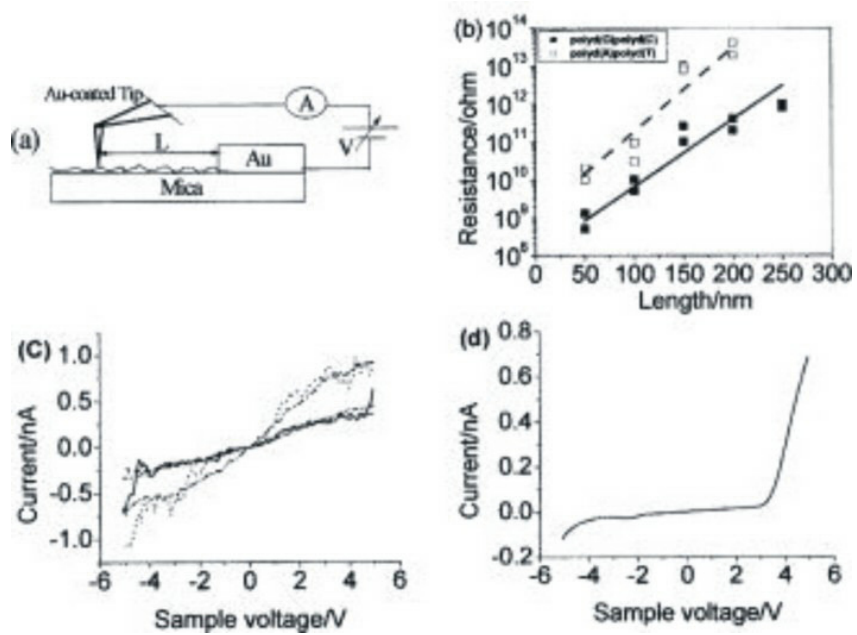


Abbildung 2.38: (a) Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus. Eine mit Gold bedampfte Spitze von einem AFM kontaktiert einen DNA-Film. (b) Exponentielle Abhängigkeit des Widerstandes von Poly (dG)-Poly (dC) und Poly (dA)-Poly (dT) vom Abstand einer Goldelektrode. (c) und (d) Typische Strom-Spannungskurven für einen Abstand von 100 nm [122].

(dA)-Poly (dT) und fanden dabei einen Widerstand der exponentiell von der Feuchtigkeit abhing [121].

Cai et al. (siehe Abbildung 2.38) aus der gleichen Arbeitsgruppe erzeugten einen Film aus Poly (dG)-Poly (dC) oder Poly (dA)-Poly (dT) über Goldelektroden. Mit einer Gold bedampften Spitze wurden Strom-Spannungskennlinien in verschiedenen Abständen gemessen. Der Widerstand stieg exponentiell mit der Entfernung von der Goldkante an [122].

Kapitel 3

Material und Methoden

3.1 Das Rasterkraftmikroskop

3.1.1 Aufbau

Mit Rasterkraftmikroskopen (AFM, Atomic Force Microscope) ist es möglich Oberflächen mit atomarer Auflösung abzubilden. Bei einem Rasterkraftmikroskop wird eine feine Spitze (Radius < 10 nm), die an einem langen Federbalken hängt, mit piezoelektrische Stellelemente im Nahfeld rasterartig über die Probe geführt (siehe Abbildung 3.1(b)). Die Auslenkung des Federbalkens ist proportional zur auf ihn wirkenden Kraft, was mit dem Hook'schen Gesetz beschrieben werden kann und wird durch einen elektronischen Regelkreis konstant gehalten. Um die Proben zu charakterisieren und die DNA über den Strukturen zu kontrollieren wurde ein kommerzielles Rasterkraftmikroskop (AFM, Atomic Force Microscope, Nanoscope IIIA, Multimode, Veeco Instr., USA) mit Siliziumkraftsensoren (NCH-0, Nanosensors, D) mit Resonanzfrequenzen um 300 kHz benutzt.

Ein Laserspot, der auf den Federbalken justiert ist, kann diese Auslenkung mit Hilfe einer Viersegmentdiode detektieren (siehe Abbildung 3.1(a)). Über einen Regelkreis wird wieder ein Signal auf den Piezokristall, der für die Höhe verantwortlich ist, gegeben. Hat der Federbalken die ursprüngliche Auslenkung (Set Point) wieder erreicht, wird die Probe gegenüber der Spitze um einen Rasterpunkt verschoben. Da die Höhenänderung bei einer angelegten Spannung bekannt ist, kann man mit Hilfe eines Computers die einzelnen Rasterpunkte zu einer Topographie zusammenstellen [123-126].

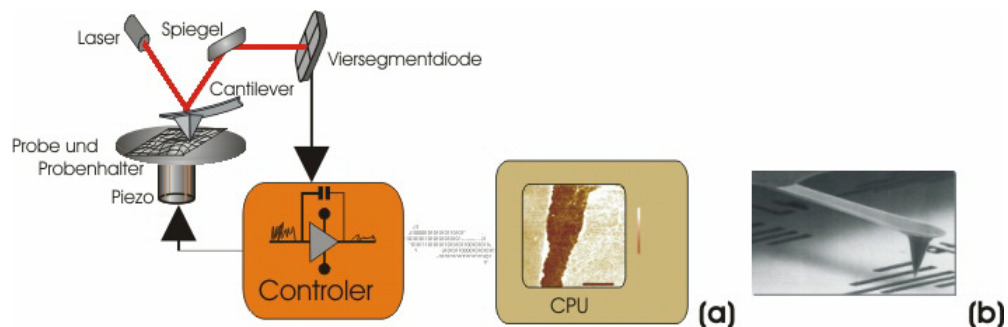


Abbildung 3.1: (a) Schematische Darstellung der Funktionsweise eines Rasterkraftmikroskops (Genaue Beschreibung siehe Text). (b) REM-Aufnahme eines AFM-Cantilevers über einer Probe.

Piezokristalle sind nicht leitende Kristalle, deren Ionen sich in der Einheitszelle unter mechanischem Druck oder einem elektrischen Feld nicht symmetrisch verschieben, wodurch in der Zelle ein Dipol entsteht. Ein von außen angelegtes elektrisches Feld kann die Einheitszelle und somit den ganzen Kristall quasi beliebig fein mechanisch verformen, so dass mit diesem piezoelektrischen Stellelement eine extrem genaue Positionierung bei vergleichsweise schweren Lasten erlaubt ist (Abbildung 3.2).

3.1.2 Messfunktionen

Kontakt Modus

Der Kontakt Modus (Contact Mode) war die erste realisierte Form des Rasterkraftmikroskops, bei dem eine feine Spitze so in die Probenoberfläche gedrückt wird, dass repulsive Kräfte wirken und der Federbalken verbogen wird [127]. Die Spitze wird so über die Probe geführt, dass immer die gleiche Verbiegung des Cantilevers besteht, also mit einer konstanten Kraft die Probe untersucht wird [123-126].

Nicht-Kontakt-Modus

Da es bei weichen Proben durch die auftretenden Reibungs- oder Lateralkräfte zu irreversiblen Veränderungen der Probenoberfläche kommen kann, wurde ein Verfahren entwickelt, bei dem die Spitze die Probe nicht berührt.

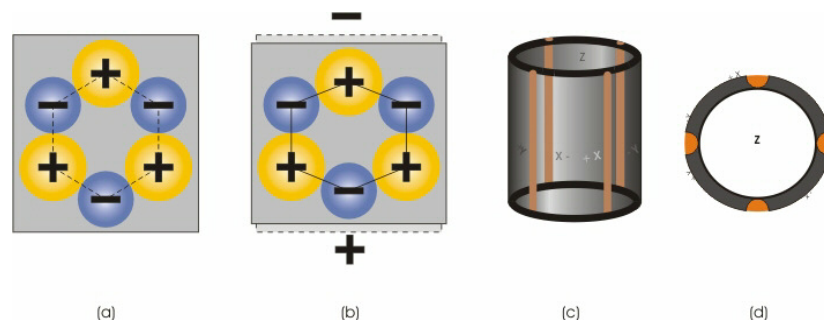


Abbildung 3.2: Funktionsweise eines Piezokristalls: (a) Ein neutraler Quarzkristall, bei dem keine Polarisation vorhanden ist. (b) Beim Anlegen einer Spannung entsteht eine Polarisation im Piezokristall, die zu einer mechanischen Spannung führt. (c) Durch Anlegen einer Spannung zwischen der Innenelektrode und den vier äußeren Elektrodensegmenten kann der Tubepiezo in z-Richtung expandiert oder kontrahiert werden. Wird nur eine Spannung zwischen einem Segment und der Innenelektrode angelegt, so wird der Scanner nur in eine Richtung (x oder y) bewegt. (d) Aufsicht auf einen Tubepiezo.

Beim Nicht-Kontakt-Modus (Non-Contact Mode) wird der Federbalken mit Hilfe eines im Spitzenhalter befindlichen Schwingquarzes angeregt. Wird die Spitze in einem Abstand von 2 nm bis 200 nm so über die Oberfläche geführt, dass sie die Oberfläche nicht berührt, kommt es zu langreichweitigen Wechselwirkungen, meist zu van-der-Waals Kräften (ca. 10^{-13} N). Je nach Spitzenmaterial können es aber auch magnetische oder elektrostatische Kräfte sein, die die Resonanzfrequenz beeinflussen (siehe Abbildung 3.3 (c)). Van-der-Waals Kräfte sind dadurch charakterisiert, dass es sich um anziehende Kräfte, während im Contact Mode die repulsiven Kräfte wichtig sind.

Durch die relativen Bewegungen der Elektronen gegenüber dem Kern entsteht ein sich zeitlich änderndes Dipolmoment in Atomen und Molekülen, das bei ihren Nachbaratomen wiederum ein Dipolmoment induzieren kann. Diese Wechselwirkung, die man van-der-Waals Kraft nennt, fällt bei kleinen Abständen (r) mit r^{-6} , bei größeren mit r^{-7} ab. Da sowohl Spitze und Probe ausgedehnt sind, müssen alle Kräfte zwischen den Atomen aufsummiert werden, so dass sich für eine Kugel mit dem Radius R im Abstand r über einem Halbraum ein Potential ergibt, das mit r^{-1} abfällt. Befindet sich die Spitze weit von der Oberfläche entfernt, so schwingt der Federbalken mit seiner

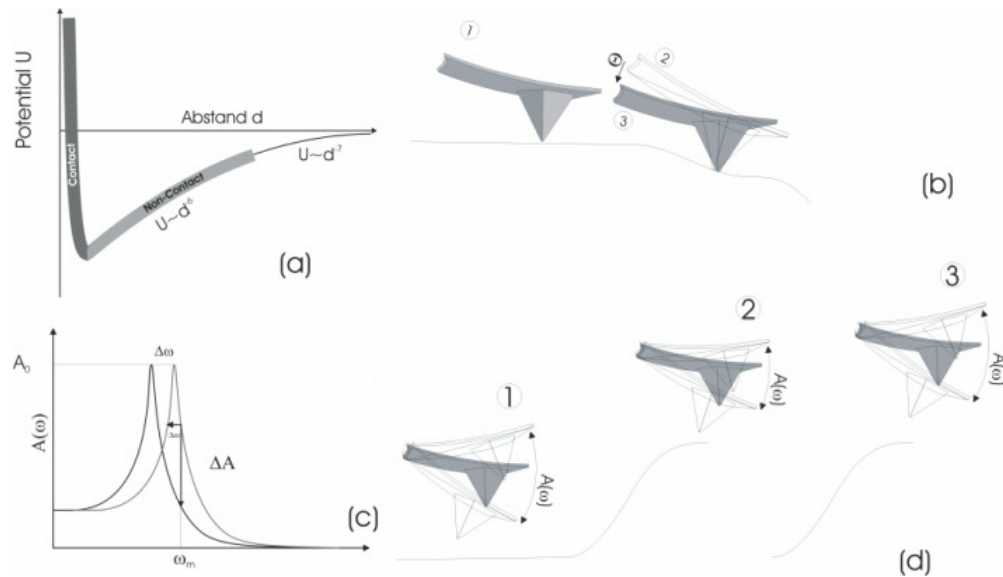


Abbildung 3.3: (a) Kurve für das Potential zwischen Spitze und Probenoberfläche. (b) Prinzip des Contact Mode. (c) Abhängigkeit der Schwingungsamplitude eines Cantilevers von der Frequenz. (d) Prinzip des Non-Contact Mode

Eigenfrequenz (ω_0). Nähert man die Spitze der Probe, so überlagern sich das harmonische Potential der Feder und das van-der-Waals Potential, so dass sich die Schwingungsfrequenz zu kleineren Frequenzen (ω_f) verschiebt und die Amplitude gedämpft wird. Wählt man die Anregungsfrequenz (ω_m), so dass $\omega_m > \omega_f$ gilt, fällt mit Verringerung des Abstandes von Spitze und Probe mit $\omega_m = \omega_f$ die Amplitude ab. Damit ist sie ein Maß für den Abstand zwischen Probe und Spitze. Die Spitze wird in einem Abstand von ca. 5 nm über die Probe geführt [123-125].

Tapping Mode

Wenn man in normaler Raumluft mit dem AFM arbeitet, bildet sich immer einen Wasserfilm auf der Probenoberfläche. Damit die Kapillarkraft die Spitze nicht zu stark beeinflusst, benutzt man beim Tapping Mode steifere Cantilever. Die Amplitude des Cantilevers kann bis zu 100 nm betragen, so dass die Spitze immer nur bei den kurzen Schlägen auf die Oberfläche mit

ihr wechselwirkt. Wegen der kurzen Wechselwirkungszeit werden die Lateralkräfte stark reduziert [128]. Beim Aufschlagen der Spitze auf die Oberfläche kommt es durch die Kräfte zu einer Veränderung der Schwingungsamplitude, mit einer Phasenverschiebung. So sind Rückschlüsse auf die Höhenänderung des Piezokristalls möglich. Da hier die Kräfte zwischen der Spitze und der Probenoberfläche eine größere Rolle spielen, machen sich materialspezifische Wechselwirkungen stärker bemerkbar. Oft lassen sich aus den Phasenverschiebungen besser erkennen kann als im normalen Höhenbild [123-125]. In dieser Arbeit wurden alle Bilder im Tapping Mode erstellt.

3.1.3 Artefakte

Einfluss der Spitzengeometrie

Da die Spitze eines AFM nicht unendlich schmal und scharf ist, ist das entstehende Bild mathematisch gesehen eine Faltung zwischen der Oberflächentopographie und der Spitzengeometrie (Convolution). Auf sehr flachen Substraten können beispielsweise scharfe Gegenstände die Spitze abbilden. So ist in AFM-Bildern die Breite R_{Abb} von DNA nicht $R_{DNA} = 2,3$ nm sondern ca. 10 nm, also genauso breit wie der Spitzenradius R_{Tip} (siehe Abbildung 3.4) [125]. Für die Breite der Spitze gilt die Beziehung

$$W = 4\sqrt{R_{DNA}R_{Tip}} \quad [128-129]. \quad (3.1)$$

Im Contact Mode ist die Convolution zusätzlich von der Luftfeuchtigkeit abhängig [130].

Doppelspitze

Ein weiteres Problem, das durch die Faltung zwischen der Spitze und der Oberfläche entstehen kann, sind Mehrfach- oder Doppelspitzen, die beispielsweise durch Brechen bei mechanischem Kontakt mit der Oberfläche oder durch Auflesen von Molekülen entstehen können. Beim Abbilden entstehen dadurch Doppelbilder (siehe Abbildung 3.4 (b)) [125].

Adhäsionkräfte durch Wasserfilme

Nicht nur auf der Oberfläche der Probe, sondern auch auf der Spitze des Cantilevers kann ein Wasserfilm kondensieren. Beim Tapping Mode kostet das

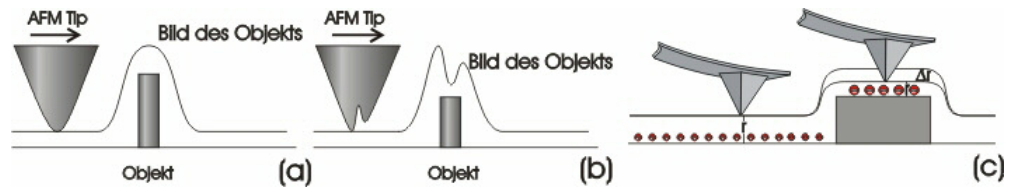


Abbildung 3.4: (a) Da eine AFM-Spitze eine reale Ausdehnung hat, wird ein kleines scharfes Objekt verzerrt dargestellt. (b) Eine Doppelspitze kann einen Gegenstand verfälscht darstellen. (c) Durch elektrostatische Wechselwirkungen kann die Messung von Abständen zur Oberfläche verfälscht werden.

Durchschlagen des viskosen Wasserfilms durch die Spitze jedes Mal Energie, was zu einer zusätzlichen Dämpfung führt. Unterschiede bei den Adhäsionskräften, z. B. durch unterschiedliche Dicken des Wasserfilms, bewirken eine Modulation der Schwingungsamplitude, was wiederum die gemessenen Höhen im AFM beeinflusst. Oberflächen mit größerer Adhäsion sehen in der Topographie höher aus. Noort *et al.* haben beim Abbilden von DNA bei einer Messung den Set Point immer weiter erhöht und somit die Wechselwirkung mit der Oberfläche verringert, was dazu führte, dass eine ursprünglich 1,5 nm hohe DNA am Ende der Messung wie eine Kerbe im Glimmersubstrat aussah [131]. Im Contact Mode bewirken größere Kräfte, dass abgebildete Moleküle, wie beispielsweise DNA, kleiner erscheinen. Bei geringen Luftfeuchtigkeiten kann ein DNA-Molekül problemlos abgebildet werden. Bei höheren Luftfeuchtigkeiten kommt es zu stärkeren Kapillar-Kräften [133], die so stark werden, dass die DNA beschädigt oder sogar "weggeschnippt" werden kann [130,134]. Die Kraft, die benötigt wird, um eine Spitze aus einer Flüssigkeit zu ziehen, kann in drei Phasen eingeteilt werden (siehe Abbildung 3.5). Bei geringen Luftfeuchtigkeiten (I) existiert nur die van-der-Waals Kraft. Erhöht man die Luftfeuchtigkeit, so kommt man in einen gemischten Bereich (II) aus van-der-Waals und Adhäsionskraft, bei dem sehr viel mehr Kraft aufgewendet werden muss um die Spitze von der Probe wegzubewegen. Die große Änderung kommt durch den entstehenden Wassermeniskus zustande, der bei geringen Luftfeuchtigkeiten nicht existiert, bzw. instabil ist. Bei sehr hohen Luftfeuchtigkeiten gibt es verschiedene repulsive und attraktive Kräfte. Der Kraftaufwand ist nicht mehr so hoch, um die Spitze aus der Lösung zu ziehen. Die Kraft ist stark von den verwendeten Materialien, dem Spitzenradius und der verwendeten Lösung abhängig [133,135-136].

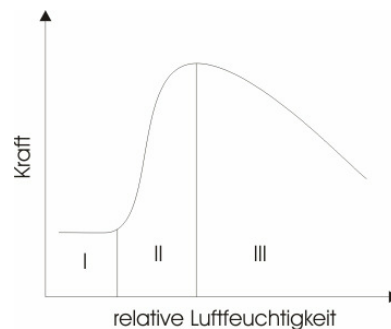


Abbildung 3.5: Abhängigkeit der Kraft, die benötigt wird um eine Spitze aus einem Wasserfilm zu ziehen, von der relativen Luftfeuchtigkeit [133].

Elektrostatische Wechselwirkungen

Viele Oberflächen, die mit einem Feuchtigkeitsfilm überzogen sind, bilden endlich ausgedehnte elektrische Doppelschichten (siehe Abbildung 3.4 (c)). Diese können sich überlappen, wenn zwei Oberflächen nahe genug angenähert werden, was zu einer langreichweitigen elektrostatischen Kraft führt. Bei Biomolekülen hängt die gemessene Höhe also auch von den elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen der Spitze und Oberfläche ab. Si_3N_4 -Spitzen sind unter normalen Bedingungen hydrophob, da sich auf der Spitze Kohlenwasserstoffe aus der Umgebungsluft ablagern. Theoretisch ist der Oxidfilm auf der Si_3N_4 Oberfläche allerdings hydrophil. Experimente haben gezeigt, dass die gemessene Höhe einer Oberfläche bei einer Messung in einer Flüssigkeitszelle von dem pH-Wert und der Ionenkonzentration im Puffer abhängt. Die Wechselwirkungen zwischen hydrophilen und hydrophoben Oberflächen wird in Kapitel 3.4.2 genauer beschrieben. Außerdem variiert die gemessene Höhe auch stark mit den mechanischen Kräften, die an den Cantilever angelegt werden. Bei positiv geladenen Oberflächen nimmt die gemessene Höhe mit steigender Elektrolytkonzentration ab, bei negativ geladenen Biomolekülen nimmt sie gering zu [22,126,137].

Verschmutzte AFM-Spitzen

Beim Abbilden von weichen Proben kann es passieren, dass ein im Tapping-Mode betriebenes AFM die Spitze durch Auflesen von Stoffen von der Oberfläche verunreinigt. Dies kann beispielsweise beim Abbilden von DNA oder

auch von mit APTES beschichteten Oberflächen passieren. Durch diese Moleküle an der Spitze werden die Abbildungen unschärfer, weil die Spitzen breiter werden oder ihre Oberflächenchemie verändern. Diese Verschmutzung an der Spitze kann sich mit der Zeit auch wieder lösen, beispielsweise indem die Abbildungsrichtung geändert wird, die Spitze stärker auf die Probe drückt oder die Spitze ohne Oberflächenkontakt stärker schwingt.

In Abbildung 3.6 sieht man in der oberen Hälfte des Bildes ein DNA-Netzwerk, das durch Auflösen von DNA durch die Spitze in der unteren Hälfte plötzlich unscharf und verschwommen erscheint und das Netzwerk als eine glatte Oberfläche mit Verschmutzung abbildet. Da dieses Problem häufig auftrat, waren dichte Netzwerke zwischen den relativ hohen Elektroden schwer zu erkennen. Bei Abbildungen von DNA ist dieser Effekt von der Luftfeuchtigkeit abhängig. Ab einer relativen Luftfeuchtigkeit von 60 % kommt es zu einer verstärkten Wechselwirkung zwischen Spitze und DNA [128].

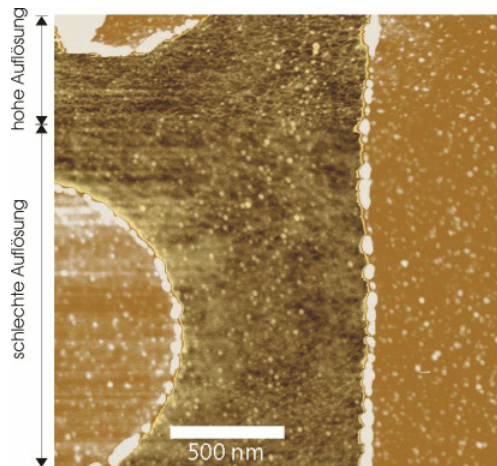


Abbildung 3.6: Beim Abbilden von DNA zwischen Elektroden hatte die AFM-Spitze DNA aufgelöst, weshalb die untere Hälfte des Bildes unscharf erscheint.

Veränderung der DNA beim Abbilden

Durch mechanischen Druck, beispielsweise durch die AFM-Spitze beim Abbilden, den Wassermeniskus an der Spitze, Ionen aus der Lösung und der

Wasserfilm auf der Probe, der stark von der Luftfeuchtigkeit abhängt, können DNA-Moleküle auf einem Substrat aggregieren. Dieser Prozess ist stark von der Luftfeuchtigkeit abhängig [22]. Auch die restlichen Salze, die sich noch auf der Oberfläche befinden, können sich ab bestimmten Luftfeuchtigkeiten lösen und rekristallisieren bzw. die DNA auf der Oberfläche verändern [132].

3.2 Aufbau der Messappatur

Für die Strom-Spannungskennlinien wurde ein Elektrometerverstärker 6517 A von Keithley Instruments und eine digital steuerbare Spannungsversorgung NI 6052E von National Instruments verwendet, die mit einem speziell dafür geschriebenen Labview Programm gesteuert wurden. Mit dem Elektrometerverstärker konnten Ströme mit einer Genauigkeit von 100 nA (10^{-16} A), bei angelegten Spannungen zwischen - 10 bis + 10 V, gemessen werden.

Die Probe wurde in einem Aluminiumgehäuse befestigt, das als Abschirmung gegen äußere elektrische Felder und als Kammer für definierte Atmosphären diente (Bild 3.7). Bei den gemessenen extrem kleinen Strömen reagiert das System sehr empfindlich auf Störungen beispielsweise durch kapazitive Effekte, Leckströme oder Feuchtigkeit an den Kabeln, Kontakten und Oberflächen. Weiterhin können, beispielsweise durch Druck auf die Leitung, piezoelektrische Effekte entstehen, bei denen Ladungen an den Grenzflächen der unterschiedlichen Materialien auftreten. Um diese Schwierigkeiten zu reduzieren, wurden für die Zuleitung zum Elektrometerverstärker spezielle Triaxkabel von Keithley und entsprechende Stecker verwendet. Innerhalb des Messgehäuses wurden lackierte Drähte benutzt, die direkt an die Anschlüsse der Struktur geführt wurden. Dort wurden Drähte und Anschlüsse mit Leitsilber kontaktiert, um möglichst kleine Wechselwirkungen mit den Oberflächen der Probe bzw. des Probenhalters zu gewährleisten. Der Probenhalter wurde auf einem Isolator befestigt damit er keinen Kontakt mit dem Gehäuse hat. Mit diesem Messaufbau konnten Ströme im Bereich von fA reproduzierbar gemessen werden.

Durch Gaseinlass von außen konnte im Messgehäuse eine definierte Atmosphäre aus Argon oder aus einem Stickstoff/ Wasserdampfgemisch eingelassen werden. Für das Stickstoff/ Wasserdampfgemisch wurde Stickstoff einmal durch ein Trockensilikat und einmal über ein Gefäß mit gesättigtem Wasser-

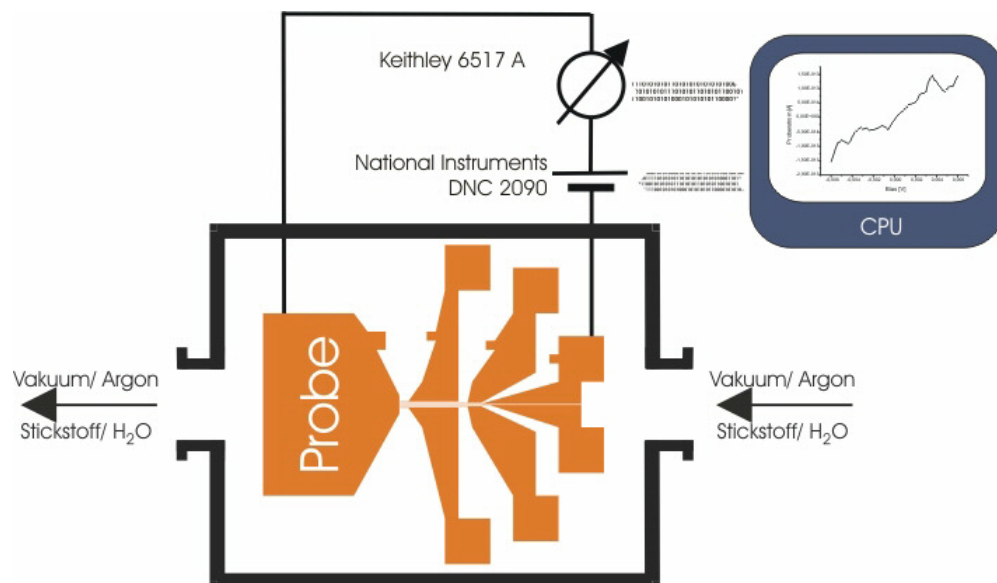


Abbildung 3.7: Schematische Darstellung des Messaufbaus für strukturierte Proben.

dampf in das Messgehäuse geleitet. Beide Zuführungen konnten getrennt geregelt werden, so dass eine definierte Luftfeuchtigkeit im Gehäuse eingestellt werden konnte. Die Strom-Spannungsmessungen wurden gestartet nachdem das Stickstoff/ Wasserdampfgemisch für mehrere Minuten stabil war.

3.3 Strukturierung

3.3.1 Photolacke

Für die Strukturierung der Proben wurden Photolacke benutzt. Diese sind in einem Lösungsmittel gelöste Polymere, die auf die Substrate mit einer Lackschleuder bei hohen Drehzahlen aufgeschleudert (Spin Coating) werden. Anschließend wird das Lösungsmittel aus dem Lack ausgebacken, so dass sich eine photoempfindliche Schicht bildet. Durch UV-Strahlung wird eine Vernetzung der in einer organischen Matrix eingebetteten Moleküle erreicht, so dass sich ihre Eigenschaften gegenüber Lösungsmitteln verändern. In Abbildung 3.8 wird die normierte Resistdicke von Positivlack nach dem Entwickeln

gegenüber der Belichtungsdosis dargestellt. Der Punkt D_0 ist die Dosis, die mindestens nötig ist, um den Lack vollständig zu entfernen. Legt man eine Tangente durch D_0 und eine durch die maximale normierte Resistdicke, so findet man den Schnittpunkt D_1 . Mit D_0 und D_1 wird der Resist-Kontrast durch

$$\gamma = \frac{1}{\log\left(\frac{D_0}{D_1}\right)} \quad (3.2)$$

definiert. Da im Resist Absorption stattfindet, kommt nur 30 % bis 40 % der ursprünglichen Lichtintensität an der Grenzfläche zwischen Lack und Substrat an. Anschließend kommt die Probe in ein Bad mit Entwicklerflüssigkeit, bei dem die belichteten Bereiche herausgelöst werden, wenn man einen Positivresist als Photolack verwendet. Bei Negativresist werden die unbelichteten Bereiche beim Entwickeln gelöst.

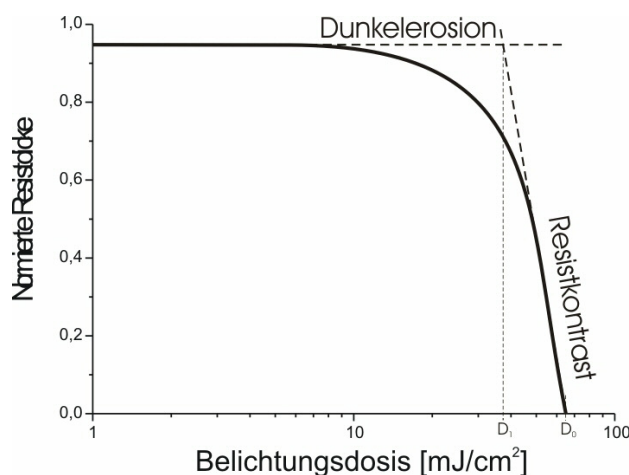


Abbildung 3.8: Abhängigkeit der entwickelten Resistdicke von der Belichtungszeit. Der Schnittpunkt aus den Tangenten der beiden Endpunkte definiert den Punkt D_1 , aus dem mit dem Punkt D_0 der Resist-Kontrast ermittelt wird.

Im Gegensatz zum Positivresist ist belichteter Negativresist im Entwickler unlöslich. Die so gewonnene Struktur im Lack kann als Schutzschicht (Lack-

maske) auf einer Funktionsschicht für anschließende Prozesse wie beispielsweise Argonionenätzen dienen. Alternativ dazu kann eine Funktionsschicht auf die Lackstruktur aufgebracht werden, die nach dem anschließenden Entfernen des Lacks an den Stellen auf der Probe stehen bleibt, wo sich kein Photolack befand (Lift-Off-Prozeß). Für Lift-Off-Prozesse wurde ein spezieller Positivlack entwickelt, dessen Flanken im Lack stark abfallen und einen Unterschnitt haben, um so Verbindungen mit der Funktionsschicht zu verhindern und so das Entfernen des Lackes mit der Schichtstruktur zu erleichtern [138-139].

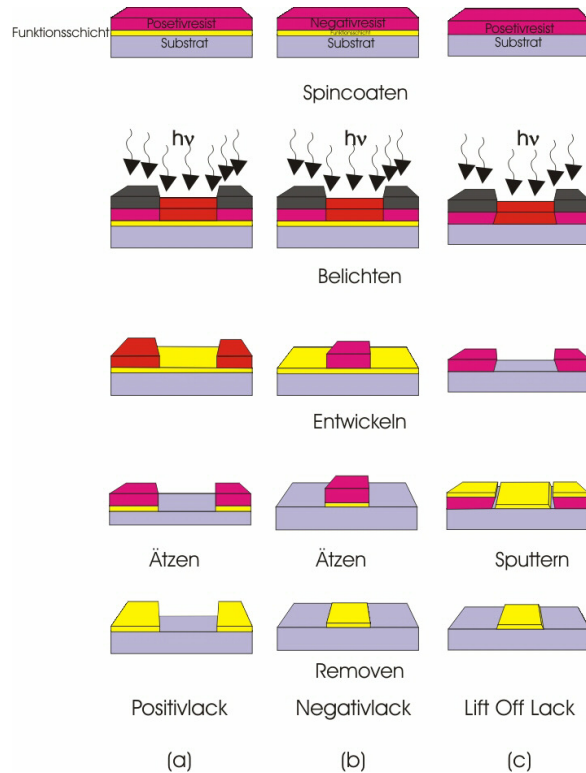


Abbildung 3.9: Unterschiede für die Prozessschritte bei unterschiedlichen Lacken. (a) Positivlack; (b) Negativlack; (c) Lift Off Lack (mit Unterschnitt)

3.3.2 Belichtung

Die Belichtung des Lacks kann durch Kontaktbelichtung mit einer Maske, beispielsweise mit einem Parallelbelichter oder Direktschreiben, z. B. mit einem Laserbelichter oder Raster-Elektronen-Mikroskop (REM), geschehen. Bei der Kontaktbelichtung wird eine Maske, in dieser Arbeit eine Negativmaske (UV-Licht wird an den Stellen durchgelassen, an denen die Funktionsschicht entstehen soll), auf das Substrat mit dem Photolack gelegt und anschließend 1 s lang mit einem Parallelbelichter belichtet. Durch die Öffnung der Maske kann es zur Fresnelbeugung kommen, weshalb der Strukturübertrag in den Lack nicht scharf ist. Durch die Lichtstreuung ist die beste mögliche Auflösung für Objekte A , mit der Wellenlänge und der Resistdicke d , begrenzt auf

$$A = \sqrt{d \cdot \lambda} = \sqrt{10^{-6}m \cdot 200 \cdot 10^{-9}m} = 447nm. \quad (3.3)$$

Das Spektrum der Quecksilberlampe des Parallelbelichter wird in Abbildung 3.10 (b) dargestellt [139][138].

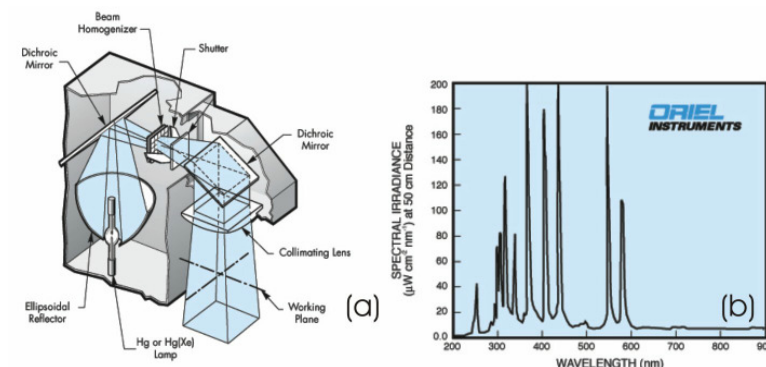


Abbildung 3.10: (a) Schematische Darstellung eines Parallelbelichters. (b) Frequenzspektrum einer Quecksilberlampe.

3.3.3 Beschichtung von Proben

Eine dünne Metallschicht im nm Bereich entsteht auf einer Probe durch Kondensation eines Dampfes aus Atomen, Clustern oder Molekülen, wie beispielsweise beim Aufdampfen (siehe Abbildung 3.11 (a)) oder beim Sputtern (siehe

Abbildung 3.11 (b)). Beim Verdampfen erhitzt man das Schichtmaterial in einer Wendel oder in einer Spule zwischen 500 °C und 3000 °C und erhält so einen gerichteten Strahl aus Atomen und Clustern, die auf der Oberfläche auftreffen. Durch Auflegen einer Schattenmaske kann man mit diesem gerichteten Strahl Kanten erzeugen, die mit einem AFM abgebildet werden können. Die so erzeugten Kanten sind erheblich flacher als strukturierte Kanten.

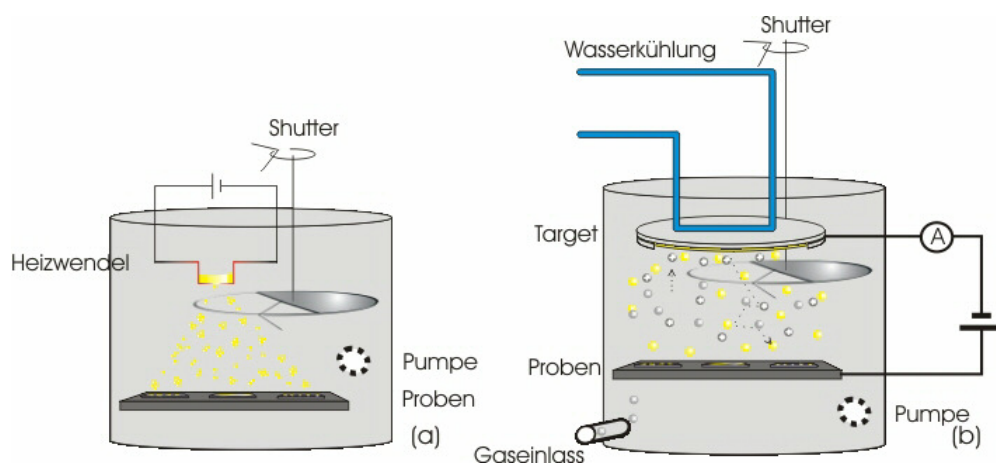


Abbildung 3.11: Schematische Darstellung einer (a) Bedampfungsanlage und einer (b) Sputteranlage.

Beim Sputtern benutzt eine Gleichspannungsgasentladung, um ein Plasma aus positiv geladenen Argonionen zu erzeugen, welche in einem elektrischen Feld auf eine Kathode beschleunigt werden, die aus dem gewünschten Beschichtungsmaterial besteht, das so genannte Target. Beim Auftreffen auf der Targetoberfläche wird durch eine Kaskade von elastischen Stößen die Energie des Ions auf ein Gittervolumen von ca. 1 nm^3 übertragen. Dabei erhält ein Bruchteil der Targetatome in Richtung Anode eine höhere kinetische Energie als die Bindungsenergie, so dass sie Oberfläche verlassen können (siehe Abbildung 3.11 (b)). Die Atome haben nach Stößen mit dem Argongas eine Energie, die abhängig vom Gasdruck, der angelegten Spannung zwischen den Elektroden und deren Abstand ist und zwischen 5 eV bis 10 eV liegt. Durch Herausschlagen von Teilchen durch beschleunigte Argonionen aus einem Target wird beim Sputtern einen ungerichteter, homogener Dampf erzeugt, der dann auf dem Substrat kondensiert [138].

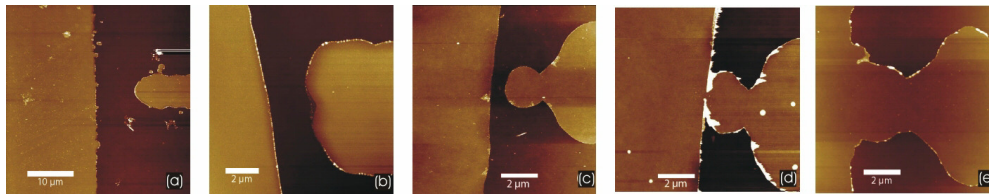


Abbildung 3.12: (a) - (d) Verschiedene Spaltgrößen, die bei kürzeren Entwicklungszeiten immer größer werden.

Da ein Teilchen aus diesem Dampf eine höhere kinetische Energie hat, als die Bindungsenergie zum Substrat, bewegt es sich meistens solange auf der Oberfläche bis es mit einem weiteren Dampfteilchen zusammentrifft. Die ersten Teilchen brauchen für die Kondensation Keime, wie beispielsweise Störstellen und Defekte, an die sie ihre kinetische Energie und die Kondensationsenergie abgeben können. Bei längerer Beschichtungsdauer kommt es zu größeren Inseln, die zusammenwachsen. Die Schichthöhen, bei dem geschlossene Schichten entstehen, sind materialabhängig.

3.3.4 Herstellung der Metall-Isolator-Metall-Strukturen

In dieser Arbeit wurde Glas mit Aceton, Ethanol und Wasser gereinigt. Anschließend wurde für 30 s bei 4000 U/min ($1,2 \mu\text{m}$ Schichtdicke) mit einem Spincoater (DELTA 10 Spin Coater, Ble-Laboratory Equipment, München, D) ein spezieller Lift-Off Lack (AR-P 535, Allresist, Strausberg, D), der eine Empfindlichkeit von $40 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ bis $50 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ hat, aufgetragen. Anschließend wurde die Probe für 30 min bei $95 \text{ }^\circ\text{C}$ getempert. Nach dem Abkühlen wurde eine Maske mit einer negativen Struktur (Tantal/Aluminium Beschichtung), die mit einem Laserbelichter (DWL-66 Heidelberg Instruments, Heidelberg, D) bei sonst identischen Lift-Off Verfahren hergestellt wurde, auf die Probe gelegt. Nach dem Belichten mit UV-Licht für 1 s ($350 - 450 \text{ nm}$, $500 \text{ W}/\text{m}^2$; Spektrum siehe Abbildung 3.10 (b)) durch einen Parallelbelichter (8011, Oriel Corporation, USA) wurden die belichteten Stellen in einem Bad in einer Entwicklerflüssigkeit (AR 300-26, Allresist, Strausberg, D) für 30 s bis 45 s herausgelöst. Durch die längeren Entwicklungszeiten konnten auch Bereiche im Lack entwickelt werden, die durch die Beugung am Steg der Vorlagenstruktur weniger stark belichtet waren. Alle Strukturen wurden nach dem Entwickeln in einem Lichtmikroskop charakterisiert, um die

Entwicklungszeiten zu kontrollieren. Die Probe wurde anschließend in ein Stopperbad aus destilliertem Wasser gehalten und mit Stickstoff abgeblasen. Anschließend wurde die Probe in eine Sputteranlage (MED 020 Coating System, BAL-TEC, Balzers, FL) eingeschleust und ein 6 nm bis 10 nm dicker Platinfilm (ca. 10 s, 75 mA Sputterstrom, 870 V, $3 - 5 \times 10^{-3}$ mbar) aufgebracht. Als Elektrodenmaterial wurde Platin verwendet, da es auf dem Glassubstrat am besten haftet blieb. Auf einen Haftvermittler wurde bewusst verzichtet, um die Kontakte möglichst flach und glatt zu halten. Um den Lack zu entfernen wurde die Probe für 4 min mit einer Removerflüssigkeit (AR 300-70, Allresist, Strausberg, D) in ein Ultraschallbad gestellt, anschließend gründlich mit Wasser gespült und mit Stickstoff abgeblasen. Die Zeit im Ultraschallbad wurde so optimiert, dass die überbelichteten Strukturen, bei minimalen Lackresten stehen blieben. Die so hergestellten Strukturen wurden mit einem Lichtmikroskop und mit einem AFM begutachtet und hatten Gapweiten von 20 nm bis 3 μm (meistens von 300 nm bis 1000 nm). Die so hergestellten Strukturen waren, im Gegensatz zu Strukturen, die einen Haftvermittler hatten oder durch Argonionen geätzt wurden, recht flach, so dass man auch DNA auf den Elektroden beobachten konnte.

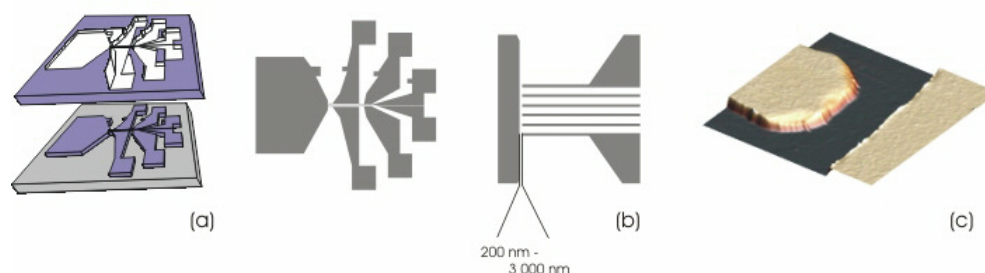


Abbildung 3.13: (a) Lift Off-Prozess, (b) Schematische Zeichnung und (c) AFM-Realbild einer Struktur.

Das Design der Strukturen wurde so gewählt (Abbildung 3.13), dass die Anschlussflächen weit genug auseinander lagen um mit Leitsilber kontaktiert zu werden. Die Zungen lagen 20 μm weit auseinander und waren 8 μm breit, so dass es sicher war, dass der Lack durch belichtet wurde. Auf der Schattenmaske wurde der Steg, der später auf der Probe zum Spalt wurde, 2 μm breit gewählt. Dies stellt ein Optimum dar, um nachher auf der Probe die

Struktur nicht kurzzuschließen und klein genug um durch Überbelichtung die Spaltgröße möglichst klein herzustellen.

3.4 Immobilisierung der DNA

Das Immobilisieren von DNA auf Oberflächen hat in der Biotechnologie ein weites Anwendungsfeld und wird beispielsweise für Microarrays, Biochips oder Rastersondenmikroskopie benötigt. Obwohl jede Immobilisierung durch kovalente Bindungen, elektrostatische Kräfte, van-der-Waals Kräfte, hydrophobe oder hydrophile Wechselwirkungen geschieht, ist über die Wechselwirkung zwischen DNA-Molekülen und den Oberflächen, bzw. der DNA-Moleküle untereinander noch sehr wenig bekannt. DNA ist ein hydrophiles hochgeladenes Molekül, das die Ordnung der umliegenden Wassermoleküle stört [45,140]. Hinzu kommt noch, dass dsDNA ein sehr dynamisches System ist, bei dem die Basen gegeneinander schwingen können. Durch diese große Komplexität der dsDNA hängt die Immobilisierung von dsDNA von vielen Faktoren ab, wie beispielsweise Luftfeuchtigkeit, Oberflächenfunktionalisierung, Einwirkzeiten oder DNA-Konzentration. Das führt zu den unterschiedlichsten Ergebnissen. Durch die hohe Empfindlichkeit der einzelnen Arbeitsschritte war es schwierig, einen Prozess zu entwickeln, bei dem die Ergebnisse reproduzierbar wurden [19,141-142]. Um ein optimales Ergebnis zu erhalten, muss darauf geachtet werden, dass die Bindungskräfte nicht zu schwach sind, weil sonst die DNA auf der Oberfläche denaturieren kann. Andererseits dürfen die Wechselwirkungen auch nicht zu stark sein, weil sonst die DNA aggregieren kann und damit die Struktur der DNA zerstört wird [126,142].

3.4.1 Substrat

Zur Immobilisierung der DNA wurden zwei verschiedene Substrate verwendet. Glimmer ist ein elektrisch isolierendes Schichtsilikat. Er hat eine Sandwich-Struktur, wobei eingebettete Metallionen die negative Ladung der Schichtsilikatstruktur neutralisieren. Die verschiedenen Glimmerarten unterscheiden sich durch die eingebauten Metallionen. Bei diesen Experimenten wurde Kaliglimmer (Plano, D) verwendet. Kaliglimmer, auch Muskovit (Moskauer Glas, Katzensilber) genannt, besitzt die chemische Zusammensetzung $\text{KAl}_2[(\text{OH})_2\text{AlSi}_3\text{O}_{10}]$. Die chemische Struktur ist in Bild 3.14 darge-

stellt. Glimmer ist transparent und sehr gut biegsam. In wässrigen Lösungen ist Glimmer durch die Dissoziation eines Protons von der Hydroxylgruppe der Oberfläche ($\text{R-OH} \rightarrow \text{R-O}^- + \text{H}^+$) negativ geladen und daher hydrophil [143]. Da Glimmer die erwähnte Schichtstruktur besitzt, werden einfach die oberen Schichten mit Hilfe eines Klebestreifens oder eines Messers entfernt, um eine saubere Oberfläche zu erhalten. Diese Oberfläche ist über einen Bereich von mehreren μm atomar glatt und damit gut geeignet für molekulare Abbildungen mit dem AFM [125,142].

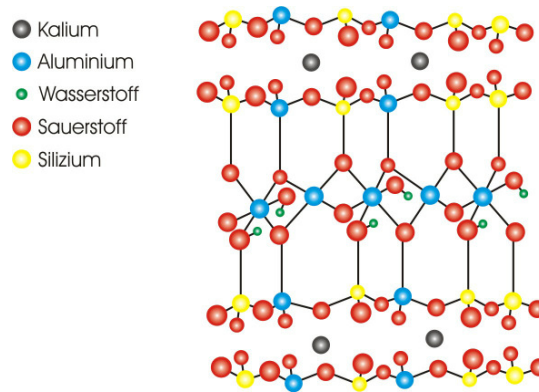


Abbildung 3.14: Das Hauptstrukturmerkmal des Glimmers sind SiO_4 -Tetraeder, die mit drei ihrer vier Ecken in der zweidimensionalen Ebene mit anderen SiO_4 -Tetraedern verbunden sind. Zwischen den negativ geladenen Tetraedern liegen positiv geladene Metallionen, welche elektrostatisch gebunden sind [143].

Glimmer ist zwar ein sehr flaches Substrat, hat aber den Nachteil, dass die Schichtstruktur bei bestimmten Prozessen, die beispielsweise bei der Lithographie vorkommen, abblättern kann. Deshalb wurde bei dieser Arbeit vor allem mit nicht geschliffenem Glas ($8 \text{ mm} \times 8 \text{ mm}$, Menzel-Gläser, Braunschweig) gearbeitet. Glas hat die amorphe Struktur einer Flüssigkeit, die durch eine hohe Viskosität keine Kristallstruktur, amorphe Eigenschaften und isotrope mechanische Eigenschaften hat [53]. Glas besteht aus Silikatanionen, die aus SiO_4 -Tetraedern aufgebaut sind mit eingelagerten Metallkationen. Die Oberflächenchemie von Glas wird in erster Linie durch die Silanol-Gruppen (Si-OH) bestimmt, weshalb in wässrigen Lösungen Glas auch negativ geladen ($-\text{OH} \rightarrow -\text{O}^- + \text{H}^+$) und hydrophil ist [142-144]. Die

Glassubstrate wurden nacheinander im Ultraschallbad mit Azeton, Ethanol und destilliertem Wasser gereinigt und anschließend mit Stickstoff trocken geblasen [145]. Das verwendete Glas hatte eine Rauigkeit von wenigen nm.

Andere Substrate wurden nicht benutzt, da sie sich meist als nicht geeignet erwiesen. So lag bei Silizium, das eine ca. 500 nm hohe Oxidschicht hatte und das so strukturiert wurde, dass ein 3 μm Spalt zwischen den Elektroden entstand, der Widerstand bei normaler Umgebungsfeuchtigkeit zwischen 300 M Ω und 500 M Ω . Silizium war schwerer zu trocknen und erheblich rauer als das verwendete Glas. Siliziumoxid besitzt ebenfalls eine störende Leitfähigkeit, die stark durch den Wasserfilm auf der Oberfläche beeinflusst wird [146].

3.4.2 Beschreibung und Funktionalisierung von Oberflächen

Einfluss von Feuchtigkeit auf Oberflächen

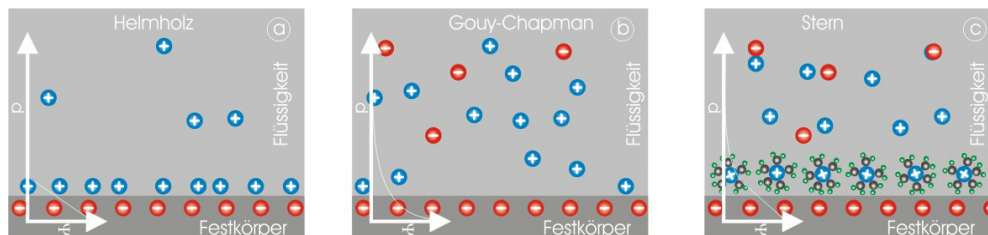


Abbildung 3.15: Bindung der Ionen an die Oberfläche und das entsprechende Potential: (a) Helmholz-Modell, (b) Gouy-Chapman-Modell, (c) Stern-Modell.

Geladene Oberflächen ziehen Gegenionen aus der Lösung oder der kondensierten Feuchtigkeit in der Luft an. Absorbieren Atome und Moleküle auf einer Oberfläche, ändern sie ihre elektrischen und strukturellen Eigenschaften. Beschreibt man diese elektrische Doppelschicht durch direkt nebeneinander liegende Ionen, deren Ladungen sich wie in einem Kondensator gegenseitig neutralisieren, so spricht man von einer Helmholz-Doppelschicht (siehe Abbildung 3.15 (a)). Erweitert man das Helmholzbild dadurch, dass die

Gegenelektronen durch thermische Fluktuation von der Oberfläche wegdiffundieren können, so entsteht eine ausgedehnte Schicht als Gegenelektrode (Gouy-Chapman Model, Abbildung 3.15 (a)). Löst man für die ausgedehnte Ionenschicht die Poisson-Boltzmann-Gleichung

$$\Delta\Psi = \frac{\partial^2\Psi}{\partial x^2} + \frac{\partial^2\Psi}{\partial y^2} + \frac{\partial^2\Psi}{\partial z^2} = -\frac{\rho_e}{\epsilon\epsilon_0} \quad (3.4)$$

für eine flache Oberfläche mit der Ladungsdichte ρ_e und den dielektrischen Konstanten ϵ für die Lösung und ϵ_0 für das Vakuum, so erhält man für das Potential Ψ die Lösung:

$$\Psi = \Psi_0 \cdot e^{-\frac{x}{\lambda_D}}, \quad (3.5)$$

mit x als Abstand von der Oberfläche, Ψ_0 ($\Psi_0 = \Psi(x = 0)$) als Oberflächenpotential und der λ_D Debyelänge, die durch

$$\lambda_D = \sqrt{\frac{\epsilon\epsilon_0 k_B T}{2c_0 e^2}}, \quad (3.6)$$

(k_B - Boltzmannkonstante, T - Temperatur, c_0 - Ionenstärke, e - Elementarladung) definiert ist. Die Debyelänge für einwertige Ionen bei 25°C ist

$$\lambda_D = \sqrt{\frac{3,04\text{\AA}}{c_0 \frac{L}{mol}}}. \quad (3.7)$$

Mit einer erhöhten Salzkonzentration c_0 [mol/L] fällt die Debyelänge ab, da mehr Ionen die geladene Oberfläche besser abschirmen. Die Debyelänge wird auch als molekulare Kapazität bezeichnet und beschreibt die Dicke der Molekülschicht. Für Wasser liegt λ_D meistens bei wenigen 100 nm und kann höchstens 680 nm betragen. Die Debye-Länge in einer wässrigen 0,1 M NaCl-Lösung bei 25°C ist $\lambda_D = 0,96$ nm. [142-143,147].

Kombiniert man die Helmholtz-Theorie mit der Gouy-Chapman-Theorie, so erhält man die Stern-Theorie. Bei der Theorie von Stern hat man eine innere Schicht mit immobilen Ionen, die selber von Molekülen umgeben sind und so

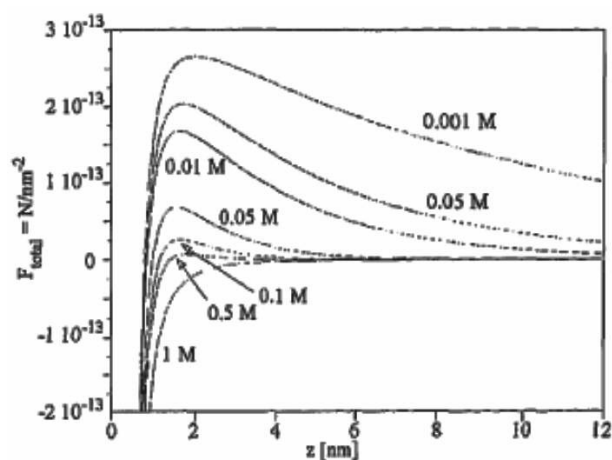


Abbildung 3.16: Kräfte zwischen einer hydrophilen und einer hydrophoben Oberfläche, die durch die DLVO-Theorie beschrieben werden, bei verschiedenen Ionenkonzentrationen [148].

nicht direkt an die Oberfläche gebunden sind. Da die Oberfläche nicht vollkommen abgeschirmt ist, bildet sich eine ausgedehnte äußere Schicht. In Bild 3.15 erkennt man den Unterschied der einzelnen Modelle und ihrer Potentiale [143]. Bei unterschiedlichen Substraten ist das Oberflächenpotential und die Oberflächenladung, die sich an den mit einer Lösung bedeckten Oberflächen ausbilden, bei der Immobilisierung für das unterschiedliche Verhalten verantwortlich. Die Oberflächenladung ist abhängig von der Ionenkonzentration und dem pH-Wert der Lösung [156].

Wechselwirkung zwischen zwei Oberflächen

Die DLVO-Theorie (Derjaguin, Landau, Verwey, Oberbeek) beschreibt die Wechselwirkung zwischen Objekten in wässrigen Lösungen durch van-der-Waals-Kräfte und Oberflächenladungen, wobei aber entropische Wechselwirkungen vernachlässigt werden. Fast alle Biomoleküle tragen positive und negative Ladungen abhängig vom pH-Wert der Lösung. Die Ladungsdichte einer Oberfläche in Wasser hängt also von der Dichte der funktionalen Gruppen, deren pK_S und dem pH-Wert der Lösung ab. Nähert man zwei Oberflächen einander an, so fangen die Moleküllschichten irgendwann an miteinander wechselzuwirken. Die Kraft F_{el} zwischen den beiden Oberflächen

fällt exponentiell mit der Distanz der beiden Oberflächen ab. Für geringe Oberflächenpotentiale ($\Psi < 25$ mV) erhält man für die elektrostatische Kraft pro Einheitsfläche für zwei flache Oberflächen

$$F_{el} = \frac{2\sigma_{Ob}\sigma_{Mol}}{\epsilon_0\epsilon_e} e^{-\frac{x}{\lambda_D}}. \quad (3.8)$$

σ_{Ob} und σ_{Mol} beschreiben die Oberflächenladungen des Substrats und des Moleküls. Bei sehr kleinen Distanzen kann es passieren, dass durch die Wechselwirkung der Oberflächen die Oberflächenladungsdichte geändert wird und die Gleichung (3.8) nicht mehr gilt. Die Lifshitz-Theorie beschreibt die van-der-Waals-Kraft F_{vdW} durch

$$F_{vdW} = -\frac{H_a}{6\pi x^3}, \quad (3.9)$$

mit der Hamaker Konstante H_a , die die Wechselwirkung zwischen zwei Oberflächen durch ein drittes Medium beschreibt. Für die DLVO-Theorie werden die beiden Kräfte aus den Gleichungen (3.8) und (3.9) aufsummiert und man erhält:

$$F_{DLVO} = F_{el} + F_{vdW} = \frac{2\sigma_{Ob}\sigma_{Mol}}{\epsilon_0\epsilon_e} e^{-\frac{x}{\lambda_D}} - \frac{H_a}{6\pi x^3}. \quad (3.10)$$

Über die Variation des pH-Wertes oder der Ionenkonzentration kann das Oberflächenpotential eingestellt werden, um die Adsorption von Molekülen zu kontrollieren. In Abbildung 3.16 sind Beispiele von einer hydrophoben und einer hydrophilen Oberfläche dargestellt. Über weite Bereiche erkennt man abstoßende Kräfte, und erst in einem Bereich von ca. 1 nm kommt es zu einer starken Anziehung zwischen den Oberflächen [148]. Bei sehr kleinen Distanzen beschreibt die DLVO-Theorie nicht mehr die Kräfte zwischen zwei Oberflächen. DNA ist ein hochgeladenes hydrophiles Molekül, dessen Verhalten in der Nähe einer hydrophoben Oberfläche recht kompliziert ist: Dieses Molekül wird an einer hydrophoben Oberfläche nicht ohne weiteres binden, weil sich beispielsweise durch die Wechselwirkung zwischen den beiden Oberflächen eine geordnete molekulare Struktur ausbilden kann. Die Bindungsenergien zwischen beiden Oberflächen ist manchmal zu gering, um das Molekül an der Diffusion zu hindern [142].

Adsorption auf Oberflächen

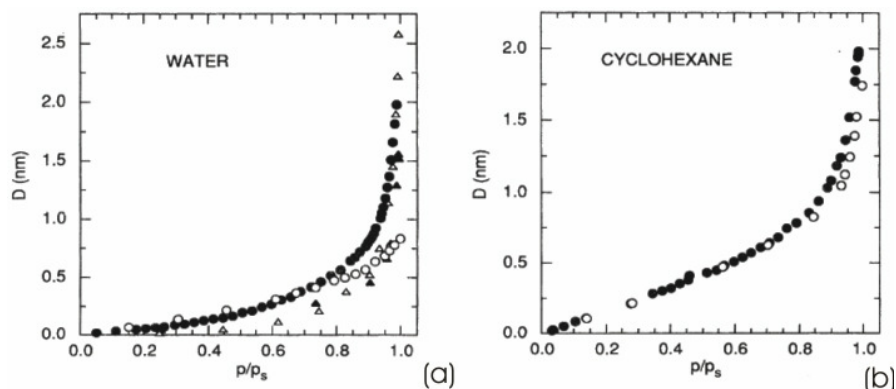


Abbildung 3.17: Filmstärke D von Wasser (a) und Cyclohexan (b) auf einem Glimmersubstrat in Abhängigkeit vom relativen Dampfdruck p/p_s [151].

Durch die Kondensation von Wasser auf einer Oberfläche entsteht dort ein Wasserfilm, dessen Höhe von der relativen Luftfeuchtigkeit abhängt. Über die Kondensation von Wassermolekülen auf einer Oberfläche bei Raumtemperatur ist relativ wenig bekannt. Vermutlich bildet Wasser, bei einer Adsorptionshöhe von wenigen Monolagen, durch Wasserstoffbrückenbindungen molekulare Cluster auf einer Oberfläche, da die Kräfte zwischen zwei Molekülen größer sind als die Kräfte zwischen Molekül und Oberfläche. Die Eigenschaften von Wasser an der Oberfläche sind deutlich verschieden von denen im normalen Wasser, was bei elektrochemischen Reaktionen an der Oberfläche wichtig ist. Existiert zwischen den Wassermolekülen und der Oberfläche nur eine schwache Wechselwirkung, so befindet sich Wasser in der Nähe der Oberfläche in einem eisähnlichen Zustand. Adsorbiert Wasser auf einer Oberfläche, kann es dissoziieren und das Hydroxylion bindet an die Oberfläche. An den Oberflächen der Edelmetalle Gold und Platin dissoziiert Wasser vollständig in zwei Wasserstoffatome und ein Sauerstoffatom, die an die Oberfläche binden. An einer rauen Oberfläche können die Wassermoleküle, anstatt mit nur einem Oberflächenatom, wie es bei ideal glatten Oberflächen geschieht, mit dem ganzen Molekülcluster der Oberfläche wechselwirken. Diese Molekülcluster besitzen durch die unbesetzten Bindungsstellen eine höhere chemische Aktivität, weshalb diese Wassermoleküle noch mehr Wassermoleküle an sie binden können [149]. Auf einem Glimmersub-

strat steigt die Höhe des Wasserfilms erst linear an, um dann ab einer Höhe von ungefähr 2 Monolagen sprunghaft anzusteigen und am Ende eine Dicke von ca. 2 nm zu haben (Abbildung 3.17 (a)). Bei hoher Luftfeuchtigkeit ist der Wasserfilm so hoch, dass schwere Moleküle, wie beispielsweise Goldkügelchen, durch leichten Kraftaufwand auf der Oberfläche verschoben werden können [132]. Es bildet sich scheinbar kein geschlossener Feuchtigkeitsfilm auf der Oberfläche, der keine ausgeprägte Struktur besitzt. Auf einer Glimmeroberfläche bildet sich ein Monolayer aus Wassermolekülen, der sich wie eine eisähnliche Phase verhält. Beim Herabsetzen der relativen Luftfeuchtigkeit von 90 % auf 20 % bricht der eisähnliche Zustand des Monolayers auf einer Glimmeroberfläche immer weiter auf, und es bilden sich Inseln [133,150]. Da das gleiche Verhalten bei verschiedenen Molekülen (Vergleiche Abbildung 3.17 (a) und (b)) auftritt, ist die Adsorption auf Glimmeroberflächen vermutlich eine nichtspezifische Wechselwirkung, d. h. bei kleinen Filmhöhen sind die Wechselwirkungen zwischen den Molekülen die nicht dominanten Kräfte [151-152].

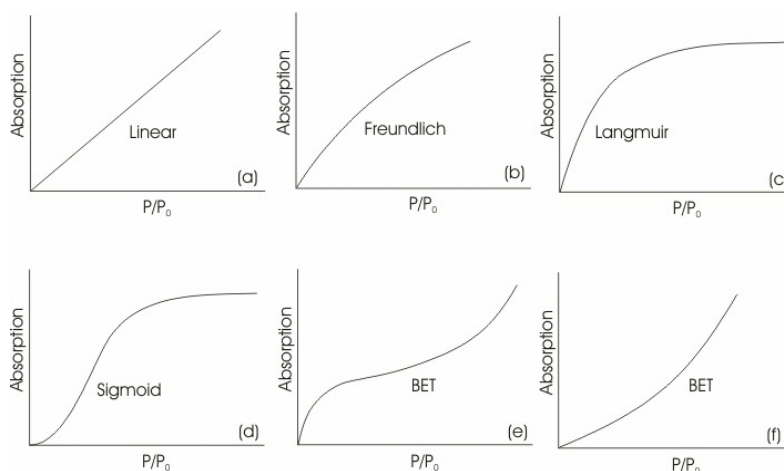


Abbildung 3.18: Verschiedene Modelle für Adsorption auf einer Oberfläche [143].

Abhängig von den physikalischen und chemischen Bedingungen findet man unterschiedliches Adsorptionsverhalten bei Molekülen und Oberflächen. In Abbildung 3.18 werden verschiedene Beispiele für Modelle der Adsorption auf Oberflächen dargestellt. Für die Graphen in Abbildung 3.17 für eine Glim-

meroberfläche trifft am besten das BET Modell (Brunauer, Emmett, Teller) zu. Die BET-Theorie ist eine Weiterentwicklung der Langmuir-Theorie, bei der die Moleküle aus der Luft so lange an eine feste Anzahl von Adsorptionsstellen binden können, bis sich ein Gleichgewicht zwischen Adsorption und Desorption einstellt. Die Langmuir-Theorie beschreibt die Adsorption nur, bis maximal eine Monolage entstanden ist. Bei der BET-Theorie bildet sich eine Grundschicht aus kugelförmigen Partikeln auf dem Substrat, auf dem dann einzelne Schichten folgen, die die Eigenschaft einer Flüssigkeit haben und deren Wechselwirkung mit der darunter liegenden Schicht nicht so stark ist, wie die der Grundschicht mit dem Substrat. Das BET-Modell beschreibt Physisorption [135,143,147,153].

Kontaktwinkel

Moleküle in einer Flüssigkeit wechselwirken u. a. durch van-der-Waals Kräfte mit ihren Nachbaratomen. Da an der Grenzfläche zu anderen Stoffen keine ausgeglichenen Wechselwirkungen in alle Richtungen bestehen, kommt es zu einer Nettokraft, der sogenannten Oberflächenspannung. Bringt man einen Tropfen auf einen Festkörper, so zerfließt der Tropfen sofort und benetzt die Oberfläche, oder der Tropfen bleibt auf der Oberfläche haften. Dort wo die drei Phasen Kontakt haben, bildet der Tropfen einen Winkel zwischen Festkörper und Flüssigkeit. Dieser Kontaktwinkel kann mit den Grenzflächenspannungen γ_L , γ_S , γ_{SL} der einzelnen Phasen durch Youngs Gleichung

$$\gamma_L \cos \Theta = \gamma_S - \gamma_{SL} \quad (3.11)$$

beschrieben werden.

Auf einer realen Oberfläche kommt es beim Verschieben der Tropfengrenzfläche zur Kontaktwinkelhysterese, bei dem der Kontaktwinkel eines größer werdenden Tropfens 5 bis 20° größer ist als der eines Tropfens, der eintrocknet. Gründe hierfür sind beispielsweise mikroskopische Rauigkeiten oder chemisch heterogene Oberflächen. So sind raue Oberflächen hydrophober als glatte Oberflächen des gleichen Materials. Neben dem oben beschriebenen makroskopischen Kontaktwinkel gibt es noch einen mikroskopischen (Bild 3.19 (b) und (c)). Diese mikroskopische Änderung der Oberfläche kommt beispielsweise durch van-der-Waals-Kräfte oder Kräfte, die durch die elektrostatischen Doppelschichten entstehen. Ob der Tropfen dadurch größer

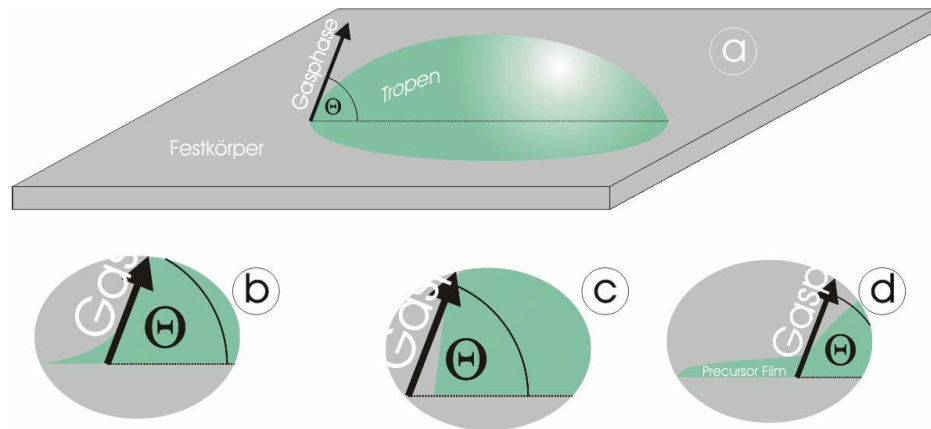


Abbildung 3.19: (a) Kontaktwinkel am Drei-Phasen-Punkt. Mikroskopische Darstellung des Kontaktwinkels für eine (b) repulsive und eine (c) attraktive Kraft zwischen der flüssigen und der festen Phase. (d) Beim Eintrocknen eines Tropfens entsteht ein schmaler Feuchtigkeitsfilm, der sich hinter dem verschobenen Meniskus bildet.

oder kleiner wird hängt von den Wechselwirkungen zwischen den Molekülen innerhalb der Lösung und ihrer Wechselwirkung mit der Oberfläche ab. Am Drei-Phasen-Kontaktpunkt kann man mit Hilfe der Oberflächenspannung γ und der Breite der Flüssigkeitshaut δ durch

$$\gamma = P \cdot \delta \quad (3.12)$$

den Druck P bestimmen, der an der Oberfläche angreift. Bei einer Oberflächenspannung von $\gamma = 0,072 \text{ Nm}^{-1}$ und einer Wasserhautbreite von $\delta = 10 \text{ nm}$ ergibt sich ein Druck von $72 \times 10^5 \text{ Pa}$.

Ein Tropfen, der über die Oberfläche zieht, kann in drei Regionen aufgeteilt werden (Bild 3.19 (d)). Region I ist die Bulkflüssigkeit, die durch die Grenzfläche mit dem Winkel begrenzt wird und deren Bewegung durch die klassische Hydrodynamik beschrieben werden kann. Die entstehende Reibungswärme wird durch die Flüssigkeit abgeleitet. Region II ist der Precursor Film, der hinter der Bulkflüssigkeit hinterhergezogen wird und dessen Dicke ($< 0,1 \mu\text{m}$) durch die Oberflächenkräfte bestimmt wird. Die Bewegung des Precursor Films wird beschrieben durch den abfallenden Druck innerhalb

des Films. Region III ist der Bereich vor dem Precursor Film, der statisch durch die Moleküle, die adsorbieren oder verdampfen können, beschrieben wird [143].

3-Aminopropyltriethoxysilan

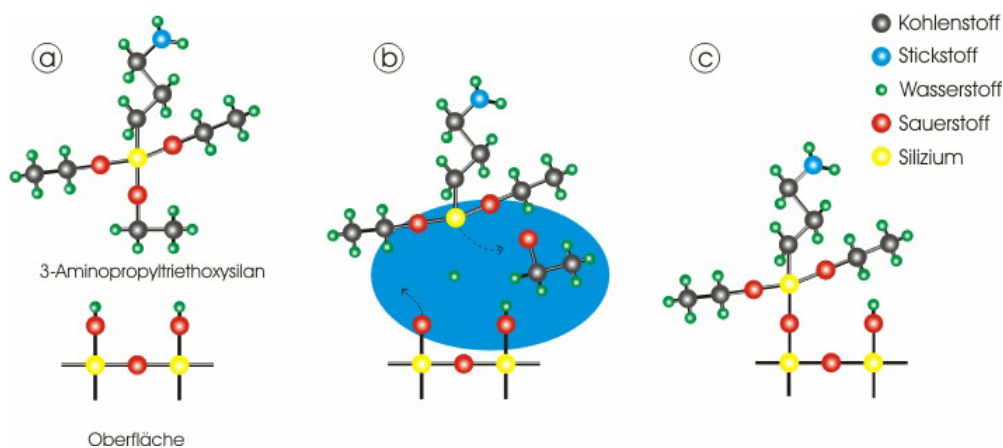
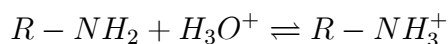


Abbildung 3.20: Chemische Struktur von 3-Aminopropyltriethoxysilan, (a) das durch eine Reaktion mit einer Hydroxy-Gruppe der Oberfläche (b) kovalent an die Oberfläche bindet.

Die Oberflächen der Substrate wurden entweder nur gereinigt oder anschließend noch zusätzlich funktionalisiert. Um Oberflächen zu funktionalisieren kann man Silane aufbringen, deren Kopfgruppe die chemischen Eigenschaften bestimmen. Die Silane reagieren mit den Silanol-Gruppen und binden kovalent an die Oberfläche (siehe Abbildung 3.20 (a)). Die kleinste Distanz zwischen den aktiven Silanol-Gruppen ist 6 - 7 Å. In dieser Arbeit wurde 3-Aminopropyltriethoxysilan ($(C_2H_5O)_3SiC_3H_6NH_2$; APTES, Sigma, Deisenhofen, D) benutzt, um die Oberfläche durch Protonierung der Aminogruppe durch die Gleichgewichtsreaktion



positiv zu laden. Für die Reaktion ist die Anwesenheit von Wasser notwendig [142,154]. In Abbildung 3.22 sieht man verschiedene Möglichkeiten, wie sich

APTES auf einer Oberfläche verhalten kann. Die Strukturen entstehen durch Wasserstoffbindungen zwischen den Aminogruppen untereinander bzw. mit den Silanolgruppen [154]. Für die Säurekonstante K_S gilt im Gleichgewicht, mit den entsprechenden molaren Konzentrationen, die mit den eckigen Klammern beschrieben werden:

$$K_S = \frac{[NH_2][H_2O]}{[NH_3^+]}. \quad (3.13)$$

Logarithmiert man beide Seiten, so erhält man

$$-\lg K_S = -\lg [H_2O] - \lg \frac{[NH_2]}{[NH_3^+]}. \quad (3.14)$$

$$pK_S = pH - \lg \frac{[NH_2]}{[NH_3^+]}. \quad (3.15)$$

Der K_S für APTES liegt bei ca. 10,6 [156]. Für die Konzentrationen der geladenen und ungeladenen Moleküle auf der Oberfläche erhält man dann die Beziehungen:

	ungeladen		geladenen	
$pH \approx pK_S$	$[NH_2]$	\approx	$[NH_3^+]$.
$pH < pK_S$	$[NH_2]$	$<$	$[NH_3^+]$	
$pH > pK_S$	$[NH_2]$	$>$	$[NH_3^+]$	

Wegen der dichten Packung der alipatischen Aminogruppen des APTES wird dessen pK_S erniedrigt, so dass auch bei neutralen pH die Oberfläche positiv geladen bleibt. Dadurch ist die Immobilisierung von DNA auf dem mit APTES funktionalisierten Glimmer relativ unabhängig vom Puffer in dem sich die DNA befindet [141-144,155].

Es gibt verschiedene Wege 3-Aminopropyltrithoxysilan auf die Oberfläche aufzubringen. Eine Möglichkeit ist beispielsweise die Oberfläche für einige Minuten in eine 2 %ige APTES/ Toluol-Lösung einzutauchen und dann mit Toluol spülen. Da die so funktionalisierten Oberflächen deutlich rauer waren,

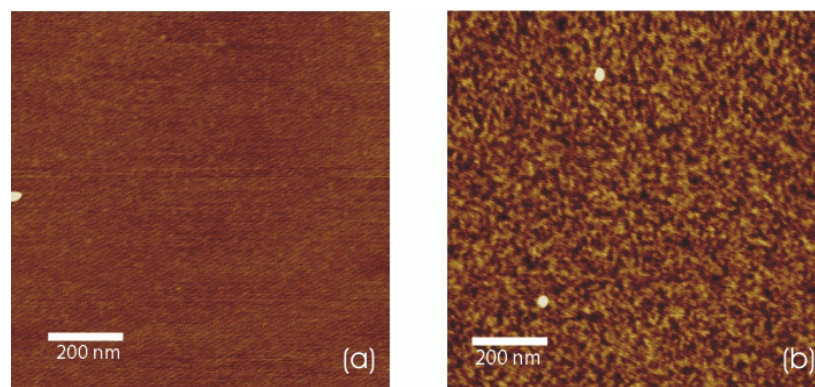


Abbildung 3.21: (a) Glimmer kurz nach dem Silanisieren. (b) Der gleiche Glimmer nach 4 Tagen. Es bilden sich deutlich Domänen auf der Oberfläche aus.

wurde das 3-Aminopropyltrithoxysilan in dieser Arbeit aus einer Gasphase abgeschieden [145]. Dafür wurde ein Uhrglas mit 3-Aminopropyltrithoxysilan in einen Exsikkator gestellt und ca. 5 cm darüber die Proben in ein Uhrglas gelegt. Dann wurde der Exsikkator bis ca. 10 mbar abgepumpt, so dass der Druck nicht in den Bereich des zwei-Phasen-Gebietes kommen und es zu Nebelbildung kommen konnte, welcher die Probe rauer gemacht hätte (siehe Abbildung 3.21). Nachdem die Proben zwischen 5 min und 30 min bedampft wurden, wurde der Exsikkator zügig belüftet und die Proben entnommen. Auf Glas und Glimmer veränderte das 3-Aminopropyltrithoxysilan seine Eigenschaften mit der Zeit und war nach 1 bis 48 Stunden, je nach Luftfeuchtigkeit, zu alt, um verlässlich mit den Proben arbeiten zu können.

Abbildung 3.22 zeigt verschiedene Möglichkeiten wie ein APTES-Molekül auf einer Oberfläche gebunden werden kann. Dabei wurde vernachlässigt, dass auch fehlende Ethoxy-Gruppen miteinander in Wechselwirkung treten können [157]. Die Wasserstoffbrücken zwischen den Aminogruppen und den Silanolgruppen können auf der Oberfläche Gruppen bilden, an deren Oberfläche sich noch aktive Aminogruppen befinden. Mit einem Wasserfilm bildet der APTES-Film eine innere unregelmäßige Struktur aus. In Anwesenheit eines Wasserfilms auf der Oberfläche werden die Ethoxy-Gruppen reaktionsfreudiger und Siloxan-Bindungen können entstehen [157]. Da in einem unregelmäßigen Film mehr Wasserstoffbindungen zur Verfügung stehen kön-

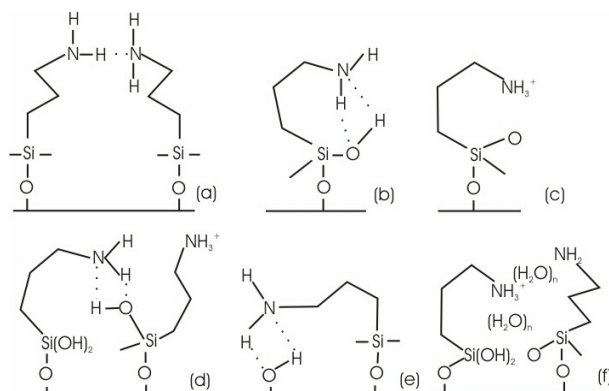


Abbildung 3.22: Verschiedene Möglichkeiten, wie sich ein APTES-Molekül auf einer Oberfläche verhalten kann [154][157].

nen, nimmt mit der Rauigkeit der APTES-Oberfläche die Anzahl der freien Wasserstoffbindungsmöglichkeiten zu und somit die Bindungsstärke der funktionalisierten Oberfläche. Bei einer glatten Oberfläche, bei der alle Silanolgruppen besetzt sind, sind keine Wasserstoffbindungen möglich [154,157]. Bei Glimmer konnte man in AFM Bildern erkennen, dass sich mit der Zeit die Silanolgruppen verändern konnten und so Domänen ausbildeten (siehe Abbildung 3.20). Wasser ist also wichtig, um APTES auf einer Oberfläche zu binden, zuviel Wasser kann allerdings die innere Struktur des APTES zerstören, weshalb derart funktionalisierte Oberflächen schwer zu handhaben sind. DNA wird durch APTES auf einer Oberfläche so stark fixiert, dass sie auch nach Monaten dort zu finden ist. Versuche mit anderen Silanen, wie beispielsweise OTS (Octadecyltrichlorsilan) [158] waren nicht erfolgreich.

Oberflächen von Edelmetallen

Über die Wechselwirkung von DNA mit Edelmetallen ist relativ wenig bekannt. Es ist nicht verstanden, wie DNA an Edelmetalloberflächen wie beispielsweise Gold oder Platin bindet [160]. Dies kann beispielsweise durch kovalente Bindungen oder durch Spiegelladungen geschehen. Vor allem die Rolle der Wassermoleküle auf der Oberfläche der Edelmetalle bei der Bindung der DNA ist unklar. Auch unter den Basen gibt es Unterschiede bei der Bindungsaffinität an die Edelmetalloberflächen. Allerdings gibt es unterschiedliche Ergebnisse. So finden Petrovykh *et al.* [45], dass Adenin mit

Abstand am stärksten an Oberflächen bindet, während Thymin recht schwach bindet. Für die Reihenfolge der Bindungsaffinität der Basen an eine Goldoberfläche gilt $A > C > G > T$. Im Gegensatz dazu finden Demers *et al.* [160] für die Bindungsstärke an einer Goldoberfläche die Reihenfolge $G > A > C > T$.

Verunreinigung der Oberfläche an der Umgebungsluft

Setzt man ein Substrat der normalen Umgebungsluft aus, so bildet sich ein Wasserfilm an der Oberfläche, der bei Glimmer ca. 0,5 nm hoch ist. Außerdem kondensieren Kohlenwasserstoffe aus der Umgebung an der Oberfläche der Probe. Diese Kohlenwasserstoffe befinden sich auch dann auf der Oberfläche, wenn man die Oberfläche nach dem Reinigen mit destilliertem Wasser schützt. Kohlenwasserstoffe machen Oberflächen, wie beispielsweise Glimmer, Glas oder Silizium, hydrophob. Diese Verunreinigungen kann man durch ein Sauerstoffplasma (30 s bei 10^{-1} mbar) oder UV-Licht von der Oberfläche entfernen, wodurch die Oberfläche wieder hydrophil wird [142,159]. Die Oxidation von Oberflächen war vor allem in den warmen Monaten mit Luftfeuchtigkeiten über 45 % wichtig. Lag die Luftfeuchtigkeit darunter, konnte auf diesen Schritt verzichtet werden. Das ist insofern ein interessantes Ergebnis, da Glimmer immer frisch abgezogen wurde, um so eine saubere Oberfläche zu gewährleisten und die Umgebungseinflüsse nur kurz mit der Oberfläche wechselwirken konnten. Da die Temperatur im Labor durch eine Klimaanlage über das Jahr relativ konstant war, konnten Temperatureinflüsse bei der Immobilisierung ausgeschlossen werden. Bei den Schadstoffen in der Luft konnte nur ein Anstieg der Kohlenmonoxidkonzentration in Abhängigkeit von der Jahreszeit gefunden werden. Um mögliche Einflüsse auf die Immobilisierung zu untersuchen wurde eine Probe vor, nach oder während der Inkubation einer gesättigten Kohlenmonoxid-Atmosphäre ausgesetzt, was aber keine besonderen Ergebnisse zeigte [161].

3.4.3 Puffer

Die richtige Wahl des Puffers ist wichtig, da einerseits pH-Wert und Ionenstärke einer Lösung so bestimmt sein sollte, dass die chemische und biologische Stabilität und Struktur der DNA in der Lösung erhalten bleibt, andererseits hat der Puffer Einfluss bei der Immobilisierung der DNA auf eine Oberfläche. So können DNA-Stränge bei hoher Konzentration der Ionen zu einem großen DNA-Kristall aggregieren. Der pH-Wert hat einen Einfluss auf

die Bindungsstärke der DNA an die Oberfläche. Bei niedrigen pH-Werten kann die DNA durch die starken Meniskuskräfte beim Molecular Combing dehydrieren.

In dieser Arbeit wurden folgende Pufferlösungen benutzt: 10 mM Tris/ HCl (pH 8,0), 10 mM EDTA; 10 mM HCl Tris (pH 6,6 bis 9,05); 10 mM Tris (10 bis 100 mM NaCl); und 10 mM Tris (2mM bis 5 mM CaCl₂).

3.4.4 Immobilisierungstechniken

Molecular Combing

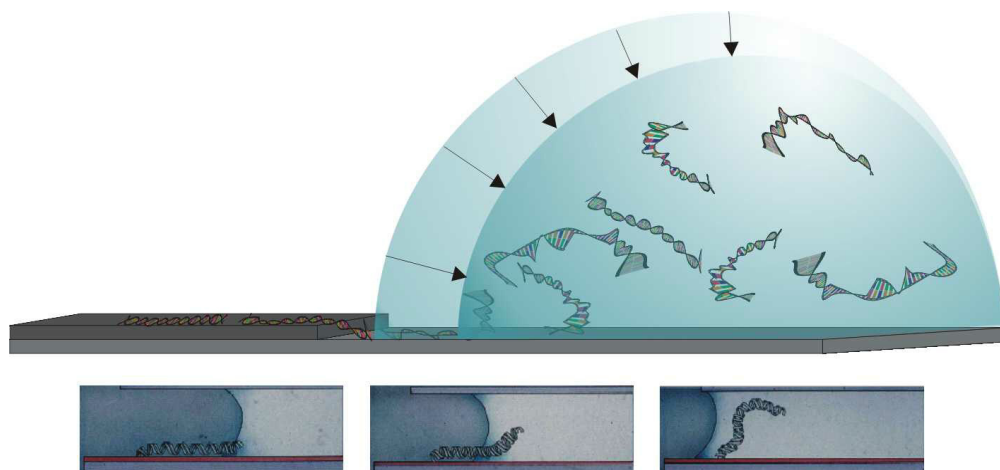


Abbildung 3.23: Einzelne DNA-Stränge, die in einer Lösung verteilt sind, berühren das Substrat und bleiben haften. Durch das Verdunsten der Lösung zieht sich die Tropfenhaut zurück und zieht die haftende DNA gerade.

DNA-Stränge wurden über die Struktur gestreckt, indem man 0,3 μ l der λ -DNA Stammlösung (ca. 500 μ g/ml, Promega, USA) eintrocknen lies. Die Oberflächenspannung an der Tropfenhaut zieht die DNA-Moleküle, die sich mit einem ihrer Segmente mit der Probenoberfläche verbunden haben, beim Eintrocknen des Tropfen gerade (siehe Abbildung 3.23) [145,162]. Die Geschwindigkeit, mit der ein Tropfen verdunstet, hängt von der Oberflächenspannung der Lösung, der relativen Luftfeuchtigkeit, der Oberflächenrauigkeit und der Viskosität der Lösung ab. Das Strecken eines DNA-Stranges

bedeutet Energieaufwand, da durch das Strecken der DNA, wie in Kapitel 2.1.2 besprochen, die Entropie des Systems abnimmt. Die Kräfte, die nötig sind, um die hydrodynamischen und die entropischen Kräfte zu überwinden, sind kleiner 10 pN. Bei einem zurückziehenden Meniskus entstehen Kräfte zwischen 100 pN und 400 pN, was bedeutet, dass die DNA überstreckt wird und von der B-Konformation die S-Konformation übergeht. Wie stark die DNA gestreckt wird, hängt stark von den Oberflächenkräften ab. Auf einer hydrophoben Oberfläche wird die DNA erheblich stärker, bis zu 138 %, gestreckt als auf einer hydrophilen Oberfläche. Da Molecular Combing ein lokaler Prozess ist, ist die Streckung der DNA umso geringer, je stärker die Bindung an die Oberfläche ist [163]. Wie stark die DNA an die Oberfläche bindet hängt auch stark vom pH-Wert der Lösung ab, da die Aminogruppen des APTES entsprechend protoniert werden. Wird der pH-Wert allerdings zu niedrig, kann die DNA durch die Kräfte des sich zurückziehenden Meniskus denaturieren.

Inkubieren

Beim Inkubieren wird die Probe auf einen Gummiring in einer mit Flüssigkeit gefüllten Schale gelegt und dann mit geschlossenem Deckel für 5 min bis 10 min stehen gelassen. Da in dem Gefäß die Luftfeuchtigkeit gesättigt ist, kann der Tropfen nicht verdunsten, weshalb nur ein Teil der DNA an die Oberfläche binden kann, die in der Einwirkzeit mit der Oberfläche ausreichend wechselwirken kann. Der Rest wird mit destilliertem Wasser abgespült, anschließend wird die Probe mit Stickstoff trockengeblasen. Die Streckung der DNA entsteht hier durch die Konzentration der Ionen in der Pufferlösung, die sich am Rückgrat der DNA anlagerten und ist erheblich geringer als beim Molecular Combing. Auch die Höhe der DNA war beim Immobilisieren durch Inkubieren deutlich höher als beim Molecular Combing, was aber auch stark von den Umgebungseinflüssen abhing. In Abbildung 3.24 sind Abbildungen von DNA, die durch die Inkubationstechnik auf der Oberfläche immobilisiert wurden, dargestellt.

Strecken der DNA im elektrischen Feld

Durch die die DNA umgebende polarisierbare Gegenionenwolke wird in einem elektrischen Feld ein Dipolmoment induziert, durch das sie in einem inhomogenen Feld gestreckt und bewegt werden kann. Um DNA im inho-

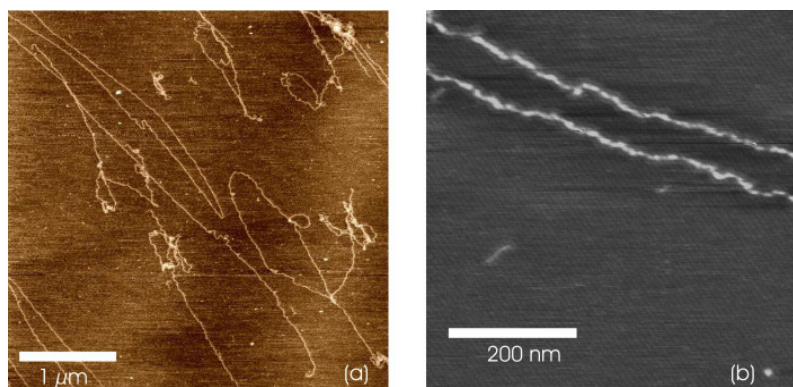


Abbildung 3.24: Beispiele für immobilisierte DNA auf einer Glimmeroberfläche.

mogenen Feld zwischen zwei nicht geraden Elektroden zu strecken und zu positionieren wird Wechselstrom benutzt, um möglichst keine elektrochemischen Reaktionen an den Elektroden zu haben. Dort, wo die Elektroden ihre größten Krümmungen haben, findet man nach der Immobilisierung die größten Konzentrationen von DNA [48,164].

In dieser Arbeit wurde auch versucht, DNA aus einer Stamm-Lösung (0,5 mg/ml), die mit Wasser 1:200 und 1:2000 verdünnt wurde und als Tropfen auf die Probe gebracht wurde, an Strukturen, die durch ihre Form inhomogene Felder bei einer Wechselspannung zwischen den Elektroden von 2 V und 1 MHz erzeugten und Spaltgrößen von 1 μm bis 3 μm hatten, zu strecken. Es zeigt sich, dass diese Methode DNA-Moleküle über Elektroden zu strecken für eine große Anzahl von Molekülen gut funktionieren kann [48,164], allerdings bei einzelnen Molekülen, durch die starken Wechselwirkungen zwischen den DNA-Molekülen und den Oberflächen, keine praktischen Vorteile hatte.

Strecken in Mikrofluidikkanälen

Erzeugt man eine Strömung in einer DNA-Lösung, wird die DNA beim Immobilisieren auf der Oberfläche gestreckt [165-167]. Mit Hilfe von Photolithographie und anschließendem nasschemischem Ätzen können dreidimensionale Strukturen in einen Siliziumwafer übertragen werden. Auf die so hergestellten Strukturen konnte ein flüssiges Polymer (PDMS - Polydimethylsilan) gegossen und ausgehärtet werden. Nach dem Abziehen des Siliziumwafers

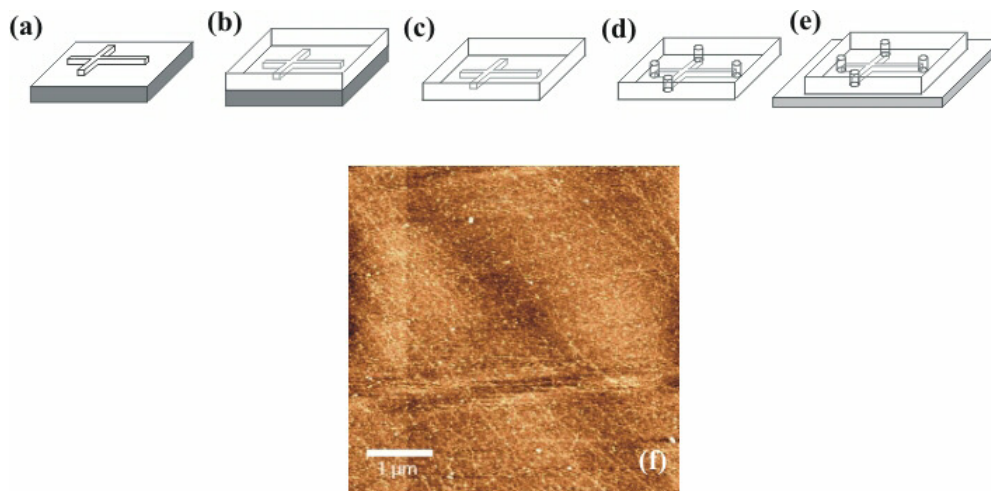


Abbildung 3.25: (a) - (e) Arbeitsschritte zur Herstellung von Mikrofluidikkanälen [168] . (f) In einem Mikrofluidikkanal gestreckte DNA auf Glimmer.

befanden sich Strukturen, wie beispielsweise Kanäle mit Breiten zwischen $50\ \mu\text{m}$ und $200\ \mu\text{m}$, im PDMS. Diese Kanäle konnten mit einem Skalpell herausgeschnitten werden und anschließend auf ein Glassubstrat, mit oder ohne Struktur, gepresst werden. Nachdem zwei Löcher als Reservoir in das Polymer gestanzt wurden, konnte eine Lösung mit DNA in eines der Löcher gefüllt werden, wodurch eine Strömung durch den hydrostatischen Druck im Kanal entstand [166]. DNA-Stränge, die sich nahe genug an der Oberfläche befanden, wurden dort gebunden und durch die Strömung gestreckt. DNA, die so auf einer Oberfläche fixiert wurde, hatte die gleiche Höhe wie DNA-Stränge, die durch Molecular Combing auf einer Oberfläche befestigt wurden. Weitere Nachteile dieser Art der Immobilisierung waren, dass sich immer sehr viele Verunreinigungen auf den Proben befanden und dass, wenn das PDMS über eine lithografisch hergestellte Struktur gelegt wurde, beim Abziehen das PDMS die Elektroden aus Platin mit abziehen konnte.

Immobilisieren durch positiv geladene Ionen

Wenn sich zwischen einer negativ geladenen DNA und einer negativ geladenen Oberfläche positiv geladene Moleküle, wie beispielsweise Mg^{2+} oder Ca^{+} befinden, so kann DNA auf der Oberfläche durch elektrostatische Wechselwir-

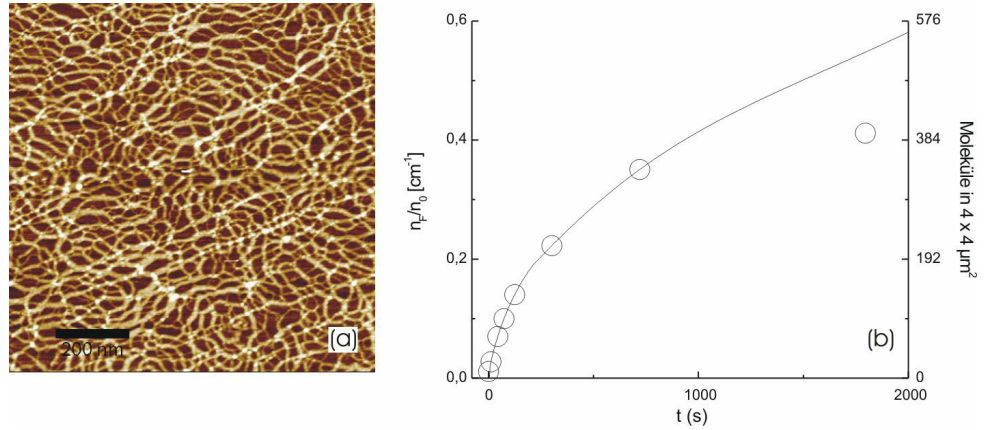


Abbildung 3.26: (a) Durch eine hohe Magnesium-Konzentration können DNA-Stränge aggregieren. (b) Verhältnis der Anzahl der immobilisierten DNA-Moleküle auf einer 1 cm^2 großen Fläche (n_F) und der Anzahl der DNA-Moleküle in einem 1 cm^3 Volumen (n_0), bzw. die Anzahl der immobilisierten DNA-Moleküle auf einer $4 \times 4 \mu\text{m}^2$ großen Fläche, in Abhängigkeit von der Zeit [169].

kungen gebunden werden. Ein Tropfen einer 2 mM CaCl_2 -Lösung (MgCl_2) mit den positiven Ionen wird auf ein gereinigtes Substrat aufgebracht. Anschließend wird ein Tropfen mit einer DNA-Stammlösung auf die Oberfläche gebracht und anschließend ebenfalls abgespült [22,128]. Die so gebundenen DNA-Moleküle sind allerdings nicht über längere Zeit stabil. Ein weiteres Problem ist, dass die DNA, wenn sich noch zu viele positive Ionen auf der Oberfläche befinden, weniger stark abstoßen und die Stränge kondensieren können (siehe Abbildung 3.26(a)). Eine alternative Möglichkeit ist, die positiven Ionen mit der Lösung, in der sich die DNA befindet, mit aufzubringen [126,156]. Bei dieser Technik diffundiert die DNA aus der Lösung in Richtung der Oberfläche. Für die Anzahl der auf der Oberfläche immobilisierten DNA-Moleküle pro Einheitsfläche n_F kann mit Hilfe der Moleküldichte n_0 die Abhängigkeit von der Zeit t durch

$$\frac{n_F}{n_0} \sim \sqrt{t} \quad (3.16)$$

beschrieben werden (Abbildung 3.26(b)) [169-170]. Verändert man die Kon-

zentration so finden Rivetti *et al.* [169] einen linearen Zusammenhang mit den immobilisierten DNA-Molekülen, allerdings nur bis zu einem bestimmten Grad der Sättigung auf der Oberfläche.

Kapitel 4

Resultate und Diskussion

λ -DNA, Poly (dG-dC) dsDNA und Poly (dT-dA) dsDNA wurden über Gapstrukturen von 20 nm bis 3000 nm gespannt. Durch Einstellen des pH-Wertes der Pufferlösung, der DNA-Konzentration in der Lösung, der Oberflächenchemie, der relativen Luftfeuchtigkeit und beim Inkubieren der Einwirkzeit kann man die Anzahl der immobilisierten DNA-Moleküle auf einer Oberfläche kontrollieren. Es ist so möglich einzelne, mehrere oder ganze Netzwerke von DNA-Molekülen zwischen die Elektroden zu spannen. Bei den anschließenden Strom-Spannungsmessungen in normaler Umgebungsluft wurden Widerstände im Bereich von $T\Omega$ gefunden. Führte man danach eine Messung in einer trockenen Argonatmosphäre durch, so stieg der Widerstand so stark an, dass kein Strom mehr messbar war.

4.1 Immobilisierung von DNA auf Oberflächen

4.1.1 Immobilisierung auf Glas und Glimmer

Um das Verhalten von DNA auf Oberflächen zu untersuchen, wurde DNA zuerst auf mit APTES funktionalisierten Oberflächen durch Inkubieren oder Molecular Combing aufgebracht. Beim Molecular Combing entstanden dabei verschiedene Zonen, in denen die DNA mit unterschiedlichen Dichten auf dem Substrat haften blieb. So befand sich am äußeren Rand des ursprünglichen Tropfens einer DNA-Lösung ($0,25 \mu\text{g DNA/ml}$) gestreckte DNA. Im mittleren Teil verdichtete sich die DNA auf dem Substrat zu einem Netzwerk oder

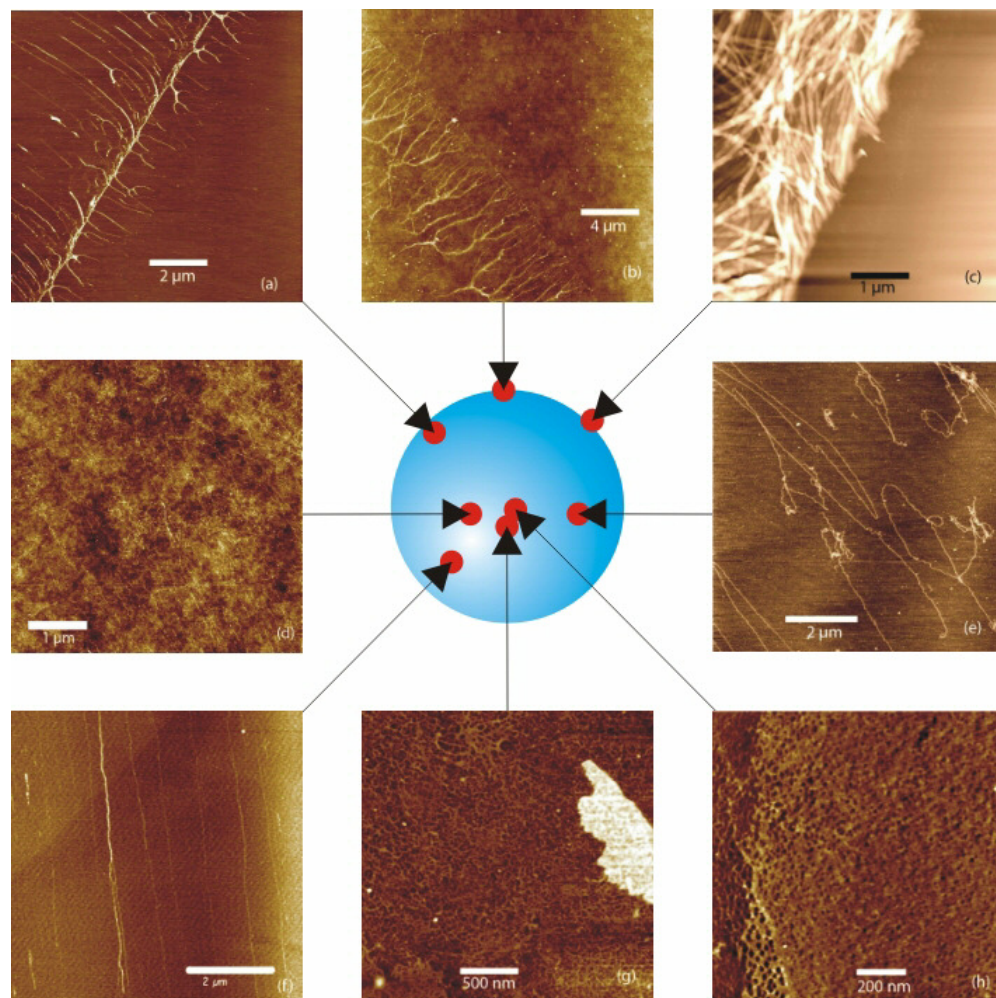


Abbildung 4.1: DNA verhält sich beim Molecular Combing bei verschiedenen Abständen vom Mittelpunkt des Tropfens unterschiedlich. Die Punkte zeigen den ungefähren Ort der Aufnahme in Relation zum ursprünglichen Tropfen.

zu aggregierter DNA, da ihre Konzentration dort beim Eintrocknen zunahm. In der letzten Zone blieb nach dem Austrocknen die restliche DNA liegen, von der ein Teil weggespült wurde. Je nach Umgebungsbedingungen konnten sich in dieser letzten Zone Bündel, Netzwerke oder glatte DNA-Schichten bilden (siehe Abbildung 4.1). Die Konzentration innerhalb des Tropfens wurde als konstant angenommen [171].

Umgebungsbedingungen wie beispielsweise die Ionenstärke konnten das Verhalten der DNA beim Immobilisieren beeinflussen. In Abbildung 4.2 sind einige Beispiele dargestellt, die nicht oder kaum reproduzierbar waren. Ein Grund für dieses Verhalten war beispielsweise, dass die DNA-Moleküle Ionen konnten und es für die Moleküle günstiger war, zu aggregieren als mit der Oberfläche in Wechselwirkung zu treten, da so die effektive Kontaktfläche mit einer geladenen Oberfläche geringer war [156]. Aggregation konnte auch durch lokale elektrostatische Wechselwirkungen zwischen der Tropfenwand, der geladenen Oberfläche und der DNA entstehen. Diese speziellen Aggregationserscheinungen waren nicht reproduzierbar. In Abbildung 4.1 (g) und (h) erkennt man aggregierte DNA, die Netzwerke mit und ohne Löcher gebildet hatten, welche sich durch hohe DNA Konzentrationen bilden konnten. Chiorcea *et al.* [172] fanden das gleiche Verhalten von DNA auf einem HOPG-Substrat (Highly Oriented Pyrolytic Graphite) mit einer Höhe von ca. 1 nm. Es wurden verschiedene Puffer (TRIS+NaCl oder EDTA+TRIS, bei verschiedenen Molaritäten) getestet, die aber bei der Immobilisierung wenig bzw. keinen Einfluss auf die DNA hatten, außer dass die DNA-Moleküle nicht so leicht aggregieren konnten [156]. Weitere Umweltbedingungen, die variiert wurden, waren die Temperatur und die Atmosphäre (Stickstoff, Argon, Kohlenmonoxid, Kohlendioxid, bestimmte Luftfeuchtigkeiten) beim Eintrocknen.

Um reproduzierbar arbeiten zu können, mussten die in Kapitel 3.4 beschriebenen Schritte zeitlich genau eingehalten werden. Abhängig von der Wartezeit nach dem Silanisieren, wurde entsprechend mehr DNA auf der Oberfläche gebunden, bis schließlich die Oberfläche mit einer homogenen DNA-Schicht bedeckt war (siehe Abbildung 4.3). Der Zeitraum bis zum Erreichen dieses Zustands hing stark von der Luftfeuchtigkeit ab. So konnte man im Winter bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von ca. 30 % die Proben bis zu 48 Stunden lagern, im Sommer bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 50 % und mehr keine Stunde. Die Abhängigkeit von der Zeit nach dem Funktionalisieren ist stärker als die Abhängigkeit von der DNA Konzentration in der Flüssigkeit oder der Einwirkzeit auf der Probe. Dies steht im klaren Ge-

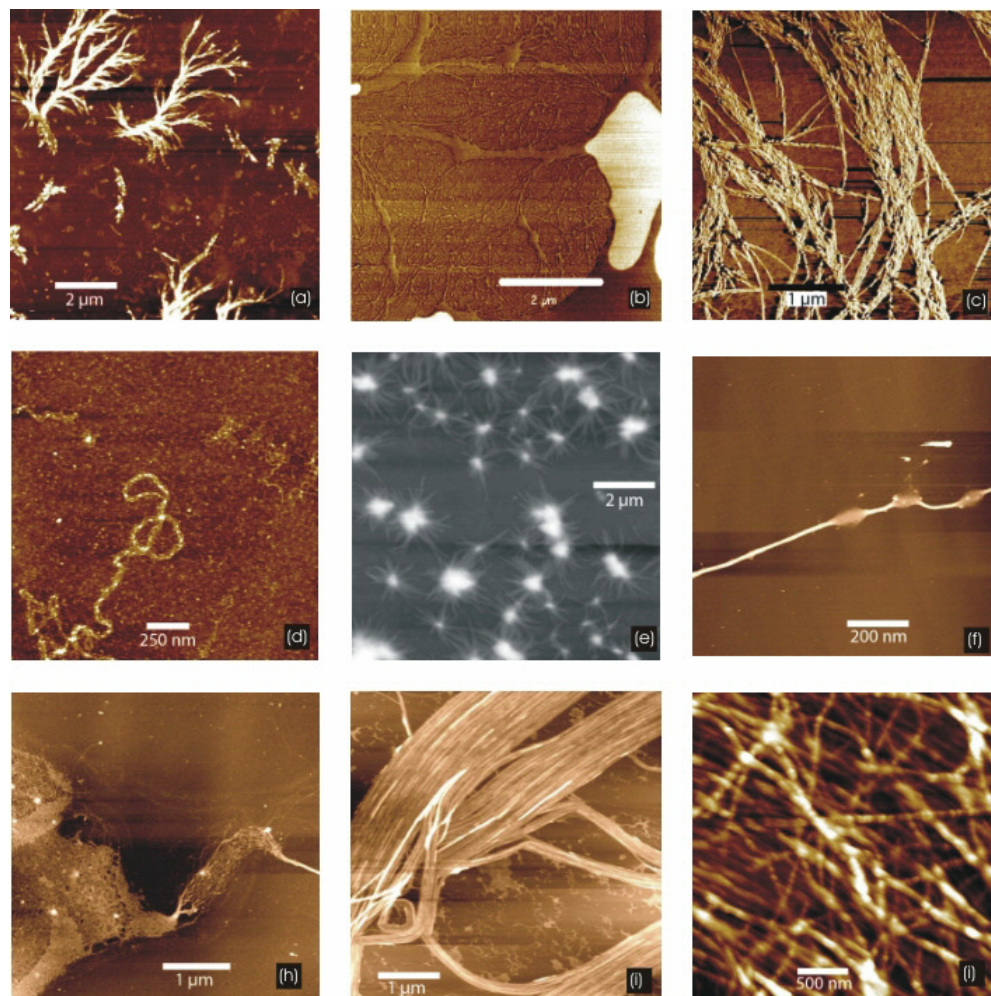


Abbildung 4.2: Verschiedene Möglichkeiten der DNA auf dem Substrat zu haften. Bei den Bildern wurde die DNA nur mit destilliertem Wasser verdünnt.

gensatz zu der Theorie der Diffusion von DNA-Molekülen in Richtung der Oberfläche, wie sie in Kapitel 3.4.4 für die Immobilisierung durch Ionen beschrieben wird [169]. Dies kann vermutlich dadurch erklärt werden, dass bei höheren Luftfeuchtigkeiten mehr freie H_3O^+ -Ionen vorhanden waren, welche die innere Struktur der APTES-Oberfläche schneller aufrauen konnten und es so zu einer stärkeren Bindung der DNA an die Oberfläche kam [154]. In einer Argonatmosphäre kann mit APTES beschichteter Glimmer länger gelagert werden. Die Temperatur der DNA-Lösung spielte beim Immobilisieren zwischen 0°C und 40°C keine Rolle. Die topographische Höhe von immobilisierter DNA ist auf Dauer nicht stabil und kann sich nach einem Monat um die Hälfte verringern (vergleiche Abbildung 4.3 (a) und (b)). Es hat sich gezeigt, dass Immobilisieren von DNA durch Inkubation verlässlicher ist als Molecular Combing, da die DNA auf der Oberfläche 3 bis 4 mal höher war und es weniger starke Kondensationserscheinungen gibt.

Bei der Immobilisierung lag die gemessene Höhe der DNA, die immer deutlich unter 2,3 nm. Dafür gibt es verschiedene Erklärungsmöglichkeiten. Wenn einzelne dsDNA-Moleküle auf einer Unterlage liegen, formiert sich ein Wasser meniskus an den Seiten und erzeugt einen Druck, der von oben auf die "weiche" DNA wirkt (siehe Abbildung 4.4 (a)), wodurch die DNA zusammengedrückt wird. Durch Inkubieren von DNA auf Glimmer oder Glas, das mit APTES funktionalisiert war, wurden Höhen von 0,6 nm bis 1,5 nm gefunden, was der Größenordnung eines aggregierten Wasserfilms auf einer Oberfläche entspricht (siehe Abbildung 3.17). Die geringere Höhe der DNA beim Molecular Combing kommt durch die Streckung der DNA [22] beim Eintrocknen des Tropfens zustande. Unter Einfluss von elektrostatischen Wechselwirkungen kann ein DNA-Molekül seine Struktur verändern. Wird DNA auf einem elektrisch geladenen Substrat immobilisiert, so kann sie sich unter dem Einfluss des elektrischen Feldes entwinden, was natürlich Einfluss auf die Höhe der DNA hat (siehe Abbildung 4.4 (b)) [19,22-24,173]. Auch einzelne Basen verändern ihre Konformation auf einer Goldoberfläche. Der C-NH₂ Teil des Adenine wechselt bei einer Bindung an Gold seine planare Konformation in eine nicht planare [160]. Elektrostatische Effekte haben auch Einfluss auf die Anzahl der DNA-Moleküle auf der Oberfläche des Substrats, da es bei unterschiedlich behandelten Oberflächen starke Unterschiede gab. Die Höhe der DNA unterschied sich allerdings bei verschiedenen Oberflächen, wie beispielsweise Glas, Glimmer, Gold, Platin, Oberflächen die mit APTES beschichtet wurden, amorphem Kohlenstoff oder Silizium kaum. Auch der Druck, den

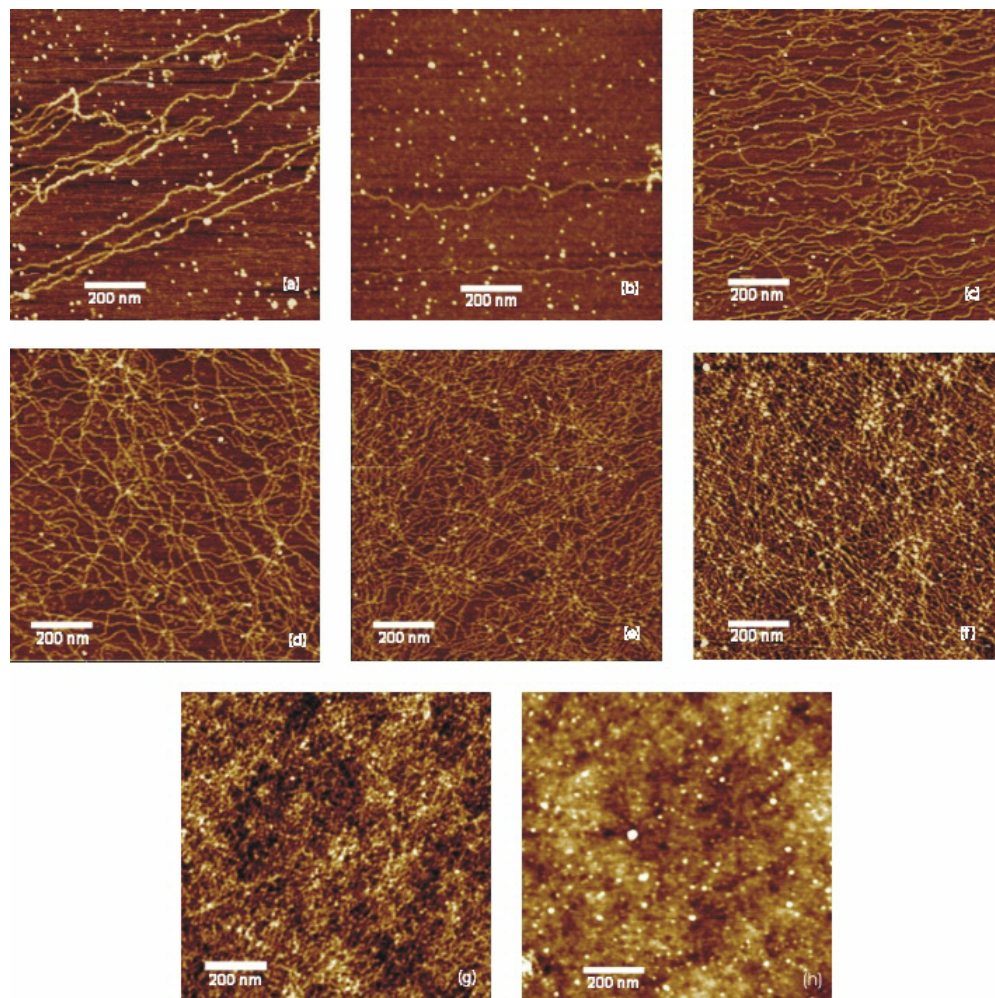


Abbildung 4.3: DNA immobilisiert auf einer Glimmeroberfläche (a) nach 1 h; (b) nach 32 Tagen, wobei die Höhe der DNA auf die Hälfte abfällt. (a), (c) - (g). Nach dem Aufdampfen von Silan waren mehr DNA-Stränge auf der Oberfläche gebunden, je länger man mit dem Aufbringen der DNA wartete.

eine Spitze auf die Probe beim Abbilden mit einem AFM ausübt, kann die weiche DNA zusammendrücken. Ein weiterer Grund für die geringe Höhe von DNA war eventuell auch, dass der Feuchtigkeitsfilm von unterschiedlich stark geladenen Oberflächen eine AFM-Spitze unterschiedlich anziehen oder abstoßen konnte und so geringe Höhenunterschiede der DNA gemessen wurden. Diese Wechselwirkungen dürften aber nur geringe Auswirkungen gehabt haben [22,137].

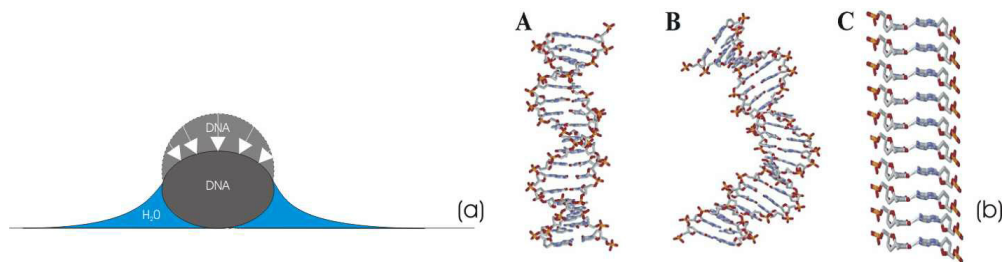


Abbildung 4.4: (a) Der Wassermeniskus, der an der DNA haftet, zieht sie herunter. (b) Schematische Darstellung der möglichen Konformationen von DNA auf einer Oberfläche. A: DNA in einer Lösung. Beide Stränge sind auf der Oberfläche gleich stark fixiert. B: Durch elektrostatische Wechselwirkungen zwischen DNA und Oberfläche wird die DNA destabilisiert und kann sich auf der Oberfläche leicht entwinden. C: Diese Wechselwirkungen können so stark werden, dass die DNA vollständig entwunden wird und flach auf der Oberfläche liegt [19].

Bei anderen Experimenten fand man, bis auf Ausnahmen, bei der DNA keine Höhe über 2,0 nm. Fast immer war die DNA kleiner und lag zwischen 0,5 nm und 1,9 nm, wobei die häufigste Höhe zwischen 0,6 nm und 0,9 nm liegt [22,128,174]. DNA in einer Höhe von über 2,0 nm fanden nur Hansma *et al.* [175-176] und Anselmetti *et al.* [178] bei Messungen, bei denen der Untergrund aus organischen Molekülen bestand. Kasumov *et al.* [109] haben einen Untergrund aus Glimmer, der mit einem Pentylamin-Molekülfilm beschichtet wurde, benutzt. Hansma *et al.* führten die Messungen in einer Flüssigkeitszelle in 1-Propanol durch, um die adhesiven Kräfte zu minimieren und einen höheren Kontrast zu erreichen. Die Messungen von Anselmetti und Kasumov wurden an Luft durchgeführt.

4.1.2 Immobilisierung von DNA zwischen Elektroden

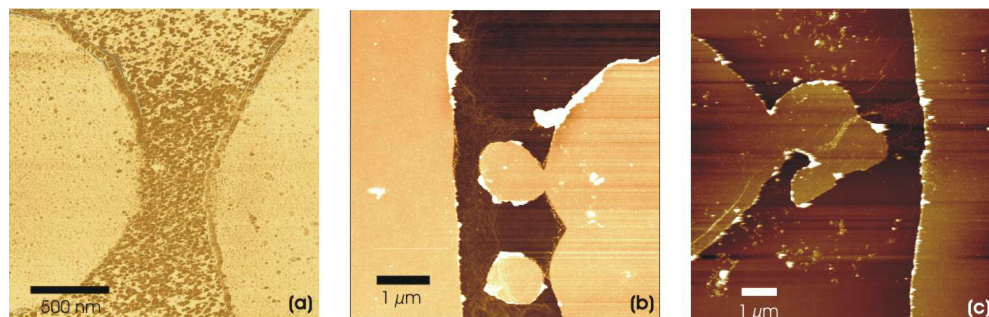


Abbildung 4.5: Verschiedene Beispiele für immobilisierte DNA, bei denen die Strömung sichtbaren Einfluss hatte. (a) Phasenbild von zerriebener DNA, die durch den Wassermeniskus senkrecht zur Elektrode heruntergezogen wurde und sich vor der Hauptelektrode staute; (b) gleicher Effekt mit unbeschädigter DNA; (f) der Meniskus wanderte über die Platinzunge von der Seite zur Hauptelektrode und nimmt dabei die Form der Elektrode an. An der Seite erkennt man ein gestrecktes DNA-Bündel, das die Form der DNA angenommen hatte.

Versucht man DNA auf Edelmetallen wie Platin oder Gold aufzubringen, so stellt man fest, dass fast immer nur ein dichter DNA-Film entsteht, der Ähnlichkeiten hat mit einer APTES-funktionalisierten Probe, die zu lange vor dem Aufbringen der DNA der Luftfeuchtigkeit ausgesetzt wurde (vergleiche Abbildung 4.3 (h)). Diese starken Bindungskräfte mit den Oberflächen machen die genaue Dosierung von DNA-Strängen über Elektroden sehr schwierig. Wenn DNA die gleichen Bindungsstellen auf einer Platinoberfläche benutzt wie Wassermoleküle, so wird DNA, im Vergleich zu anderen Oberflächen, recht stark an die Platinoberfläche gebunden. Die Rauigkeit einer Oberfläche wird, analog zum Wasser, durch die Veränderung der Bindungsmöglichkeiten, einen starken Einfluss auf das Absorptionsverhalten der DNA haben. Einzelne dsDNA-Moleküle können aufgrund dieser großen Wechselwirkungen nur beim Molecular Combing beobachtet werden. Es zeigte sich, dass Immobilisierung durch die Methode der Inkubierung, trotz besserer struktureller Eigenschaften, nicht geeignet ist einzelne DNA Moleküle zwischen Metallelektroden auszurichten.

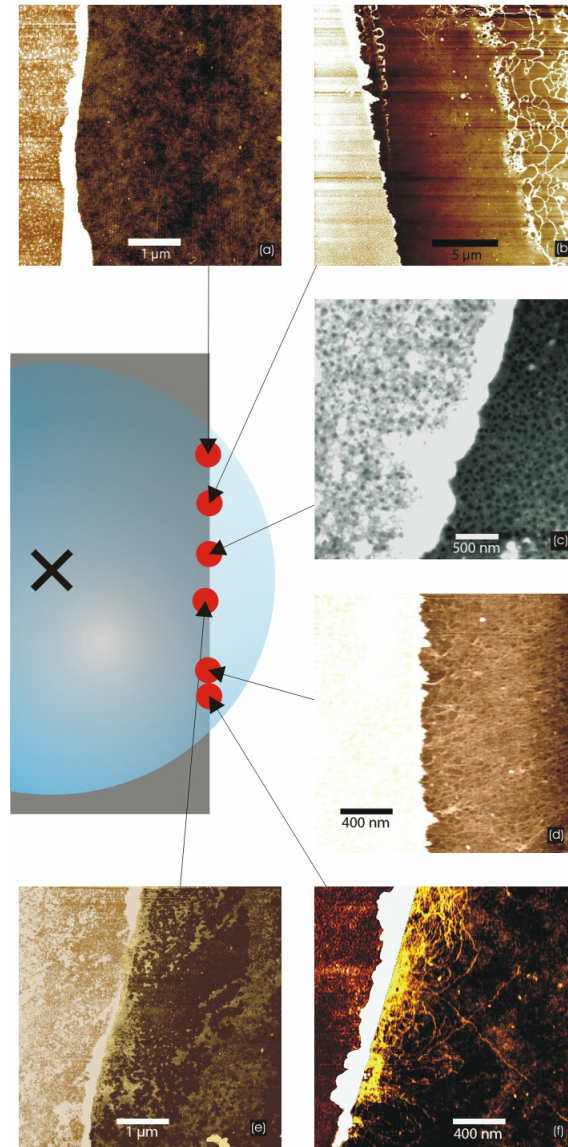


Abbildung 4.6: Beispiele für die Struktur von DNA, die beim Molecular Combing von einer Kante runtergezogen wurde, in Abhängigkeit vom Ort.

Da Platin hydrophob, Glas aber hydrophil ist, zieht sich der Flüssigkeitsmeniskus beim Molecular Combing unterschiedlich schnell zurück. Dadurch konnten Strömungen am Rand der Platinzungen entstehen, durch welche die DNA entlang der Zunge gestreckt wird. Stößt DNA beim Molecular Combing auf ein Hindernis, so kommt es vor, dass sie dieses nicht überwinden kann. Höhere Kanten, wie sie beispielsweise bei lithografisch hergestellten Strukturen vorkommen, konnten auch Strömungen in der Lösung erzeugen. In Abbildung 4.5 sieht man einige Beispiele für immobilisierte DNA zwischen Elektroden. In Bild 4.5 (a) ist "fleckige" DNA zwischen den Elektroden dargestellt, welche durch den sich zurückziehenden Wassermeniskus und die unterschiedliche Oberflächenchemie senkrecht von der Elektrodenkante herrunterfloss und vor der Hauptelektrode gestaut wurde. Die Bilder 4.5 (b) und (c) zeigen den gleichen Effekt mit unbeschädigter DNA, bei dem sie der Form der Elektroden folgte und nicht vorzeitig von der Kante gezogen wurden. Am Ende floss die DNA wieder senkrecht von den Zungen und staute sich vor der Hauptelektrode. Damit die DNA über beide Elektroden gespannt werden kann, ist es von Vorteil, wenn der Meniskus möglichst schnell über die Elektroden gezogen wird, damit die unterschiedlichen Oberflächenkräfte weniger stark wirken können.

Um möglichst wenig Verunreinigungen durch DNA-Fragmente zwischen den Elektroden zu erhalten, wurde beim Immobilisieren durch Molecular Combing der Tropfen möglichst nahe an die Hauptelektrodenkante gelegt. Durch die Rauigkeit der Platinoberflächen und die Kräfte, die durch Oberflächenspannung an der DNA angreifen, kann die DNA dort zerrieben werden. In Abbildung 4.6 (b) sieht man DNA, die durch Molecular Combing über eine Platinkante gezogen wurde und vor der Kante eine glatte Struktur bildet, die in größerer Entfernung aggregierte. Die Fähigkeit von DNA, eine glatte Struktur zu bilden, macht es besonders schwierig zu bewerten, ob sich DNA über den Strukturen befindet oder nicht. Einzelne dsDNA konnte man nur dann beobachten, wenn beim Molecular Combing der Tropfen so auf die Struktur aufgebracht wurde, dass er nicht zu weit über die Oberfläche gezogen wurde. Der Tropfen musste so platziert werden, dass es bei einer bestimmten Trocknungszeit der DNA die Möglichkeit gab an die Oberfläche zu binden. Dabei durfte die Trocknungszeit aber nicht zu lang sein, so dass nicht zu viel DNA an der Oberfläche gebunden war. Da die Tropfenoberfläche unterschiedlich weit von der Platinkante entfernt war, kam es an verschiedenen Stellen zu unterschiedlicher Aggregation (siehe Abbildung

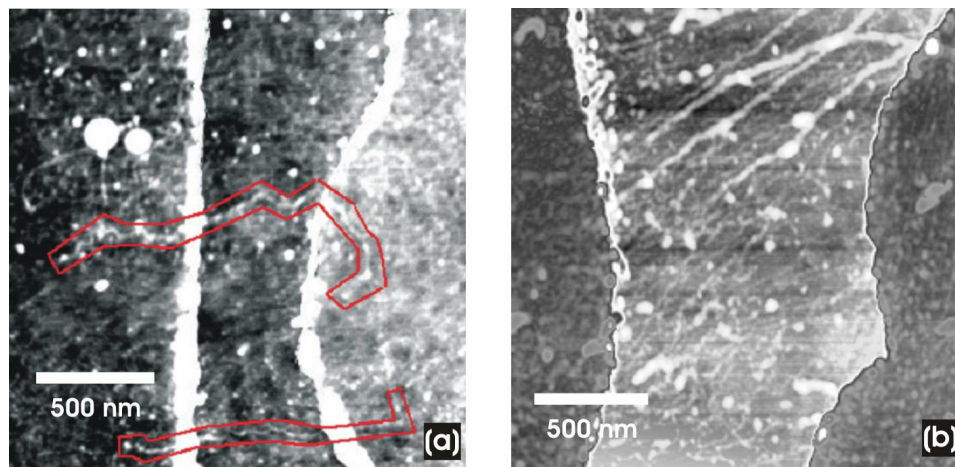


Abbildung 4.7: Zwei verschiedene Proben mit unterschiedlichen DNA-Konzentrationen und -anordnungen zwischen den Elektroden. (a) Zwei einzelne DNA-Stränge zwischen zwei 455 nm weit auseinander liegenden Elektroden, die auf einem DNA-Netzwerk liegen; (b) Phasenbild von dichter DNA und DNA-Bündeln, die sich über einen 1,2 μm großen Spalt legten.

4.6).

In Abbildung 4.7 sieht man weitere Beispiele für verschiedene Arten und Konzentrationen von DNA, die zwischen Elektroden gebunden wurde.

4.2 Strom-Spannungs-Messungen an DNA

4.2.1 Bewertung der Strom-Spannungs-Kennlinien

Kapazitive Effekte

In Abbildung 4.8 ist eine typische Strom-Spannungskennlinie gezeigt. Da bei kleinen Strömen kapazitive Effekte, hohe Innenwiderstände von Messgeräten oder Leckströme eine Rolle spielen, wird bei den Messdaten eine Ersatzschaltung zur Auswertung benutzt. In Abbildung 4.8 ist das Ersatzschaltbild dargestellt, in dem die Widerstände parallel zu der Streukapazität C verlaufen. Wenn man die Widerstände R_{DNA} und R_{Glas} , die über der Probe abfallen, als parallel geschaltete Widerstände zu

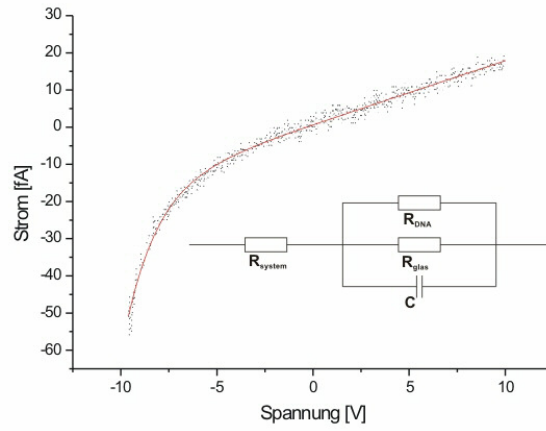


Abbildung 4.8: Eine typische Strom-Spannungs-Kennlinie für DNA in einer wasserfreien Atmosphäre.

$$R_{\Sigma} = \frac{R_{DNA} R_{Glas}}{R_{DNA} + R_{Glas}} \quad (4.1)$$

zusammenfasst und die zeitabhängige Spannung $U(t)$ durch

$$\begin{aligned} U(t) &= -U_0 + \mu t \\ t &= \frac{U(t) + U_0}{\mu} \end{aligned} \quad (4.2)$$

$$\Rightarrow \dot{U}(t) = \mu \quad (4.3)$$

beschreibt, so findet man mit den Kirchhoffregeln die Gleichungen

$$I_{Sys} = I_{\Sigma} + I_C \quad (4.4)$$

$$U(t) = I_{S_{ys}}R_{S_{ys}} + \frac{Q}{C} \quad (4.5)$$

$$\Rightarrow \dot{U}(t) = \mu = \dot{I}_{S_{ys}}R_{S_{ys}} + \frac{I_C}{C} \quad (4.6)$$

$$\Leftrightarrow I_C = \mu C - \dot{I}_{S_{ys}}R_{S_{ys}} + \dot{I}_{S_{ys}}R_{S_{ys}}C \quad (4.7)$$

$$U(t) = I_{S_{ys}}R_{S_{ys}} + I_{\Sigma}R_{\Sigma} \quad (4.8)$$

$$\Leftrightarrow I_{\Sigma} = \frac{U(t) - I_{S_{ys}}R_{S_{ys}}}{R_{\Sigma}} = \frac{-U_0 + \mu t - I_{S_{ys}}R_{S_{ys}}}{R_{\Sigma}}. \quad (4.9)$$

Durch Einsetzen von (4.5) und (4.8) in (4.4) erhält man die Differentialgleichung

$$I_{S_{ys}} = \frac{-U_0 + \mu t - I_{S_{ys}}R_{S_{ys}}}{R_{\Sigma}} + \mu C + \dot{I}_{S_{ys}}R_{S_{ys}}C \quad (4.10)$$

$$\Leftrightarrow 0 = I_{S_{ys}} \left(\frac{R_{S_{ys}}}{R_{\Sigma}} + 1 \right) + \dot{I}_{S_{ys}}R_{S_{ys}}C - \frac{\mu}{R_{\Sigma}}t + \frac{U_0}{R_{\Sigma}} - \mu C. \quad (4.11)$$

Für die Lösung der Differentialgleichung benutzt man den Ansatz

$$\begin{aligned} I_{S_{ys}} &= \alpha + \beta t + \chi e^{-\lambda t} \\ &\Rightarrow \dot{I}_{S_{ys}} = \beta - \lambda \chi e^{-\lambda t}. \end{aligned} \quad (4.12)$$

Durch Einsetzen in (4.10) und Koeffizientenvergleich erhält man für die Variablen

$$\alpha = \frac{-U_0 + \mu C R_{\Sigma}}{R_{S_{ys}} + R_{\Sigma}} - \frac{-U_0 + \mu C R_{\Sigma} R_{S_{ys}}}{(R_{S_{ys}} + R_{\Sigma})^2} \quad (4.13)$$

$$\beta = \frac{\mu}{R_{\Sigma} + R_{S_{ys}}} \quad (4.14)$$

$$\lambda = \frac{1}{R_{S_{ys}}C} + \frac{1}{R_{\Sigma}C}, \quad (4.15)$$

wobei χ durch die Anfangsbedingungen bestimmt wird. Mit (4.12), (4.13), (4.14) und (4.15) erhält man dann als Lösung des Anfangsproblems

$$I_{S_{ys}} = \frac{-U_0 + \mu C R_\Sigma}{R_{S_{ys}} + R_\Sigma} - \frac{-U_0 + \mu C R_\Sigma R_{S_{ys}}}{(R_{S_{ys}} + R_\Sigma)^2} \quad (4.16)$$

$$+ \frac{\mu}{R_\Sigma + R_{S_{ys}}} t + \chi e^{-\left(\frac{1}{R_{S_{ys}} C} + \frac{1}{R_\Sigma C}\right) t} \quad (4.17)$$

$$I_{S_{ys}} = \frac{-U_0 + \mu C R_\Sigma}{R_{S_{ys}} + R_\Sigma} - \frac{-U_0 + \mu C R_\Sigma R_{S_{ys}}}{(R_{S_{ys}} + R_\Sigma)^2} + \frac{\mu}{R_\Sigma + R_{S_{ys}}} \left(\frac{U(t) + U_0}{\mu} \right) + \chi e^{-\left(\frac{1}{R_{S_{ys}} C} + \frac{1}{R_\Sigma C}\right) \left(\frac{U(t) + U_0}{\mu} \right)} \quad (4.18)$$

$$I_{S_{ys}} = \frac{-2U_0 + \mu C R_\Sigma}{R_{S_{ys}} + R_\Sigma} - \frac{-U_0 + \mu C R_\Sigma R_{S_{ys}}}{(R_{S_{ys}} + R_\Sigma)^2} + \frac{U(t)}{R_\Sigma + R_{S_{ys}}} + \chi e^{-\left(\frac{U(t)}{\mu}\right)} e^{-\left(\frac{1}{\mu R_{S_{ys}} C} + \frac{1}{\mu R_\Sigma C}\right) U(t)} \quad (4.19)$$

$$I_{S_{ys}} = K_3 + \frac{U(t)}{\frac{R_{DNA} R_{Glas}}{R_{DNA} + R_{Glas}} + R_{S_{ys}}} + K_1 e^{-\frac{U(t)}{K_2}} \quad (4.20)$$

mit

$$K_1 = \chi e^{-\left(\frac{U_0}{\mu}\right) \left(\frac{1}{R_{S_{ys}} C} + \frac{1}{\frac{R_{DNA} R_{Glas}}{R_{DNA} + R_{Glas}} C} \right)}$$

$$K_2 = \frac{\mu R_{S_{ys}} C}{R_{S_{ys}} + \frac{R_{DNA} R_{Glas}}{R_{DNA} + R_{Glas}}}$$

$$K_3 = \frac{-2U_0 + \mu C \frac{R_{DNA} R_{Glas}}{R_{DNA} + R_{Glas}}}{R_{S_{ys}} + \frac{R_{DNA} R_{Glas}}{R_{DNA} + R_{Glas}}} - \frac{-U_0 + \mu C \frac{R_{DNA} R_{Glas}}{R_{DNA} + R_{Glas}} R_{S_{ys}}}{\left(R_{S_{ys}} + \frac{R_{DNA} R_{Glas}}{R_{DNA} + R_{Glas}} \right)^2}.$$

K_1 , K_2 und K_3 sind Konstanten, die stark von der Kapazität C abhängen. Da diese Kapazität von wechselhaften Umgebungseinflüssen, wie beispielsweise der Luftfeuchtigkeit oder den Leitsilbertropfen an den Anschlüssen abhängt, wurde der Offset in den Strom-Spannungskennlinien nicht beachtet und herausgenommen, um die Kennlinien übersichtlicher zu präsentieren. Der Widerstand konnte dann aus dem mit der Spannung linearen Term der angefiteten Funktion herausgerechnet werden.

Mit den Annahmen $R_{Sys} \ll R_{DNA}$ und $R_{Sys} \ll R_{Glas}$ reduziert sich (4.10) zu

$$I_{Sys} = K_3 + \frac{U(t)}{\frac{R_{DNA}R_{Glas}}{R_{DNA}+R_{Glas}}} + K_1 e^{-\frac{U(t)}{K_2}}. \quad (4.21)$$

Die Leitwerte G_Σ und G_{DNA} werden durch

$$G_\Sigma = G_{DNA} + G_{Glas} = \frac{1}{R_\Sigma} = \frac{1}{R_{DNA}} + \frac{1}{R_{Glas}} \quad (4.22)$$

$$\Leftrightarrow R_{DNA} = \frac{1}{G_\Sigma - G_{Glas}} \quad (4.23)$$

definiert, so dass man den Widerstand für DNA einfach durch den Kehrwert des Leitwertes von DNA erhält, den man wiederum durch Subtraktion der beiden Steigungen der Strom-Spannungskurven mit und ohne DNA findet.

Elektrochemische Effekte

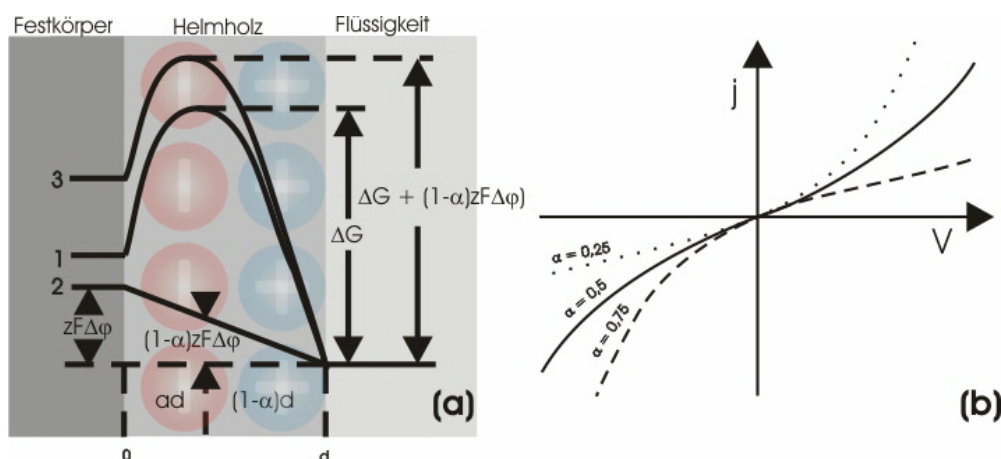


Abbildung 4.9: (a) Potentialverlauf und (b) Strom-Spannungsverhalten bei einer reversiblen elektrolytischen Reaktion [179]

Legt man an zwei Elektroden aus Metall, die in eine Lösung eingetaucht sind, eine Spannung an, so kommt es an den Metallelektroden zu elektrochemischen Reaktionen mit der Lösung. Kurve 1 in Abbildung 4.9 (a) beschreibt

den Verlauf der freien Aktivierungsenthalpie ΔG für eine elektrochemische Reaktion vor einer Elektrode. Der Beitrag des elektrischen Potentials der Helmholtzschicht wird in Kurve 2 dargestellt, so dass sich das Gesamtpotential vor einer Elektrode durch Kurve 3 beschreiben lässt. Abbildung 4.9 (b) zeigt das typische Verhalten einer reversiblen elektrochemischen Reaktion, die durch die Butler-Volmer-Gleichung beschrieben werden kann:

$$j = j_0 \left(e^{\frac{\alpha z e \eta_D N_A}{k_B T}} - e^{\frac{-(1-\alpha) z e \eta_D N_A}{k_B T}} \right). \quad (4.24)$$

Wobei: $z \equiv$ Ladungszahl der Ionen, $N_A \equiv$ Avogadro-Konstante, $e \equiv$ Elementarladung, $j_0 \equiv$ vom Elektrodenmaterial abhängige Stromdichte, $\alpha \equiv$ Durchtrittsfaktor, $\eta_D \equiv$ Überspannung. Der Durchtrittsfaktor α ist eine geometrische Konstante, die das elektrische Potential der Helmholtzschicht beschreibt, in welcher die Reaktion stattfindet (siehe Abbildung 4.9 (a)). Der Reaktionsort wird durch den Verlauf der Aktivierungsenergie festgelegt. In Abbildung 4.9 (b) erkennt man, dass mit wachsendem α der Einfluss des elektrischen Potentials der Helmholtzschicht auf die Strom-Spannungs-Kennlinie wächst. Die Überspannung η_D beschreibt die Veränderung der Elektrode, beispielsweise durch Polarisierungserscheinungen, mit der Zeit. Die Butler-Volmer-Gleichung gilt für idealisierte unendlich lange Elektroden. Daher müssten für den realen Fall geometrische Faktoren berücksichtigt werden [179-180]. Da die Wasserfilme auf der Probe eine Höhe von höchstens 2 nm haben [132], spielen natürlich auch die elektrischen und strukturellen Eigenschaften der Substratoberfläche eine große Rolle.

4.2.2 Strommessung durch kontaktierte DNA-Moleküle

In der Regel wurde an den Elektroden eine Spannung von -10 V bis +10 V durchgefahren. Bei einer Umkehrung des Spannungsverlaufs lieferten nur kapazitive Effekte Unterschiede in den Messkurven. Die Strom-Spannungs-Kennlinien stiegen, nachdem Kapazitäten des Messaufbaus umgeladen worden waren, meistens linear.

Die Steigung der Geraden ist damit den Leitwert des Systems wieder. Meistens war der Leitwert bei zwei hintereinander ausgeführten Messungen gleich. Es gab allerdings Messungen, bei denen der Leitwert mit jeder Messung leicht, bis zu einem Gleichgewichtswert, abnahm. Die Steigung der Geraden war,

nachdem DNA zwischen die Elektroden gespannt wurde, immer größer als bei den Referenzmessungen ohne DNA bei gleicher Luftfeuchtigkeit. Ausnahme war die Poly(dC) - Poly(dG) DNA, welche bei hohen Dichten bei Umgebungsbedingungen sogar geringeren Strom zeigte als Proben ohne DNA. Die Höhe des Leitwerts hängt von vielen Faktoren wie beispielsweise der Elektrodenform, dem Abstand der Elektroden, der Luftfeuchtigkeit, der DNA-Struktur und der Höhe ab. Es konnte aber keine Abhängigkeit des Leitwertes von der Spaltbreite, bei gleicher Luftfeuchtigkeit, gefunden werden.

In Abbildung 4.10 (e) sieht man Poly(dC)-Poly(dG) dsDNA, die über einen 25 nm großen Spalt mit einer dichten Netzwerkstruktur gezogen wurde. Der gefundene Leitwert von $5,6 \times 10^{-15}$ S ist viel kleiner als bei den meisten Proben ohne DNA. Eine mögliche Erklärung ist, dass die Poly(dC)-Poly(dG)-dsDNA dichter aneinander liegen und untereinander aggregieren kann. Folglich können weniger Ionen durch kleineren Wassermantel entlang der DNA transportiert werden.

Abbildung 4.11 zeigt DNA, die relativ zur Elektrode recht hoch zwischen den Elektroden immobilisiert wurde und trotz des recht großen $2 \mu\text{m}$ Spalts einen hohen Leitwert von $2,5 \cdot 10^{-12}$ S zeigt. Die Ionen konnten sich über einen ca. 7 nm hohen DNA-Film bewegen statt wie in Abbildung 4.10 über eine Monolage dsDNA.

Der Leitwert bei Messungen an normaler Umgebungsluft hängt vermutlich stark von einer effektiven Oberfläche ab, die durch die immobilisierte DNA zwischen den Elektroden vergrößert wurde. So zeigen die einzelnen λ -DNA-Stränge in Abbildung 4.10 (c) mit $9,7 \cdot 10^{-13}$ S einen relativ hohen Leitwert über einen 450 nm großen Spalt. Die einzelnen λ -DNA-Stränge haben, wenn man sie sich als kleine Rohre mit 2 nm Durchmesser vorstellt, eine größere Oberfläche an der das Wasser kondensieren kann, als bei dem Poly(dC) - Poly(dG)-DNA-Netzwerk in Abbildung 4.10 (e). Dabei waren die DNA-Stränge über wenige unbewegliche (siehe Kapitel 2.1.5) Wassermoleküle miteinander verbunden, daher standen wenige frei bewegliche Ionen zur Verfügung. Auch hier scheint eine effektive größere Oberfläche den Leitwert zu steigern.

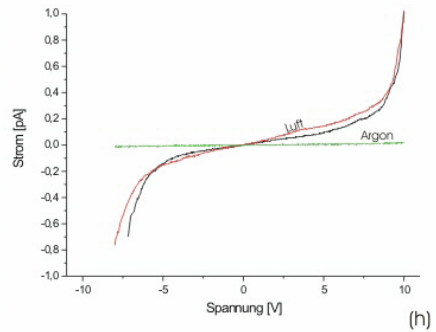
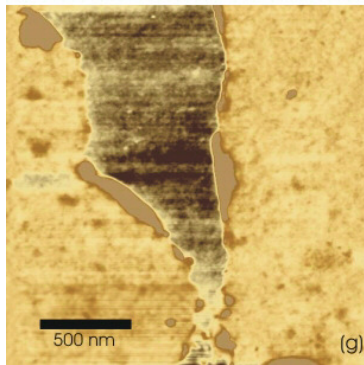
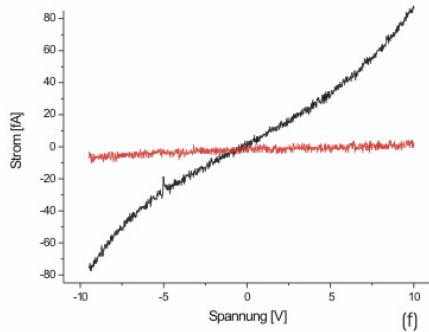
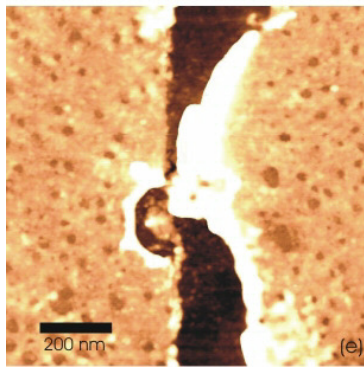
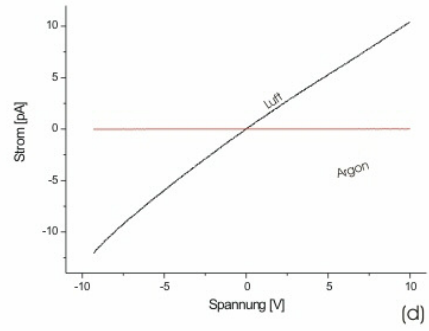
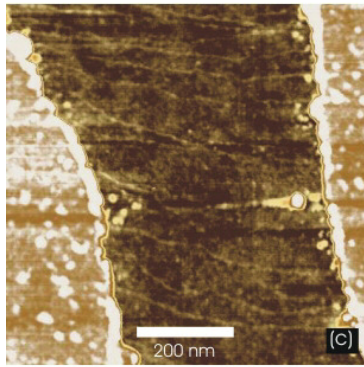
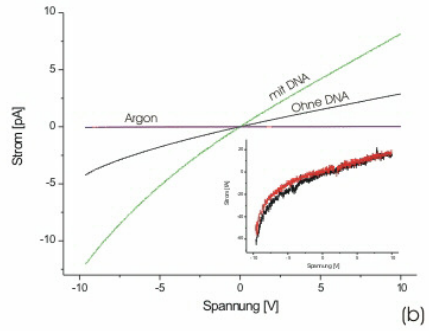
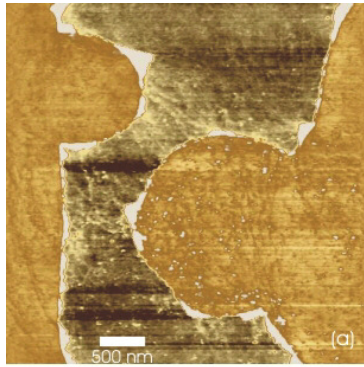


Abbildung 4.10: Verschiedene Proben und die dazugehörigen Strom-Spannungs-Kennlinien. (a) Dichte λ -DNA, die teilweise zu dichteren Bündeln kondensierte, zwischen zwei 560 nm weit auseinanderliegenden Elektroden. (b) In der Strom-Spannungsmessung zu (a) ist der Leitwert mit DNA $7,92 \times 10^{-13}$ Si und ohne DNA $2,79 \times 10^{-13}$ Si. Der Einschub zeigt die Messung in einer trockenen Argonatmosphäre, bei der die Leitfähigkeit $1,84 \times 10^{-15}$ Si betrug. (c) Einzelne λ -DNA-Moleküle, die in einem 480 nm großen Spalt liegen. (d) Bei der Messung wurde eine Leitfähigkeit von $9,55 \times 10^{-13}$ Si gefunden. (e) Poly(dG)-Poly(dC)-dsDNA bildete über einem ca. 25 nm breiten Spalt ein DNA-Netzwerk, das eine recht geringe Leitfähigkeit von $5,6 \times 10^{-15}$ Si (f) besaß. (g) Bei diesem ca. 70 nm großen Spalt legte sich ein sehr glattes Netzwerk über die Struktur, wobei die Strom-Spannungs-Kennlinie einen halbleiterartigen bzw. elektrochemischen Charakter zeigte.

Der Leitwert der DNA fällt allen Proben jedes Mal stark ab, wenn sie mit einer wasserfreien Atmosphäre (Argon, Stickstoff, Vakuum) getrocknet wird. Zwischen der Probe mit DNA und der Referenz ohne DNA konnte dann kein Unterschied gefunden werden. Nach dem Belüften zeigen die Proben wieder Leitwerte in der gleichen Größenordnung.

Wenn der Elektrodenabstand kleiner als 500 nm ist und eine bestimmte Luftfeuchtigkeit und DNA-Dichte gegeben ist, kann es vorkommen, dass die Kennlinien einen nicht-linearen Verlauf nehmen. In Abbildung 4.10 (g) sieht man bei der Kennlinie einen Verlauf, wie er typischerweise bei Halbleitern vorkommt. Die Messung kann aber auch als das typische Verhalten einer reversiblen elektrochemischen Reaktion, die durch die Butler-Volmer-Gleichung (4.24) beschrieben wird, interpretiert werden. Welche Form die Kennlinie annimmt hängt stark mit der Beweglichkeit der Ionen und ihrer Konzentration zwischen den Elektroden ab.

Die nicht-linearen Kennlinien können auch bei den Vorabmessungen ohne DNA beobachtet werden. Nach dem Trocknen der Proben in einer Stickstoff- oder Argon-Atmosphäre verschwinden die nicht-linearen Effekte meistens, wenn die Messung danach unter Umgebungsbedingungen wiederholt wurde. Dieses sind deutliche Hinweise darauf, dass es sich hier um eine elektrolytische

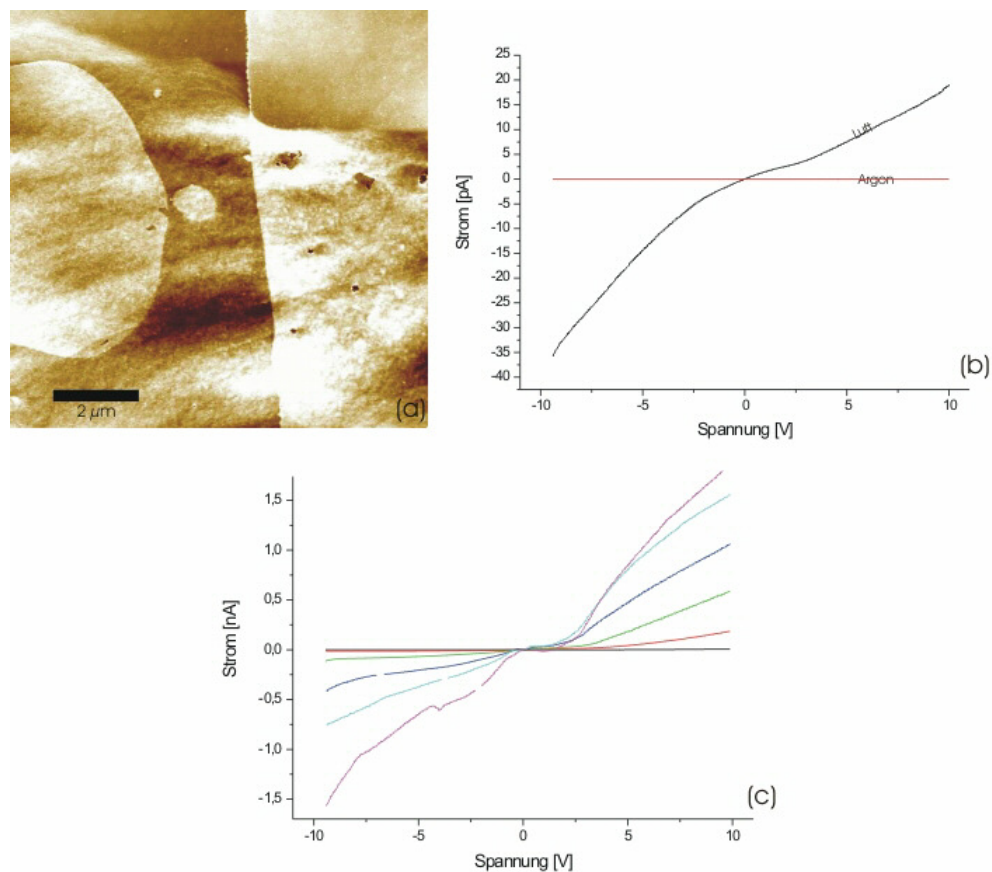


Abbildung 4.11: (a) Ein $2,1 \mu\text{m}$ großer Spalt, in dem eine Insel mit einem Durchmesser von ca. $1 \mu\text{m}$ liegt. Die DNA zwischen den Elektroden ist stark gestreckt, relativ hoch und sehr dicht. (b) Strom-Spannungsmessung bei normaler Umgebungsluft ($2,2 \times 10^{-12} \text{ Si}$) und einer trockenen Argonatmosphäre. (c) Strom-Spannungsmessung in gesättigter Luftfeuchtigkeit, bei der die Leitfähigkeit mit der Zeit steigt.

Reaktion an den Platinkontakten mit elektrischen Doppelschichten an den Elektrodenwänden und an der Substratoberfläche handelt.

Proben, die mit APTES behandelt wurden, haben bei gleicher Luftfeuchtigkeit einen geringeren Leitwert als vorher ohne APTES. Wurde anschließend DNA zwischen den Elektroden kontaktiert, steigt der Strom erwartungsgemäß an.

In Abbildung 4.10 sind einige Beispiele für Strom-Spannungskennlinien verschiedener Elektroden und DNA-Anzahlen gezeigt. Diese Kennlinien zeigen, dass nur dann Strom fließen kann, wenn genügend Feuchtigkeit an der DNA kondensiert. In trockenen Atmosphären konnte mit DNA kein signifikant höherer Strom gemessen werden als bei einer Leerprobe. Dieses Ergebnis trifft auch für die Abbildungen 4.7 zu.

Versuche, die interkalierenden Farbstoffe YoYo-1 und Ethidiumbromid an die DNA binden zu lassen, zeigten keinen veränderten Leitwert.

4.2.3 Strommessung bei definierten Luftfeuchtigkeiten

Um den Einfluss der Luftfeuchtigkeit bei den Strom-Spannungsmessungen zu untersuchen, wurden die Kennlinien in einem definierten Stickstoff/ Wasserdampfgemisch aufgenommen. Dabei zeigt sich eine exponentielle Abhängigkeit der Leitwert von der Luftfeuchtigkeit (siehe Abbildung 4.12 (b)). Auch der Offset (K_3) (siehe Abbildung 4.12 (c)) und die Konstanten K_1 (siehe Abbildung 4.12 (d)) und K_2 (siehe Abbildung 4.12 (e)) zeigen eine leichte Abhängigkeit von der relativen Luftfeuchtigkeit. Daneben werden sie hauptsächlich von den Kapazitäten des Aufbaus beeinflusst (z. B. Leitsilbertropfen), so dass ihre Abhängigkeit von der Feuchtigkeit häufig nicht ins Gewicht fällt, obwohl der Leitwert immer noch eine exponentielle Abhängigkeit von der Feuchtigkeit zeigt. Der exponentielle Zusammenhang zwischen Leitwert und Feuchtigkeit wurde auch für Proben ohne DNA (siehe Abbildung 4.13) allerdings bei deutlich kleineren Strömen gefunden.

Wurden die Proben einer Atmosphäre mit gesättigter Luftfeuchtigkeit ausgesetzt, so stieg der Strom mit der Zeit immer stärker an, bis er im Bereich von einigen nA liegt. Auch die Form der Kennlinien wich immer stärker von der Linearität ab. Ab einer Luftfeuchtigkeit von über 60 % wurde beobachtet, dass die Elektroden durch elektrolytische Reaktionen beschädigt wurden. Diese Proben waren in der Regel nach der Messung nicht mehr zu verwenden.

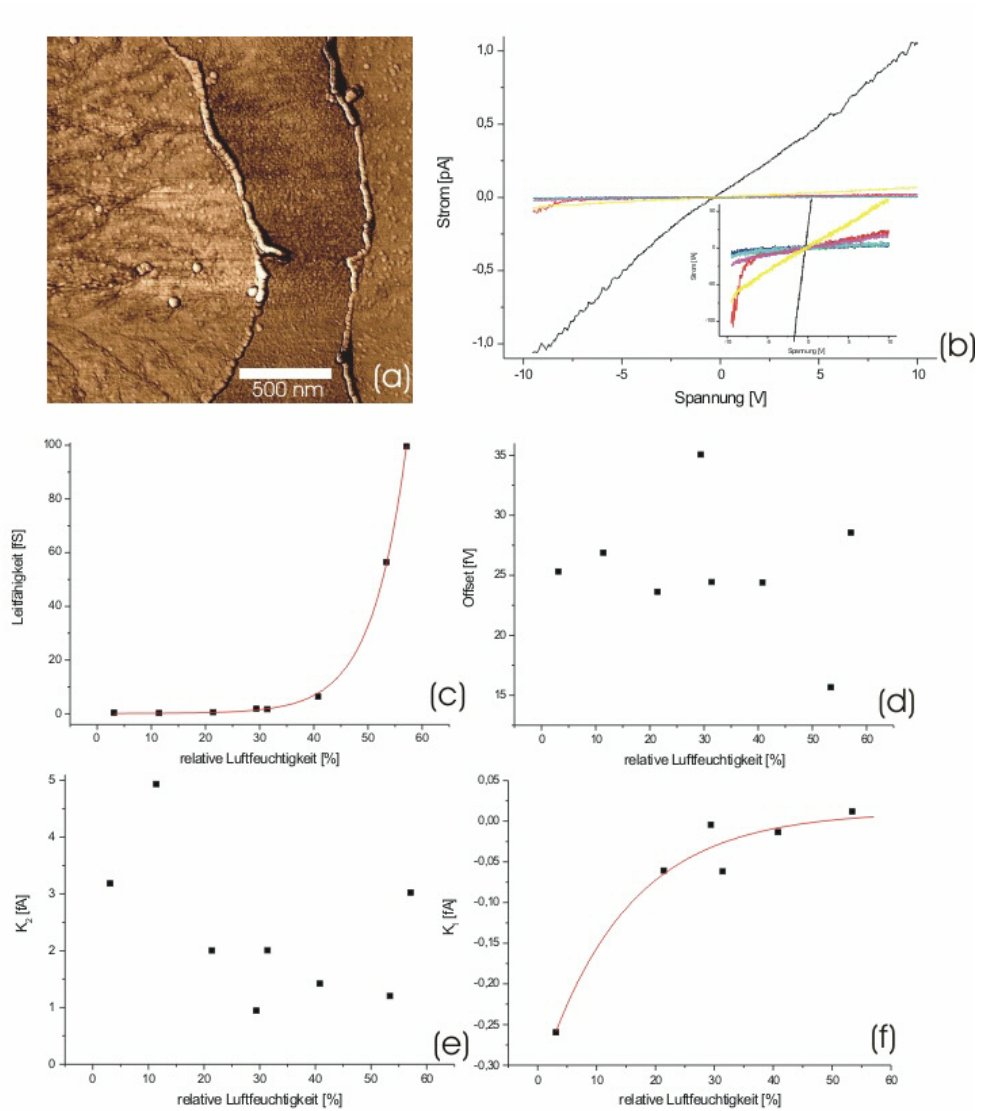


Abbildung 4.12: (a) λ -DNA, die zwischen zwei 460 nm weit auseinanderliegenden Elektroden gespannt wurde. (b) Kennlinien zu den Messungen bei verschiedenen Luftfeuchtigkeiten. Der Einschub zeigt die Kennlinien bei kleineren Luftfeuchtigkeiten. Die restlichen Abbildungen zeigen die Leitfähigkeit (c), den Offset (d), K_1 (e) und K_2 in Abhängigkeit von der relativen Luftfeuchtigkeit.

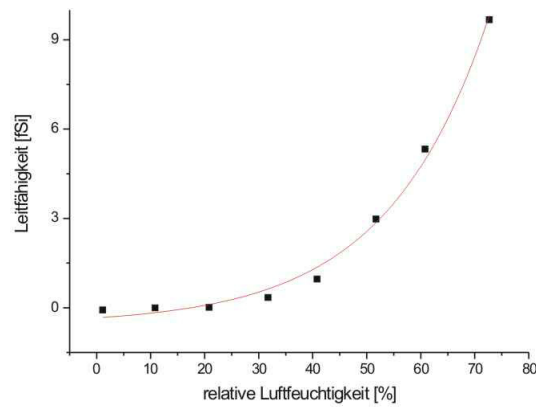


Abbildung 4.13: Abhängigkeit der Leitfähigkeit von der relativen Luftfeuchtigkeit bei einer Probe, bei der keine DNA zwischen den Elektroden lag.

4.3 Leitfähigkeitsmessungen mit dem AFM

4.3.1 Aufbau

Um Leitfähigkeitsmessungen mit einem AFM durchführen zu können, wurde eine mit Platin beschichtete Spitze in einen speziell isolierten Halter eingebaut. Zum Besputtern wurden Cantilever für den Contact Mode (PPP-Cont, Nanosensors, D) und den Tapping Mode (NCH-0, Nanosensors, D) benutzt, die mit der den Spitzen zugewandten Seite mit 100 nm und mit der Spitze abgewandten Seite mit 80 nm Platin beschichtet wurden. Die Spitzen wurden von beiden Seiten beschichtet, da die Cantilever sonst zu stark durchhängen. Eine Spannung konnte mit der digital steuerbaren Spannungsversorgung NI 6052E von National Instruments über eine Signalbox auf den Halter und die Probe gegeben werden. Die Ströme wurden mit dem Elektrometerverstärker 6517 A von Keithley mit einem in Lab View geschriebenen Programm aufgenommen, ebenso die Spannungen. Um in der Kammer eine definierte Atmosphäre gewährleisten zu können, wurde um das Mikroskop eine Messkammer gebaut. Diese diente zusätzlich als elektrische Abschirmung gegen äußere Störungen (Abbildung 4.14).

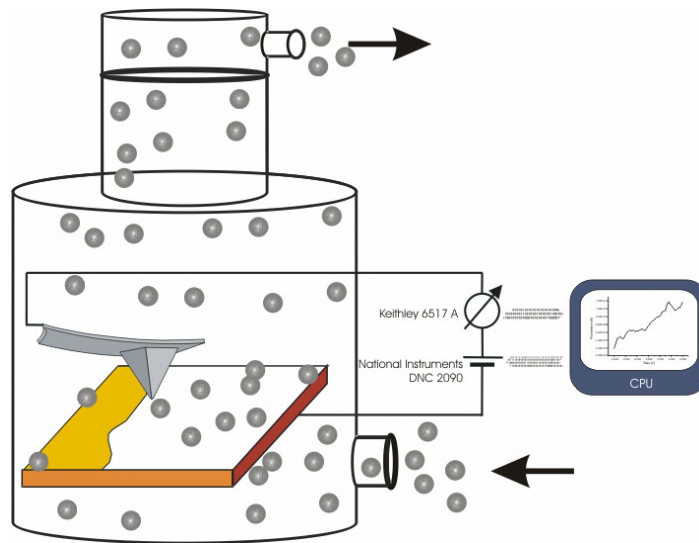


Abbildung 4.14: Eine mit Platin beschichtete AFM-Spitze wird kontaktiert, um in einer trockenen Atmosphäre Strom-Spannungs-Messungen durchzuführen.

4.3.2 Durchführung und Ergebnisse

Wenn bei den Versuchen eine beschichtete Tapping Mode Spitze eingebaut ist, kann vor der Messung ein Bild gemacht werden, was für eine grobe Positionierung der Spitze sehr hilfreich ist. Anschließend wird das Mikroskop auf den Contact Mode umgestellt und die Spitze an einer definierten Stelle angehalten und auf die Probe gedrückt. Der Kontakt zwischen Spitze und Probe wird von der kondensierten Feuchtigkeit stark beeinflusst, so dass es wichtig ist, vor der Messung in die Probe eine trockene Atmosphäre aus Argon oder Stickstoff einzulassen. Die Position der Spitze wird nach jeder Messung stückweise von der Isolatorseite in Richtung Kontakt bewegt. Die Spannung darf bei der ersten Messung nicht größer als 10 mV sein, da sonst beim Kontakt zwischen der Elektrode und der Probe der Strom durch den kleinen Querschnitt mit einer so hohen Leistungsdichte fließt, dass die Spitze durch die Joulesche Wärme schmelzen und verformt werden kann. Der typische Kontaktwiderstand zwischen einer beschichteten Spitze und einem mit Platin beschichteten Substrat liegt im Bereich von 100Ω bis $10 \text{ k}\Omega$. Da die Schicht auf dem Substrat kleiner ist als auf der Spitze, wird die Schicht

auf dem Substrat schneller abgetragen, wodurch es möglich ist, Strukturen ins Substrat zu schreiben. Die so entstandenen Strukturen sind allerdings 150 nm bis 300 nm breit und haben hohe Kanten. Auch die Positionierung der Spitze ist schwierig, da zwischen dem Nullpunkt beim Tappingmode und beim Contact Mode ein Offset existiert, weshalb diese Art der Strukturierung allerhöchstens zur Korrektur von kurzgeschlossenden Strukturen dienen kann. Durch die Veränderung der Spitze kann es zu Verbesserungen der Kontakte bei der Messung kommen, die ebenfalls falsch interpretiert werden können. In Abbildung 4.15 (a) sieht man Leitfähigkeitsmessungen in Abhängigkeit vom Abstand von der Platinkante, die an der Probe aus Abbildung 4.6 (d) durchgeführt wurden. Man erkennt einen exponentiellen Zusammenhang zwischen Abstand und Widerstand. Diese Widerstände sind größer als beim direkten Kontakt mit einem Leiter. Bei der Messung in Abbildung 4.15 (b) wurde eine Spitze immer an der gleichen Stelle an eine 10 nm hohe Platinschicht angenähert, anschließend wurde bei einer konstanten Spannung von -1 V der Strom gemessen. Auch hier fand sich ein exponentieller Zusammenhang, diesmal zwischen Widerstand und der Anzahl der Versuche, was bedeutet, dass mit jedem Versuch der Kontakt besser wurde. Da bei den Abstandsmessungen in Abbildung 4.15 (a) die Spitze von der Isolatorseite angenähert wurde, kann dieses als eine exponentielle Abhängigkeit der Leitfähigkeit der DNA vom Abstand fehlinterpretiert werden, obwohl dies tatsächlich nur eine Verbesserung des Kontaktes zwischen Spitze und Probe bedeutet. Aber nicht nur durch eine zu hohe Leistung, sondern auch durch Reibung kann die Platinschicht abgetragen werden, weshalb Aussagen über die Leitfähigkeiten der gemessenen Proben schwierig ist.

4.3.3 Festkörperleitfähigkeit

Um zu überprüfen, ob es eine Bulkleitfähigkeit von DNA gibt, wurde auf ein Substrat 20 nm bis 50 nm Platin aufgesputtert. Anschließend wurde ein hochkonzentrierter (500 $\mu\text{g}/\text{ml}$), 0,5 μl großer Tropfen mit λ -DNA-Lösung auf dem Platinstreifen eingetrocknet. Die DNA bildete ein Netzwerk mit Bündeln auf der Oberfläche des Platins, die eine scharfe Kante erzeugten. Die DNA-Schicht war vor dem Spülen 700 nm und nach dem Spülen am Rand 10 nm bis 20 nm hoch (Abbildung DNA 4.16 (c)). Auf dieses Schichtsystem wurde entweder mit Hilfe einer Lochblende ein 100 μm großer und 10 nm bis 20 nm hoher Goldkontakt aufgedampft (Abbildung 4.16 (d)) oder es

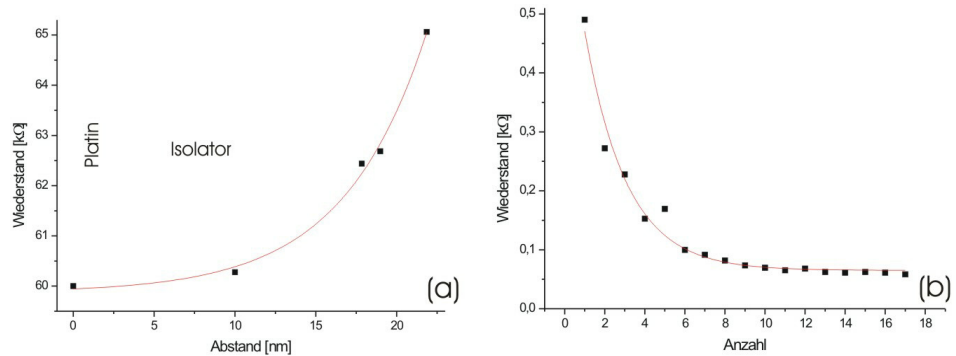


Abbildung 4.15: (a) Stückweises Annähern der AFM-Spitze zum Leiter führt zu einem exponentiellen Abfall des Widerstandes. (b) Wiederholtes Annähern der Spitze nach jeder Messung bewirkt einen exponentiellen Abfall des Widerstandes, was bedeutet, dass der Kontakt mit jedem neuen Versuch besser wurde und die Abstandsabhängigkeit der Messung in (a) damit nur ein Artefakt ist.

wurde durch sehr kurzes Öffnen des Shutters der Bedampfungsanlage 200 nm bis 500 nm große und 100 nm bis 150 nm hohe Gold-Cluster auf die Oberfläche gebracht. Mit einer Platinbedampften Spitze wurden anschließend die Goldabscheidungen kontaktiert. Bei den erfolgreichen Messungen kann ein Widerstand bis in den Bereich von G Ω an Luft gemessen werden (siehe Bild 4.16 (f)). Allerdings kann es auch sein, dass die Goldelektroden auf der DNA durch die hohen Leistungen schmelzen und einen Kurzschluss zwischen Substrat und Goldelektrode erzeugen oder die Goldelektrode durch die AFM-Spitze auf das leitende Substrat gedrückt wird, mit der es einen schlechten Kontakt hat. Die Leitfähigkeit hängt auch mit der Kraft zusammen, mit der die AFM Nadel auf die Probe gedrückt wird.

4.3.4 Vergleich mit Experimenten anderer Gruppen

Vergleicht man die Ergebnisse dieser Arbeit mit den physikalischen Experimenten anderer Gruppen, so finden Braun *et al.* [105], Pablo *et al.* [15], Bockrath *et al.* [119] und Strom *et al.* [107] dass DNA ein Isolator ist. Storm *et al.* zeigten weiterhin, dass unter normalen Umgebungsbedingungen DNA-

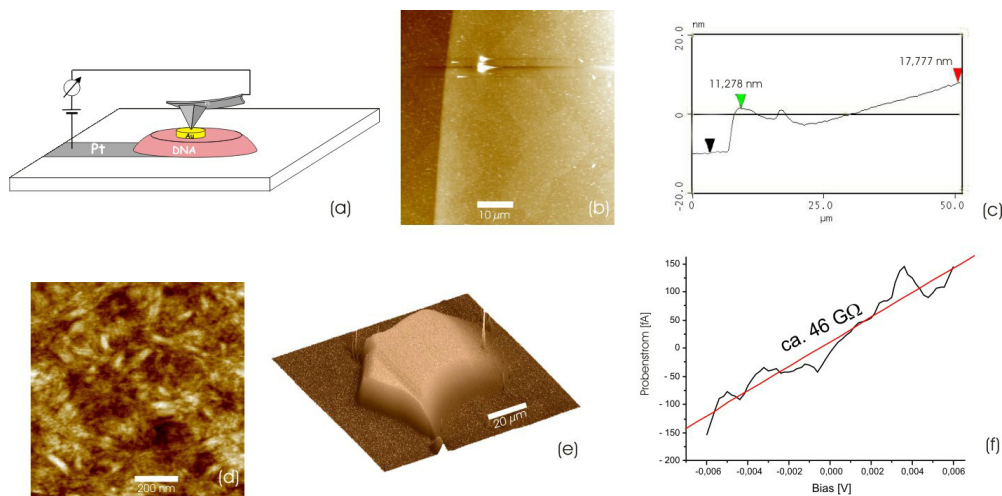


Abbildung 4.16: Versuch die Leitfähigkeit durch ein aufgeschichtetes Netzwerk aus λ -DNA zu messen. (a) Schematische Darstellung. (b) AFM Bild vom Rand der aufgeschichteten DNA. (c) Höhenprofil aus (b). (d) Struktur der DNA. (e) Aufgedampfte Goldschicht. (f) Strom-Spannungskurve.

Stränge einen Widerstand in der Größe von einigen T Ω hat, was die gleiche Größenordnung ist wie die Widerstände, die in dieser Arbeit gefunden wurden. Dieses ist vor allem deswegen interessant, weil die Elektroden in diesem Experiment keine besondere Höhe hatten.

Die exponentielle Abhängigkeit der Leitfähigkeit von der Luftfeuchtigkeit, wie in Abbildung 4.12 gezeigt, fanden auch Otsuka *et al.* [121]. Pablo *et al.* fanden mit einem leitfähigen AFM nur dann einen Strom, wenn ein DNA Film durch Elektronen beschossen wurde. Dabei wurden vermutlich Kohlenwasserstoffe aus dem Restgas gespalten und ein leitfähiger Film konnte sich auf der Oberfläche niederschlagen, was der gleiche Grund sein soll, warum Fink *et al.* [14] einen metallischen Widerstand für DNA bei ihrem Experiment fanden. Ebenfalls mit einem leitfähigen AFM fanden Cai *et al.* [122] einen exponentiellen Zusammenhang zwischen Widerstand und Abstand von der Gegenelektrode. Die Größe des Widerstandes bei der Abstandsmessung ist genauso groß, wie in dieser Arbeit der in Abbildung 4.15 (a) gezeigten Daten. Außerdem zeigen die Kennlinien einen äußerst unruhigen Verlauf, der sich in dieser Arbeit nur bei Messungen zeigte, die unter starken Einfluss

von Feuchtigkeit durchgeführt wurden.

Auch die Kennlinien von Lee *et al.* [120] in Abbildung 2.36 (a) hat eine große Ähnlichkeit mit der Kurve aus dieser Arbeit (siehe Abbildung 4.12 (b)), die klar von Feuchtigkeit beeinflusst wurden. Allerdings ist die Leitfähigkeit in der Abbildung 2.36 (a) deutlich höher. Die Kurven von Rakitin *et al.* [117] verändern ihr Plateau bei Messungen im Vakuum, was auch auf den Einfluss von Feuchtigkeit hindeuten kann. Außerdem lagen die DNA-Bündel zwischen Elektroden, die $10\ \mu\text{m}$ weit auseinander lagen, was ein extrem großer Abstand ist. Würden DNA-Bündel über so einen großen Abstand leiten, hätte man das auch in anderen Arbeiten finden müssen.

Yoo *et al.* [118] fanden bei einer 20 nm Elektrode eine halbleiterähnliche Leitfähigkeit. Allerdings ist es schwierig auf der REM-Aufnahme in Abbildung 2.36 (b) zu erkennen, ob es sich tatsächlich um DNA zwischen den Elektroden handelt. Kasumov *et al.* [108-109] behaupten, dass die gefundene Leitfähigkeit mit der Höhe von über 2 nm der DNA zusammenhängt, die durch Aufbringen eines Pentylaminfilms auf das Glimmersubstrat erreicht wurde. Eine Erfahrung aus dieser Arbeit ist, dass die Höhe der DNA durch den Feuchtigkeitfilm auf dem Substrat dominiert wird. Die Oberflächenbeschaffenheit und die Oberflächenchemie beeinflussen vor allem die Anzahl der DNA auf der Oberfläche. Durch die Ergebnisse von Guckenberger *et al.* kann man bei den Versuchen mit dem Rastertunnelmikroskop von Kasumov *et al.* davon ausgehen, dass der Feuchtigkeitfilm auf der Oberfläche eine entscheidene Rolle spielt. Da der Strom an den Stellen, an den sich die DNA befand, im Gegensatz zum Glimmer kleiner war, schlossen Guckenberger *et al.* daraus, dass dort die Wasserstruktur anders ist und dass DNA ein Isolator ist [111]. Auch fanden Guckenberger *et al.* [111] und Fan *et al.* [112] einen exponentiellen Zusammenhang zwischen dem Tunnelstrom und der relativen Luftfeuchtigkeit. Fan *et al.* fanden auch die typische Kurve, wie sie in dieser Arbeit auftritt (vergleiche Abbildung und 2.32 (e)). Sie begründen das Phänomen, dass es ab einer bestimmten Spannung zu elektrochemischen Reaktionen an den Elektroden kommen kann [114].

Die überzeugendsten Experimente dafür, dass DNA leitfähig ist, sind die Arbeiten von Porath *et al.* [106] und Shigematsu *et al.* [116], die eine signifikante Leitfähigkeit von DNA unter 10 nm fanden.

4.4 Diskussion der Ergebnisse

Die Experimente haben gezeigt, dass die Leitfähigkeit der gemessenen Strukturen mit DNA deutlich höher ist als ohne, wobei der Charakter der Ergebnisse, wie beispielsweise die Form der Kurve oder die exponentielle Abhängigkeit von der Feuchtigkeit, zeigt. DNA braucht Wasser, um seine Struktur zu stabilisieren, so dass sich um die DNA immer ein Feuchtigkeitsmantel befindet, der von der Luftfeuchtigkeit abhängt. Wie in dieser Arbeit fanden die Gruppe von T. Kawai [121] bei relativen Luftfeuchtigkeiten zwischen 30 % und 95 % (siehe Abbildung 2.37 (b)) und Guckenberger *et al.* [111,113] (Siehe Abbildung 2.32 (d)) einen exponentiellen Zusammenhang zwischen dem Widerstand und der Luftfeuchtigkeit bei Strom-Spannungs-Messungen, der sich nach dem Trocknen im Vakuum wieder einstellen lässt. Diese exponentielle Abhängigkeit von der Luftfeuchtigkeit findet man auch für die Benetzung von Glimmroberflächen (Siehe Abbildung 3.17 (a)). Da die Strom-Spannungslinien auch auf eine elektrochemische Reaktion hindeuten, legt das den Schluss nahe, dass Leitfähigkeitsmessungen an DNA durch das Verhalten der Wassermoleküle bestimmt wird.

Für die Größe der Leitfähigkeit ist aber auch die effektive Oberfläche, also die Oberfläche, die für die beweglichen Ionen zu Verfügung steht, wichtig. Da DNA ein Molekül mit einem relativ geringem Durchmesser, bei einer relativ hohen Ladung ist, reagiert es deutlich sensitiver auf Wasser als die meisten anderen Materialien, wobei Poly (dG)-Poly(dC)-dsDNA stärker Wasser anzieht als Poly(dT)-Poly(dA)-dsDNA [121,181]. Allerdings hat sich bei den Messungen in dieser Arbeit gezeigt, dass Poly (dG)-Poly(dC)-dsDNA eine geringere Leitfähigkeit hat als λ -DNA, da die einzelnen dsDNA-Moleküle besser aggregieren können. Gerade bei den Versuchen von Lee *et al.* [120] und Otsuka *et al.* [121] könnte die hohe DNA-Konzentration dazu geführt haben, dass Wasser in großen Mengen an die DNA-Netzwerke gebunden wurde und nicht so schnell durch die hohen Schichten in einer trockenen Atmosphäre verdunsten konnte.

Die verschiedenen Ergebnisse von unterschiedlichen Forschergruppen lassen sich vermutlich dadurch klären, dass nicht nur die Anzahl und die Spaltgröße zwischen den Elektroden, sondern auch die Form der Elektroden und deren Material, Herstellung und Kontaktierung bei so geringen Strömen eine Rolle spielen kann.

Experimente auf chemischer und biologischer Basis haben relativ eindeutig

gezeigt, dass es einen Ladungstransport zwischen Basenpaaren gibt. Wenn also ein Ladungstransport zwischen Basen einer DNA in einer trockenen Atmosphäre existiert, so kann man davon ausgehen, dass bei Experimenten auf physikalischer Basis Ladungstransport in einem DNA-Molekül nur unter 10 nm existieren kann, wie es in den Experimenten von Porath *et al.* [106] und Shigematsu *et al.* [116] gezeigt wurde.

Bei den hier präsentierten Messungen konnten nur dann Ströme gefunden werden, wenn Feuchtigkeit in der Messkammer vorhanden war. Auch ein dichtes Netzwerk von Poly(dG)-Poly(dC)-dsDNA, das sich über einen 20 nm breiten Spalt gelegt hat, zeigte keine Leitfähigkeit. Die Größe der gefundenen Widerstände liegen bei Umgebungsbedingungen im Bereich von $10^{11} \Omega$ bis $10^{14} \Omega$ und sind in einer trockenen Atmosphäre bei ca. $10^{15} \Omega$, was genauso groß ist wie die Strukturen ohne DNA. Dieses sind die gleichen Ergebnisse, die auch von Storm *et al.* [107] kürzlich publiziert wurden. Man kann also davon ausgehen, dass langreichweitiger Ladungstransport in einer trockenen Umgebung durch DNA über 10 nm nicht existiert und DNA somit keine intrinsische Leitfähigkeit besitzt. Ein technologischer Nutzen kann nach heutigen Kenntnisstand als Nanodraht oder für Molekülelektronik ausgeschlossen werden.

4.5 Polythiophen

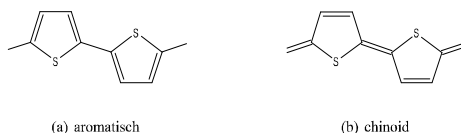


Abbildung 4.17: Aromatische (a) und chinoid Form (b) des Polythiophen (PT).

Um das Konzept einzelner leitfähiger Polymermoleküle testen zu können und um Alternativen zu DNA aufzuzeigen, wurden Strom-Spannungsmessungen an Polythiophen, in Abhängigkeit von der Temperatur, durchgeführt [89]. P3OT (Poly(3-octylthiophen-2,5-diyl) regioregular; Sigma-Aldrich, München, D) ist ein leitfähiges organisches Polymer mit einer mittleren Molmasse von 142 000 g/mol.

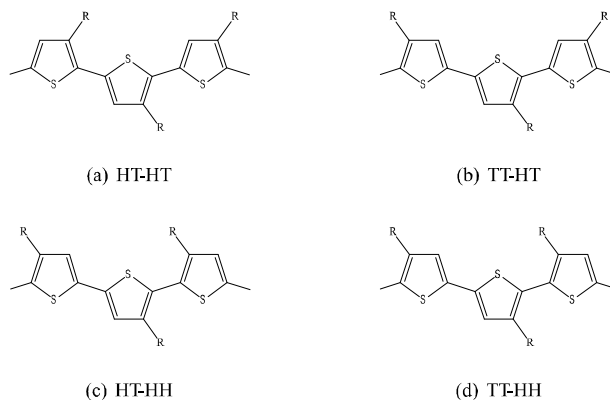
Struktur von P3OT

Abbildung 4.18: Die verschiedenen Kopplungstypen des Polythiophen.

Polythiophene sind leitfähige Polymere, die eine aromatische oder chinoide Grundform haben (siehe Abbildung 4.17 (a) und (b)). Durch Substituenten können die chemischen und physikalischen Eigenschaften verändert werden. Beispielsweise kann durch Alkyl-Seitenketten die Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln erhöht werden.

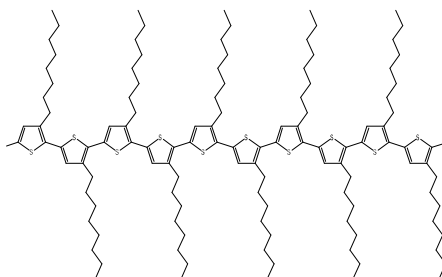


Abbildung 4.19: Poly(3-octylthiophen-2,5-diyl (P3OT) regioregular

Die verschiedenen Kopplungsmöglichkeiten, HT-HT, TT-HT, HT-HH und TT-HH, sind in Abbildung 4.18 (a) - (d) dargestellt. Polythiophene, die nur aus HT - HT Verbindungen (> 90 %) bestehen, bezeichnet man als regioregular. HT - HT Verbindungen zeichnen sich dotiert oder undotiert durch ihre hohe Leitfähigkeit aus.

Das in Abbildung 4.19 abgebildete P3OT ist gut löslich und hat eine hohe Leitfähigkeit. Durch seine geordnete Abfolge der Seitenketten kommt es im P3OT nicht zu sterischen Hinderungen, weshalb entlang der Kette die π -Bindungen überlappen können. Durch die π -Bindungen ergeben sich breite Bänder mit kleinen Bandlücken, was zu einer erhöhten Leitfähigkeit bei regioregulären Strukturen führt.

4.5.1 Immobilisierung von P3OT

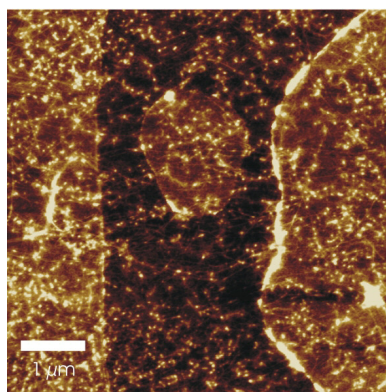


Abbildung 4.20: AFM-Bild von P3OT, das zwischen zwei Elektroden immobilisiert wurde.

P3OT, ein dunkelvioletter Feststoff, wurde in Chloroform (CHCl_3 p.a., Fisher Scientific, Loughborough, UK) oder Toluol (C_7H_8 p. a., Riedel-de Haën, Seelze, D) gelöst und anschließend analog wie DNA durch Molecular Combing auf der Oberfläche immobilisiert. In Abbildung 4.20 erkennt man zwischen den Elektroden einzelne Moleküle, deren Anzahl auf 30 - 50 geschätzt wurde.

4.5.2 Dotieren von P3OT

Zum Dotieren von P3OT wurde Goldtrichlorid (AuCl_3 99 %, Sigma-Aldrich), das in Nitromethan (CH_3NO_2 p.a., Fluka Chemie, Buchs, CH) in einer Konzentration von 10^{-2} mol/l gelöst wurde, auf einen P3OT-Film, der sich auf einer Struktur befand, aufgebracht. Zum Inkubieren wurde das AuCl_3 mit einem Spincoater für 15 s bei 500 rpm glattgeschleudert. Die Lösung

wurde mit 2000 rpm von der Struktur geschleudert. Anschließend wurden ebenfalls mit 2000 rpm die unverbrauchten Reste mit Nitromethan (1 - 2 ml) von der Probe gespült.

4.5.3 Experimenteller Aufbau

Strom-Spannungsmessungen und Charakterisierung der Proben durch ein AFM wurden genauso durchgeführt wie bei den Experimenten mit DNA. Für die Tieftemperaturmessungen wurde ein Kryostat mit geschlossenem Helium-Kältemittelkreislauf (Cryo Express, Cryophysics, Geneva, CH; siehe Abbildung 4.21), der mit elektrischen Leitungen für die Strom-Spannungsmessungen erweitert wurde, benutzt.

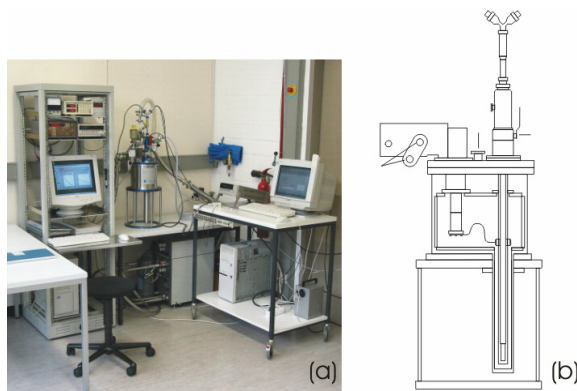


Abbildung 4.21: (a) Messplatz mit Kryostat, Kompressor und Messelektronik. (b) Schematische Darstellung des Kryostaten.

4.5.4 UV-VIS Spektren von P3OT

Die optisch-spektroskopischen Messungen, die Einblick in die elektronische Struktur des P3OT geben, zeigten ein Maximum bei einer Wellenlänge von 449,8 nm (siehe Abbildung 4.22), was im Vergleich zu anderen Messungen eine leicht größere Wellenlänge war. Dieses Maximum entspricht einer Bandlücke von 2,76 eV. Die Rotverschiebung lässt sich durch die Regioregularität des verwendeten Polymers erklären. Durch die sterische Hinderung ergeben sich größere Konjugationslängen, die zu einer Verkleinerung der Bandlücke

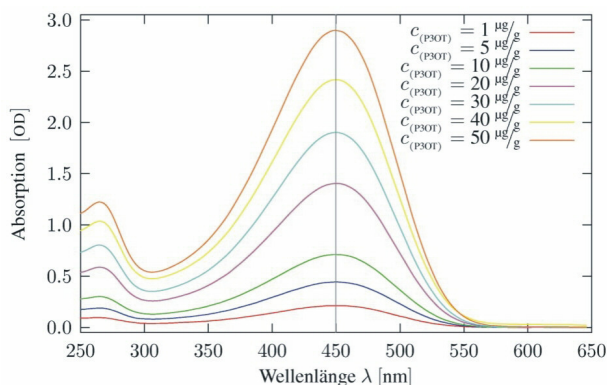


Abbildung 4.22: UV-VIS-Spektren von in Chloroform gelöstem P3OT

und damit zu einer Verschiebung des Absorptionsmaximums zu kleineren Energien führen. Ein Zusammenhang zwischen Konzentration und Maximum konnte nicht beobachtet werden.

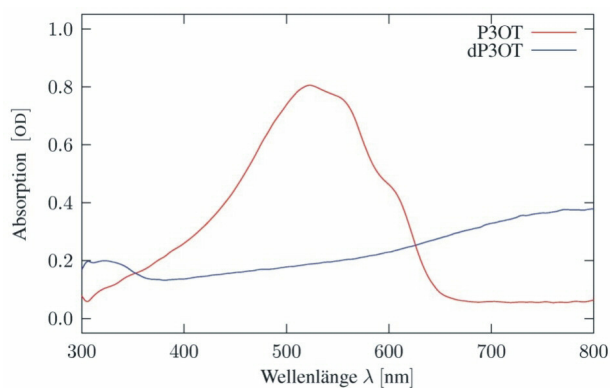


Abbildung 4.23: UV-VIS-Spektren von dotierten und undotierten P3OT-Filmen auf Glas.

Um P3OT-Filme auf Glas aufzunehmen, wurde ein Film aus einer 0,1 %igen Lösung P3OT-Toluol-Lösung durch Spin-Coating auf ein gereinigtes Glassubstrat aufgeschleudert. Das Spektrum eines undotierten Films hatte ein Maximum bei 527 nm, was einer Bandlücke von 2,35 eV (siehe Abbildung 4.23) entspricht. Die durch Luftsauerstoff erfolgte Oxidation des Polymers,

konnte dotierend wirken oder es kam durch den Einfluss der Luftfeuchtigkeit zu einer Rotverschiebung der Kennlinie. Durch den eingeschränkten Messbereich des Spektrometers konnte das Hauptmaximum der dotierten Polythiophene nicht vollständig aufgenommen werden. Anhand des Kurvenverlaufs wurde abgeschätzt, dass das Maximum bei ca. 810 nm liegt.

4.5.5 Strom-Spannungs-Messungen an P3OT

Undotierte Polythiophene

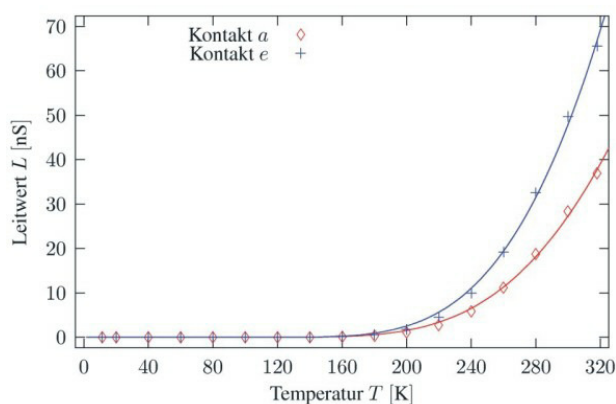


Abbildung 4.24: Zwei verschiedene Messungen, bei der undotiertes P3OT bei seiner Temperaturabhängigkeit ein halbleiterartiges Verhalten zeigt.

Die Strom-Spannungs-Spektroskopie wurde im Temperaturbereich von 10 K bis 300 K durchgeführt und zeigte ein klare Temperaturabhängigkeit, die durch eine thermisch aktivierte Leitfähigkeit über einer Bandlücke von einigen eV interpretiert werden kann (siehe Abbildung 4.24). Nimmt man für die Leitfähigkeit ein Verhalten wie bei einem Halbleiter an, so erhält man mit der Annahme

$$\sigma \sim e^{\frac{E_g}{k_B T}} \quad (4.25)$$

für die Bandlücke ΔE der zwei verschiedenen Proben. In Abbildung 4.24 werden die Werte $E_g = 2,96 \text{ eV} \pm 0,06 \text{ eV}$ und $E_g = 3,03 \text{ eV} \pm 0,06 \text{ eV}$ dargestellt, welche deutlich größer sind als die Werte welche durch die optisch-

spektroskopischen Messungen gefunden wurden. Eine Vergrößerung der Energielücke kann eventuell durch die Streuung der Ladungsträger an den Kontakten entstehen (vergleiche Kapitel 2.2.5).

Dotierte Polythiophene

Mit AuCl_3 dotierte P3OT-Moleküle haben bei geringen Temperaturen eine deutlich höhere Leitfähigkeit als die undotierte Moleküle. Mit steigender Temperatur erhöht sich die Leitfähigkeit solange, bis sie ein Maximum erreicht und danach wieder leicht abfällt (siehe Abbildung 4.25). Bei Raumtemperatur ist die Leitfähigkeit des dotierten P3OT 2×10^4 mal größer als die des undotierten Moleküls.

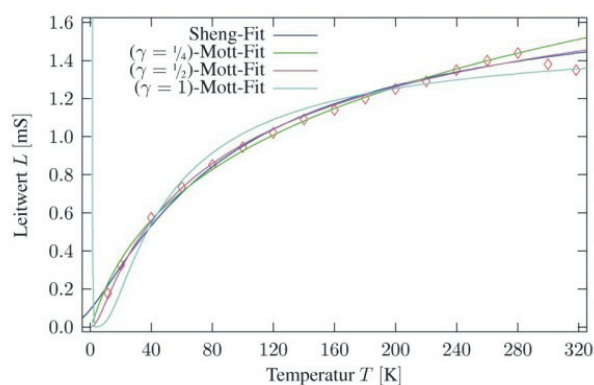


Abbildung 4.25: Temperaturabhängige Leitfähigkeit von dotierten P3OT-Polymermolekülen.

4.5.6 Deutung der Ergebnisse

Durch die Dotierung der P3OT-Moleküle erhöhte sich bei Raumtemperatur der Leitwert um fast fünf Größenordnungen. Dieser Übergang wurde in den hier präsentierten Messungen das erste mal für einzelne lange Polymermoleküle nachgewiesen.

Um die Ergebnisse mit der Theorie vergleichen zu können, wurden die Messdaten mit den verschiedenen theoretischen Modellen angepasst. In Abbildung 4.25 erkennt man, dass die Fits, die durch das Hopping-Modell, das durch

Gleichung (2.37) beschrieben wird, mit den Werten $\gamma = \frac{1}{2}$ und $\frac{1}{4}$ und mit dem Sheng-Modell aus Gleichung (2.39), die Daten gut beschreiben. Um zu klären welches Modell P3OT am besten beschreibt ist es notwendig, gerade bei tieferen Temperaturen, eine größere Dichte an Datenpunkten aufzunehmen.

Kapitel 5

Zusammenfassung und Ausblick

In dieser Arbeit wurde der langreichweitige Ladungstransport in DNA und Polythiophen untersucht. Es hat sich gezeigt, dass DNA bis zu einer Auflösungsgrenze von 10^{-15} S in einer trockenen Atmosphäre keine elektrische Ladung transportiert und ein intrinsischer Nichtleiter ist. Durch Überentwickeln des Photolacks konnten Spaltbreiten zwischen den Elektroden bis zu einer minimalen Breite von 25 nm hergestellt werden. Ein Film aus Poly(dG)-Poly(dC)-dsDNA über so einer Struktur zeigte bei Umgebungsbedingungen sogar eine geringere Leitfähigkeit. Dies legt den Schluß nahe, dass nicht nur die Anzahl der Moleküle, sondern auch ihre Anordnung wichtig ist, da durch die DNA die effektive Oberfläche, über die die Ladungsträger transportiert werden können, vergrößert oder verkleinert werden kann. Ein weiterer Faktor, den die Leitfähigkeitsmessungen beeinflussen, sind elektrochemische Reaktionen an den Elektroden. Der Ladungstransport durch DNA ist wegen der Vielzahl von schwer kontrollierbaren Wechselwirkungen mit der Umgebung, wie z. B. der Gegenionen im Rückgrat oder der Oberfläche des Substrats, unzureichend verstanden. Wie und in welcher Anzahl sich die DNA über die Elektroden gelegt hat, hängt am stärksten von der Beschaffenheit der Oberflächen und deren Rauigkeit ab.

Messungen an P3OT (Poly(3-octylthiophen-2,5-diyl)) zeigen, dass es durch die hier entwickelte und eingesetzte Technologie möglich ist, die Leitfähigkeit durch einzelne leitfähige Polymere zu bestimmen. Durch die Dotierung der P3OT-Moleküle mit Goldtrichlorid erhöhte sich bei Raumtemperatur der Leitwert um fast fünf Größenordnungen. Dieser Übergang wurde das erste mal für einzelne lange Polymermoleküle nachgewiesen und konnte gut durch verschiedenen theoretische Modelle beschrieben werden.

Obwohl die Ergebnisse von Arbeitsgruppen, die den Ladungstransport durch DNA mit chemischen Methoden am Ensemble gemessen haben, recht eindeutig zeigen, dass DNA Ladung transportieren kann, zeigte sich in dieser Arbeit, dass DNA in einer trockenen Umgebung ein intrinsischer Isolator ist. Gerade der Ladungstransport von Distanzen über 10 nm und mehr ist mit seiner großen Breite von verschiedenen Ergebnissen sehr strittig. Das größte Problem bei der Untersuchung der Leitfähigkeit von DNA ist die gezielte Immobilisierung der DNA in ihrer natürlichen Höhe von 2,3 nm in der B-Konformation. Verlässliches Immobilisieren von DNA in dieser Höhe scheint nur in Flüssigkeit mit speziellen Lösungen oder bestimmten funktionalisierten Oberflächen zu funktionieren. Ist die Höhe der DNA kleiner, so sagt die Theorie voraus, dass Ladungen auf den Basen lokalisiert werden und kein Strom fließen kann. Da DNA für Strom-Spannungsmessungen getrocknet werden musste, war es nicht möglich, DNA mit einer Höhe von 2,3 nm zu untersuchen.

Das Problem der gezielten Immobilisierung von DNA wird seit langem diskutiert [22,128]. Für weitere Untersuchungen an DNA, nicht nur ihrer Leitfähigkeit, ist es von immenser Bedeutung, ihre Wechselwirkung, vor allem mit dem Substrat, zu kennen, um so eine gezielte und reproduzierbare Immobilisierung der DNA zu gewährleisten. Gerade für die Entwicklung von Biochips ist dieses Verständnis der Wechselwirkungen wichtig, um Daten und Ergebnisse verlässlich bewerten zu können. So kann beispielsweise DNA auf einer Oberfläche immobilisiert werden, um anschließend Medikamente oder Proteine aus einer Lösung an die DNA zu binden. Aus den Messdaten vor und nach dem Binden der Medikamente oder Proteine kann man Aussagen über die Bindungseigenschaften der Reaktionspartner machen [172].

Um den Ladungstransport der DNA besser verstehen zu können und um offene Fragen zu beantworten, müssen Experimente durchgeführt werden, bei denen die DNA-Moleküle gezielt zwischen Elektroden, die kleiner als 10 nm sind, immobilisiert werden. Wird die DNA auf einer Oberfläche immobilisiert, muss darauf geachtet werden, dass sie über 2 nm hoch ist, damit die Orbitale überlappen können. Eine weitere wichtige Frage ist, ob DNA, wenn sie auf einer Oberfläche immobilisiert wird, ihre Helixstruktur verliert und somit auch ihre Leitereigenschaften. Neben den Experimenten von Porath *et al.* [17,106] wären auch Break Junctions, die schon häufig bei Einzelmolekülmessungen benutzt wurden, eine Möglichkeit. Sollten auch diese Experimente keine Leitfähigkeit zeigen, so ließe sich folgern, dass DNA eine wässrige

Lösung braucht, um Ladungen von einer Base zur nächsten zu transportieren, entweder weil durch die Gegenionen im Rückgrat neue Leitungsbänder entstehen können [17,20,54,58,60–63], die die Elektronen durch die DNA leiten können, oder weil die Gegenionen im Rückgrat die Ladungen außerhalb der DNA bewegen.

Große Hoffnungen werden in die DNA als funktioneller Baustein für selbstorganisierende Strukturen gesetzt [182]. Die überhängenden spezifischen Sequenzen von einem DNA-Strang können für eine gezielte Immobilisierung von DNA an Proteinen oder schon immobilisierter DNA zu einer definierten DNA-Struktur benutzt werden. Diese DNA-Strukturen können dann als Schattenmaske bei Aufdampfprozessen oder Belichtungsprozessen benutzt werden [183-184]. Eine weitere Anwendungsmöglichkeit ist, an einem DNA-Molekül Metallatome kondensieren zu lassen und kleine Drähte herzustellen [105,185]. Keren *et al.* [186] zeigte, dass CNT (Carbon Nanotubes; Kohlenstoffröhren), mit Hilfe von DNA, Proteine und deren Antikörpern an einem definierten Ort aufgebracht werden konnten. Da DNA nur unter bestimmten Bedingungen Ladungen transportieren kann, schlägt Kawai vor, leitfähige organische Moleküle in DNA-Moleküle zu integrieren. Die DNA kann dann als Gerüst für Strukturen benutzt werden [97]. Eine technologische Anwendung in diese Richtung wäre beispielsweise ein Dünnschichtlaser aus einem DNA-Film, der mit dem Farbstoff Hämocyanin dotiert wurde [187].

Für die Entwicklung kleinster Strukturen und Nanoelektronik sind Nanodrähte [16,166,188], langkettige organische Moleküle [16,89] oder CNT (Carbon Nanotubes; Kohlenstoffröhren) [16,188] vielversprechende Ansätze. Organische Moleküle zeigen eine große Vielfalt an Anwendungsmöglichkeiten. So gibt es theoretische Überlegungen, organische Moleküle durch Solitonen als Molekülschalter zu benutzen oder aus ihnen ein Schieberegister zu bauen [16]. Messungen an organischen Molekülen wurden bis jetzt allerdings entweder an Molekülfilmen [89] oder an Einzelmolekülen über einen kleinen Abstand in eine Break Junction [189] durchgeführt. Bei den halbleitenden Nanodrähten, die einen Durchmesser zwischen 2 nm und 30 nm haben, können die elektrischen Eigenschaften bei der Synthese beeinflusst werden. Durch übereinander legen von Nanodrähten aus p-Si und n-GaN können beispielsweise p-n-Übergänge hergestellt werden, aus denen man logische Gatter entwickeln kann [166]. CNT können je nach Chiralität und Durchmesser metallische Leiter oder Halbleiter sein. Durch Kombination erhält man verschiedene Grenzübergänge zwischen den CNT, woraus man beispielsweise

Transistoren bauen kann [190-192].

Literaturverzeichnis

- [1] S. S. Isied, *Prog. Inorg. Chem.*, **32**, 443, 1984.
- [2] J. M. Berg, John L. Tymoczko, *Biochemie*, Spektrum Akademischer Verlag, Berlin, Heidelberg, 2003.
- [3] J. D. Watson, F. H. C. Crick, *Nature*, **171**, 737, 1953.
- [4] D. D. Eley, D. I. Spivey, *Trans. Faraday Soc.*, **58**, 441, 1961.
- [5] E. Meggers, M. E. Michel-Beyerle, B. Giese, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 12950, 1998.
- [6] N. J. Turro, J. K. Barton, *JBIC*, **3**, 201, 1998.
- [7] C. Wan, T. Fiebig, S. O. Kelly, C. R. Treadway, J. K. Barton, H. Zewail, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 6014, 1999.
- [8] S. O. Kelly, J. K. Barton, *Science*, **283**, 375, 1999.
- [9] M. E. Núñez, G. P. Holmquist, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 12465, 2001.
- [10] M. E. Núñez, K. T. Noyes, D. A. Gianolio, L. W. McLaughlin, J. K. Barton, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **39**, 6190, 2000.
- [11] B. Giese, M. Spichty, *Chem. Phys. Chem*, **1**, 195, 2000
- [12] B. Giese, M. Spichty, S. Wessely, *Pure Appl. Chem.*, **73**, 449, 2000.
- [13] B. Giese, A. Biland, *Chem. Commun.*, 667, 2002.
- [14] H.-W. Fink, C. Schönenberger, *Nature* **398**, 407, 1999.

- [15] P. J. de Pablo, F. Moreno-Herrero, J. Colchero, J. Gómez Herrero, P. Herrero, A. M. Baró, P. Ordejón, J. M. Soler, E. Artacho, *Phys Rev. Lett.*, 85, 4992, 2000.
- [16] S. Roth, D. Carroll, *One-Dimensional Metals*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2004.
- [17] D. Porath, G. Cuniberti, R. Di Felice, *Topics in Current Chemistry*, 237, 183, 2004.
- [18] J. Jortner, M. Bixon, T. Langenbacher, M. E. Michel-Beyerle, *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 95, 12759, 1998.
- [19] A. M. O. Brett, A.-M. Chiorcea, *Langmuir*, 19, 3830, 2003.
- [20] R. G. Endres, E. L. Cox, R. R. P. Singh, *Rev. Mod. Phys.*, 76, 1, 195, 2004.
- [21] S. R. Rajski, B. A. Jackson, J. K. Barton, *Mutation Res.*, 447, 49, 2000.
- [22] J. Vesenka, T. Marsh, E. Henderson, C. Vellandi, *Scanning Microscopy*, 12, 2, 329, 1998.
- [23] G. Yagil, J. L. Sussman, *EMBO J.*, 5, 7, 1719, 1986.
- [24] T. C. Marsh, J. Vesenka, E. Henderson, *Nucl Acids Res.*, 23, 4, 1995.
- [25] C. Bustamante, *Science*, 265, 1599, 1994.
- [26] S. B. Smith, Y. Cui, C. Bustamante, *Science*, 271, 795, 1996.
- [27] P. Cluzel, A. Lebrun, C. Heller, R. Lavery, J.-L. Viovy, D. Chatenay, F. Caron, *Science*, 271, 792, 1996.
- [28] T. Strick, J.-F. Allemand, D. Bensimon, V. Croquette, *Annu. Rev. Biomol. Struct.*, 29, 523, 2000.
- [29] R. Eckel, *Diplomarbeit, Messung und Simulation der mechanischen Elastizität einzelner DNA-Ligand-Komplexe*, Fakultät für Physik, Universität Bielefeld, 2002.

- [30] R. Eckel, R. Ros, A. Ros, S. D. Wilking, N. Sewald, D. Anselmetti, *Biophys. J.*, 85, 1968, 2003.
- [31] R. H. Austin, J. O. Brody, E. C. Cox, T. Duke, W. Volksmuth, *Physics Today*, February 1997, 32, 1997.
- [32] M. Sundaralingam, B. Pan, *Biophys. Chem.*, 95, 273, 2002.
- [33] B. Schneider, K. Patel, H. M. Berman, *Biophys. J.*, 75, 2422, 1998.
- [34] F. Coste, W. Shepard, C. Zelwer, *Acta Cryst.*, 58, 431, 2002
- [35] W. Saenger, *Principles of Nucleic Acid Structure*, Springer-Verlag New York Inc., 1984.
- [36] L. A. Lipscomb, M. E. Peek, F. X. Zhou, J. A. Bertrand, D. van Derveer, L. D. Williams, *Biochem.*, 33, 3649, 1994.
- [37] M. Feig, B. M. Pettitt, *Biopolym.*, 48, 199, 1998.
- [38] M. Feig, B. M. Pettitt, *J. Mol. Biol.*, 286, 1075, 1999.
- [39] P. Auffinger, E. Westhof, *J. Mol. Biol.*, 300, 1113, 2000.
- [40] T. V. Chalikian, A. P. Sarvazyan, G. E Plum, K. J. Breslauer, *Biochem.*, 33, 2394, 1994.
- [41] T. V. Chalikian, K. J. Breslauer, *Curr. Opin. Str. Biol.*, 8, 657, 1998.X
- [42] H. M. Berman, *Curr. Opi. Struc. Biol.*, 4, 345, 1994.
- [43] K. K. Woods, T. Lan, L. W. McLaughlin, L. D. Williams, *Nucl. Acids. Res.*, 31, 5, 1536, 2003.
- [44] M. Bixon, J. Jortner, *J. Am. Soc.*, 123, 12556, 2001.
- [45] D. Y. Petrovykh, H. Kimura-Suda, A. M. Opdahl, M. J. Tarlov, L. J. Whitman, *Polymer Preprints*, 45, 1, 94, 2004.
- [46] H. M. Berman, *Biopolymers*, 44, 1, 23, 1997.
- [47] D. L. Beveridge, K. J. McConnell, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 10, 182, 2000.

- [48] C. L. Asbury, G. van den Engh, *Biophys. J.*, 74, 1024, 1998.
- [49] Y. A. Berlin, I. V. Kurnikow, D. Beratan, M. A. Ratner, A. L. Burin, *Topics in Current Chemistry*, 237, 1, 2004.
- [50] E. S. Chen, E. C. M. Chen, *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 46, 15, 1998.
- [51] I. Saito, T. Nakamura, K. Nakatani, Y. Yoshioka, K. Yamaguchi, H. Sugiyama, *J. Am. Chem. Soc.*, 120, 12686, 1998.
- [52] P. T. Henderson, D. Jones, G. Hampikian, Y. Kan, G. B. Schuster, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 96, 8353, 1999.
- [53] C. Kittel, *Einführung in die Festkörperphysik*, Roldenbourg Verlag, München, 1996.
- [54] A. K. Bakhshi, P. Otto, J. Ladik, M. Seel, *Chem. Phys.*, 108, 215, 1986.
- [55] K. Takeda, *Mathm. Biosc.*, 130, 183, 1995.
- [56] H. Wang, J. P. Lewis, O. F. Sankey, *Phys. Rev. Lett.*, 93, 1, 16401, 2004.
- [57] P. Maragakis, R. L. Barnett, E. Kaxiras, M. Elstner, T. Frauenheim, *Phys. Rev. B*, 66, 241104, 2002.
- [58] J. P. Lewis, P. Ordejón, O. F. Sankey, *Phys. Rev. B*, 55, 11, 6880, 1997.
- [59] F. D. Lew, M. R. Wasielewski, *Topics in Current Chemistry*, 236, 45, 2004.
- [60] C. Adessi, S. Walch, M. P. Anantram, *Comp. Nanos. Nanotechn.*, 2, 4, 56, 2002.
- [61] C. Adessi, S. Walch, M. P. Anantram, *Phys. Rev. B*, 67, 81405, 2002.
- [62] R. G. Endres, D. L. Cox, R. R. P. Singh, <http://arxiv.org/abs/cond-mat/0201404>, 2002.
- [63] G. B. Schuster, U. Landman, *Topics in Current Chemistry*, 236, 139, 2004.

- [64] D. M. Basko, E. M. Conwell, *Phys. Rev. Lett.*, 88, 9, 981021, 2002.
- [65] J. H. Davis, *The Physics of Low-Dimensional Semiconductors*, Cambridge University Press, 1998.
- [66] Y. Murayama, *Mesoscopic Systems, Fundamentals and Applications*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2001.
- [67] K. W. Hipps, *Science*, 294, 536, 2001.
- [68] G. Cuniberti, L. Craco, D. Porath, C. Dekker, *Phys. Rev. B*, 65, 241314, 2002.
- [69] Y. Zhu, C.-C. Kaun, H. Guo, *Phys. Rev B* 69, 245112, 2004.
- [70] M. Albrecht, A. Schnurpfeil, G. Cuniberti, *Phys. Stat. Sol.*, 241, 9, 2179, 2004.
- [71] Y. A. Berlin, A. L. Burin, L. D. A. Siebbeles, M. A. Ratner, *J. Phys. Chem. A*, 105, 5666, 2001.
- [72] E. Conwell, *Topics in Current Chemistry*, 237, 73, 2004.
- [73] T. Mayer-Kuckuk, *Atomphysik*, Teuber, Stuttgart, 1997.
- [74] R. A. Marcus, *J. Chem. Phys.*, 81, 10, 4494, 1984.
- [75] D. Devault, *Quarterly Rev. Biophys.*, 13, 4, 387, 1980.
- [76] C. C. Moser, J. M. Keske, K. Warncke, R. S. Farid, P. L. Dutton, *Nature*, 355, 796, 1992.
- [77] R. A. Marcus, N. Sutin, *Biochimica et Biophysica Acta*, 811, 265, 1985.
- [78] M. D. Newton, N. Sutin, *Ann. Re. Phys. Chem.*, 35, 437, 1984.
- [79] N. F. Mott, E. A. Davis, *Electronic Processes in Non-Crystalline Materials*, Clarendon Press, Oxford, 1979.
- [80] X.-Q. Li, H. Zhang, Y. J. Yan, *J. Phys. Chem. A*, 105, 9563, 2001.
- [81] A. K. Felts, W. T. Pollard, R. A. Friesner, *J. Phys. Chem.*, 99, 2929, 1995.

- [82] S. Priyadarshy, S. M. Risser, D. N. Beratan, *J. Phy. Chem.*, 100, 17678, 1996.
- [83] M. A. Ratner, *J. Phys. Chem.*, 94, 4877, 1990.
- [84] H. A. Kramers, *Physica* 1, 182, 1934.
- [85] A. Nitzan, *J. Phys. Chem. A*, 105, 2677, 2001.
- [86] H. Böttger, V. V. Bryksin, *Hopping Conduction in Solids*, VCH, Weinheim, 1985.
- [87] J. Ladik, M. Seel, P. Otto, A. K. Bakhshi, *Chem. Phys.*, 108, 203, 1986.
- [88] Y. Imry, *Introduction to Mesoscopic Physics*, Oxford University Press Inc., New York, 1997.
- [89] R. Wilke, *I/V-Spektroskopie an organischen Polymeren im Temperaturbereich von 10-300°C*, Diplomarbeit, Universität Bielefeld, 2004.
- [90] B. Giese, *Topics in Current Chemistry*, 236, 27, 2004.
- [91] F. C. Grozeman, Y. A. Berlin, L. D. A. Siebbeles, 122, 10903, 2000.
- [92] E. M. Conwell, S. V. Rakhmanova, *PNAS*, 97, 9, 4556, 2000.
- [93] Z. G. Yu, X. Song, *Phy. Rev. Let.*, 86, 26, 6018.
- [94] R. N. Barnett, C. L. Cleveland, A. Joy, U. Landman, G. B. Schuster, *Science*, 294, 567, 2001.
- [95] M. Hjort, S. Strafström, *Phys. Rev. Let. B*, 87, 22, 228101, 2001.
- [96] M. A. O'Neill, J. K. Barton, *Topics in Current Chemistry*, 236, 67, 2004.
- [97] K. Kawai, T. Majima, *Topics in Current Chemistry*, 236, 117, 2004.
- [98] T. Douki, J.-L. Ravanat, D. Angelov, J. R. Wagner, J. Cadet, *Topics in Current Chemistry*, 236, 1, 2004.
- [99] T. R. Cech, *Angew. Chem*, 112, 34, 2000.
- [100] K. J. McConnell, D. L. Beveridge, *J. Mol. Biol.*, 304, 803, 2000.

- [101] S. R. Rajski, B. A. Jackson, J. K. Barton, *Mutat Res.*, 447, 49, 2000.
- [102] C. Behrens, M. K. Cichon, F. Grolle, U. Hennecke, T. Carell, *Topics in Current Chemistry*, 236, 187, 2004.
- [103] B. Hartzell, B. McCord, D. Asare, H. Chen, J. J. Heremans, C. Soghomonian, *Appl. Phys. Lett.*, 82, 26, 4800, 2003.
- [104] B. Hartzell, B. McCord, D. Asare, H. Chen, J. J. Heremans, C. Soghomonian, *J. Appl. Phys.*, 94, 4, 2764, 2003.
- [105] E. Braun, Y. Eiche, U. Sivan, G. Ben-Yoseph, *Nature*, 391, 775, 1998.
- [106] D. Porath, A. Bezryadin, S. de Vries, C. Dekker, *Nature*, 403, 635, 2000.
- [107] A. J. Storm, J. van Noort, S. de Vries, C. Dekker, *Appl. Phys. Lett.*, 79, 3881, 2001.
- [108] A. Y. Kasumov, M. Kociak, S. Guéron, B. Reulet, V. T. Volkov, D. B. Klinov, H. Bouchiat, *Science*, 291, 280, 2001.
- [109] A. Y. Kasumov, D. V. Klinov, P.-E. Roche, S. Guéron, H. Bouchiat, *Appl. Phys. Lett.*, 84, 6, 1007, 2004.
- [110] A. Y. Kasumov, D. V. Klinov, *Appl. Phys Lett*, 84, 1007, 2004.
- [111] R. Guckenberger, M. Hein, G. Cevc, H. F. Knapp, W. Wiegräbe, A. Hillebrand, *Science*, 266, 1539, 1994.
- [112] F.-R. F. Fan, A. J. Bard, *PNAS*, 96, 25, 14222, 1999.
- [113] R. Guckenberger, M. Hein, *Science*, 270, 1851, 1995.
- [114] F.-R. F. Fan, A. J. Bard, *Science*, 270, 1849, 1995.
- [115] M. Heim, R. Steigerwald, R. Guckenberger, *J. Struc. Biol.*, 119, 212, 1997.
- [116] T. Shigematsu, K. Shimotani, C. Manabe, H. Watanabe, M. Shimizu, *J. Chem. Phys.*, 118, 4245, 2003.

- [117] A. Rakitin, P. Aich, C. Papadopoulos, Y. Kobzar, A. S. Vedeneev, J. S. Lee, J. M. L. Xu, *Phys. Rev. Lett.*, 86, 3670, 2001.
- [118] K.-H. Yoo, D. H. Ha, J.-O. Lee, J. W. Park, J. Kim, J. J. Kim, H.-J. Lee, T. Kawai, H. K.-H. Yoo, D. H. Ha, J.-O. Lee, J. W. Park, J. Kim, J. J. Kim, H.-J. Lee, T. Kawai, H. Choi, *Phys. Rev. Lett.*, 87, 198102, 2001.
- [119] M. Bockrath, N. Markovic, A. Shepard, M. Tinkham, L. Gurevich, L. P. Kouwenhoven, M. W. Wu, L. L. Sohn, *Nano Lett.*, 2, 3, 187, 2002.
- [120] H.-Y. Lee, H. Tanaka, Y. Otsuka, K.-H. Yoo, J.-O. Lee, T. Kawai, *Appl. Phys. Lett.*, 80, 9, 2002.
- [121] Y. Otsuka, H.-Y. Lee, J.-H. Gu, J.-O. Lee, K.-H. Yoo, H. Tanaka, H. Tabata, T. Kawai, *Jpn. J. Appl. Phys.*, 41, 891, 2002.
- [122] L. Cai, H. Tabata, T. Kawai, *Appl. Phys. Lett.*, 77, 19, 3105, 2000.
- [123] Forschungszentrum Jülich, 29. Ferienkurs, Physik der Nanostrukturen, 1998
- [124] *Lexikon der Physik*, Spektrumverlag.
- [125] Morris, Kirby, Gunning, *Atomic Force Microscopy for Biologists*, Imperial College Press, 1999.
- [126] Z. Shao, J. Mou, D. M. Czajkowsky, J. Yang, J.-Y. Yuan, *Adv. Phys.*, 45, 1, 1, 1996.
- [127] G. Binnig, C. F. Quate, C. Gerber, *Phys. Rev. Lett.* 56, 930, 1986.
- [128] J. Vesenska, M. Guthold, C. L. Tang, D. Keller, E. Delaine, C. Bustamante, *Ultramicroscopy*, 42-44, 1243, 1992.
- [129] C. Bustamante, J. Vesenska, C. L. Tang, W. Rees, M. Guthold, R. Keller, *Biochem.*, 31, 22, 1992.
- [130] T. Thundat, R. J. Warmack, D.P. Allison, L. A. Bottomley, A. J. Lourenco, T. L. Ferrel, *J. Vac. Sci. Technol. A*, 10, 4, 630, 1992.
- [131] S. J. T. Van Noort, K. O. Van der Werf, B. G. De Grooth, N. F. Van Hulst, J. Greve, *Ultramicroscopy*, 69, 117, 1997.

- [132] J. Vesenka, S. Manne, G. Yang, C. J. Bustamante, E. Henderson, *Scanning Microscopy*, 7, 3, 781, 1993
- [133] M. He, A. Szuchmacher Blum, D. E. Aston, C. Buenciaje, R. Luginbühl, *J. Chem. Phys.*, 114, 3, 1355, 2001.
- [134] G. Yan, J. P. Vesnka, C. J. Bustamante, *Scanining*, 18, 344, 1996.
- [135] R. Ho, J.-Y. Yuan, Z. Shao, *Biophys. J.*, 75, 1077, 1998.
- [136] O. H. Willemsen, M. M. E. Snel, L. Kuipers, C. G. Figdor, J. Greve, B. G. De Groth, *Biop. J.*, 76, 716, 1999.
- [137] D. J. Müller, A. Engel, *Biophys. J.*, 73, 1633, 1997.
- [138] F. Völklein, T. Zetterer, *Einführung in die Mikrosystemtechnik*, F. Fieweg & Sohn Verlagsgesellschaft mbH, Braunschweig/ Wiesbaden, 2000.
- [139] R. Wase (Ed), *Nanoelectronics and Informationstechnology*, WILEY-VHC, Weinheim, 2003.
- [140] B. Kasemo, *Surf. Sci.*, 500, 656, 2002.
- [141] G. Zuccheri, B. Samori, *SFM Studies on the Structure and Dynamics of Single DNA Molecules*, 2002.
- [142] M. Amrein, D. J. Müller, *Nanobiol.*, 4, 4, 229, 1999.
- [143] H.-J. Butt, K. Graf, M. Kappl, *Physics and Chemistry of Interfaces*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2003.
- [144] R. J. Colton, A. Engel, J. E. Frommer, H. E. Gaub, A. A. Gewirth, R. Guckenberger, J. Rabe, W. M. Heckl, B. Parkinson, *Procedures in Scanning Probe Microscopies*, John Wiley & Sons, 1998.
- [145] A. Bensimon, A. Simon, D. Chiffaudel., V. Croquette, F. Heslot, D. Bensimon, *Science*, 265, 2096, 1994.
- [146] O. K. Varghese, L. K. Malhotra, *J. Appl. Phys.*, 87, 10, 7457, 2000.
- [147] H.-D. Dörfler, *Grenzflächen- und Kolloidchemie*, VHC Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, 1994.

- [148] J. L. Parker, P. M. Claesson, *Langmuir*, 10, 635, 1994.
- [149] P. A. Thiel, *Surf. Sci Rep.*, 7, 211, 1987.
- [150] P. B. Miranda, L. Xu, Y. R. Shen, M. Salmeron, *Phys. Rev. Lett.*, 81, 26, 5876, 1998.
- [151] D. Beaglehole, E. Z. Radlinska, B. W. Ninham, H. K. Christenson, *Phys. Rev. Lett.*, 66, 16, 2084, 1991.
- [152] H. K. Christenson, *J. Phys. Chem.*, 96, 3395, 1992.
- [153] M. J. Grimson, G. Rickayzen, P. Richmond, *Mol. Phys.*, 39, 63, 1980.
- [154] A. A. Golub, A. I. Zubenko, B. V. Zhmud, *J. Colloid Interf. Sci.*, 179, 482, 1996.
- [155] Persönliche Mitteilung Dr. K. Tönsing vom 26.08.2003.
- [156] M. Bezanilla, S. Manne, D. E. Laney, Y. L. Lyubchenko, H. G. Hansma, *Langmuir*, 11, 655, 1995.
- [157] G. S. Caravajal, D. E. Leyden, G. R. Quiniting, G. E. Maciel, *Anal. Chem.* 60, 1786, 1988.
- [158] J. D. Le Grange, J. L. Markham, *Langmuir*, 9, 1749, 1993.
- [159] www.jpik.com/tutorial/afm_sample_preparation1.htm.
- [160] L. M. Emers, M. Östblom, H. Zhang, N.-H. Jang, B. Liedberg, C. A. Mirkin, 124, 11248, 2002.
- [161] Landesumweltamt NRW, Immissionsuntersuchungen Luft, Messstation Bielefeld-Ost, 2001-2004.
- [162] X. Michalet, R. Ekong, F. Fougerousse, S. Rousseaux, C. Schurra, N. Hornigold, M. van Slegtenhorst, J. Wolfe, S. Povey, J. S. Beckmann, A. Bensimon, *Science*, 277, 1518, 1997.
- [163] A. Bensimon, A. Simon, D. Chiffaudel., V. Croquette, D. Bensimon, *Phys. Rev. Lett.*, 74, 4754, 1995.

- [164] F. Dewarrant, M. Calame, C. Schönenberger, *Single Mol.*, **3**, 4, 189, 2002.
- [165] G. Maubach, A. Csáki, D. Born, W. Fritzsche, *Nanotechn.*, **14**, 546, 2003.
- [166] Y. Huang, X. Duan, Q. Wei, C. M. Lieber, *Science*, **291**, 631, 2001.
- [167] A. Jensen, DNA Stretching via Fluid Flow, www.physics.uinc.edu/education/undergrad/reu/finalpapers/2002.jensen.PDF.
- [168] W. Hellmich, Diplomarbeit, Kapillarelektrophorese in PDMS Mikrofluidik-Kanälen, Fakultät für Physik, Universität Bielefeld, 2002.
- [169] C. Rivetti, M. Guthold, C. Bustamante, *J. Mol. Biol.*, **264**, 919, 1996.
- [170] D. Lang, P. Coates, *J. Mol. Biol.*, **36**, 137, 168, 1968.
- [171] C. R. Cantor, P. R. Schimmel, *Biophysical Chemistry Pt. II*, W. H. Freeman & Co., New York, 12. Auflage, 2001.
- [172] A.-M. Chiorcea, A. M., *Bioelectrochem.* **63**, 229, 2004.
- [173] Y. L. Lyubchenko, L. S. Shlyakhtenko, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **94**, 496, 1997.
- [174] H. G. Hansma, I. Revenko, K. Kim, D. E. Laney, *Nucl. Acids. Res.*, **24**, 4, 713, 1996.
- [175] H. G. Hansma, *J. Vac. Sci. Technol. B.*, **14**, 2, 1390, 1996.
- [176] H. G. Hansma, D. E. Laney, M. Bezanilla, r. L. Sinsheimer, P. K. Hansma, *Biophys. J.*, **68**, 1672, 1995.
- [177] Persönliche Mitteilung Prof. Dr. D. Anselmetti vom 19.07.2004.
- [178] D. Anselmetti, M. Dreier, R. Lüthi, T. Richmond, E. Meyer, J. Frommer, H.-J. Güntherodt, *J. Vac. Sci. Technol. B* **12**, 3, 1500, 1994.
- [179] G. Werdler, *Lehrbuch der Physikalischen Chemie*, VCH Verlagsgesellschaft mbH Weinheim, 1987.

- [180] J. O'M. Bockris, S. U. M. Khan, Surface Electrochemistry, Plenum Press, New York, 1993.
- [181] D. H. Ha, H. Nham, K.-H. Yoo, H.-mi So, H.-Y. Lee, T. Kawai, Chem Phys. Lett., 355, 405, 2002.
- [182] T. H. LaBean, Computational Biology and Genome Informatics, World Scientific Publishing, Singapore, 2003.
- [183] F. Patolsky, Y. Weizmann, O. Lioubashevski, I. Willner, Angew. Chem., 114, 13, 2429, 2002.
- [184] E. Di Mauro, C. P. Hollenberg, Adv. Mater., 5, 5, 384, 1993.
- [185] J. Richter, M. Mertig, W. Pompe, I. Mönch, H. K. Schackert, Appl. Phys. Lett., 78, 4, 536, 2001.
- [186] K. Keren, R. S. Berman, E. Buchstab, U. Sivan, E. Braun, Science, 302, 1380, 2003.
- [187] Y. Kawabe, L. Wang, T. Nakamura, N. Ogata, Appl. Phys. Lett., 81, 8, 1372, 2002.
- [188] E. L. Wolf, Nanophysics and Nanotechnology, Willey-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2004.
- [189] J. Reichert, R. Ochs, D. Beckmann, H. B. Weber, M. Major, H. v. Löhneysen, Phys. Rev. Lett., 88, 17, 176804, 2002.
- [190] Z. Yao, H. W. Ch. Postma, L. Balents, C. Dekker, Nature, 402, 273, 1999.
- [191] M. S. Fuhrer, J. Nygård, L. Shih, M. Forero, Y.-G. Yoon, M. S. C. Mazzoni, H. J. Choi, J. Ihm, S. G. Louie, A. Zettl, P. L. McEuen, Science, 288, 495, 2000.
- [192] S. J. Tans, A. R. M. Verschueren, C. Dekker, Nature, 393, 49, 1998.

Veröffentlichungen

Publikationen

H. Kleine, R. Wilke, Ch. Pelargus, K. Rott, A. Pühler, G. Reiss, R. Rosa, D. Anselmetti, "Absence of intrinsic electric conductivity in single dsDNA molecules", *Journal of Biotechnology* 112, 91, 2004.

R. Wilke, H. Kleine, G. Reiss, R. Ros, K. Tönsing, D. Anselmetti, "Single Molecules Conductivity Experiments with Polythiophenes", in Vorbereitung 2004.

Tagungsbeiträge

H. Kleine, R. Wilke, K. Rott, K. Tönsing, R. Ros, G. Reiss, A. Pühler, D. Anselmetti, "Intrinsic Conductivity of DNA", DPG Frühjahrstagung 2004 Regensburg.

"H. Kleine, R. Wilke, K. Rott, K. Tönsing, G. Reiss, R. Ros, D. Anselmetti, Intrinsic Conductivity of DNA", SPM Workshop, Bielefeld 2004

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde von Januar 2001 bis Dezember 2004 am Lehrstuhl für Experimentelle Biophysik und Angewandte Nanowissenschaften an der Universität Bielefeld unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Dario Anselmetti durchgeführt.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dario Anselmetti, der mir die Möglichkeit und Motivation gegeben hat in seiner Arbeitsgruppe meine Doktorarbeit durchzuführen. Prof. Dr. Günter Reiss danke ich für die freundliche Bereitschaft das Zweitgutachten zu erstellen. Meinen Betreuern Dr. Robert Ros und Dr. Katja Tönsing, möchte ich danken, das sie immer ein offenes Ohr hatten für alle meine Fragen und Probleme. Außerdem gilt mein Dank all denen, die mir durch ihre Unterstützung die Erstellung dieser Arbeit ermöglicht haben.

Ralf Wilke möchte ich für die Messungen der P3OT-Moleküle danken, die er im Rahmen seiner Diplomarbeit durchgeführt hat. Ich danke Christoph Pelagus (Programmierung der Lab-View Steuerung), Volker Walhorn (Messungen), Than Tu Duong (Einweisung Parallelbelichter), Wibke Helmich (Plasmacleaner), Carola Haumann (Einweisung AFM) und allen anderen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe für praktische Hilfe, Diskussionen und Ertragen verbaler Boßhaftigkeiten.

Weiterer Dank gilt Dr. Karsten Rott (REM und sehr viel praktische Ratschläge), Jörg Schotter (Laserbelichter), Dr. Thomas Westerwaldesloh (α -Kohlenstoff), Dr. Ulf Kleineberg (Veraschen), Dr. Andreas Mix (CO-Atmosphäre), Dr. Slawomir Czerkas (weil ich vergessen habe ihm in meiner Diplomarbeit zu erwähnen), M-Werkstatt (Annahme von Technischen Zeichnungen, die sich auf Notizzetteln befanden), der Fußballgruppe der Physik und allen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Günter Reiss für die unkomplizierte Hilfe bei allen Fragen und Problemen. Außerdem möchte ich Prof. Dr. Reinhard Guckenberger danken, der mir freundlicherweise das STM-Bild in Abbildung 2.32 (a) überlassen hat.

Zu großem Dank verpflichtet bin ich Betina Krewedel, Jörg Matini, Dr. Katja Tönsing, Rainer Eckel, Jan Bornemeier, und für das Korrekturlesen.