

# Elektrokinetische Phänomene in Siliziumnitrid-Nanoporen und ihr Einfluss auf DNS-Translokationen

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

Vorgelegt von  
Andreas Johannes Meyer  
im Juni 2019

Begutachtet durch  
Prof. Dr. Peter Reimann  
Prof. Dr. Jürgen Schnack



## Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe, dass alle Stellen der Arbeit, die wörtlich oder sinngemäß aus anderen Quellen übernommen wurden, als solche kenntlich gemacht sind und dass die Arbeit in gleicher oder ähnlicher Form noch keiner Prüfungsbehörde vorgelegt wurde.

Weiter versichere ich, dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Vermittlungstätigkeiten oder für Arbeiten im Zusammenhang mit dem Zustandekommen oder dem Inhalt dieser Arbeit erhalten haben.

Die geltende Promotionsordnung der Fakultät für Physik ist mir bekannt.

## Liste der erschienenen wissenschaftlichen Publikationen

Lukas Galla, Andreas J Meyer, Andre Spiering, Andy Sischka, Michael Mayer, Adam R Hall, Peter Reimann, Dario Anselmetti, *Hydrodynamic slip on DNA observed by optical tweezers-controlled translocation experiments with solid-state and lipid-coated nanopores*, Nano Letters **14**, 4176 (2014)

Andy Sischka, Lukas Galla, Andreas J Meyer, Andre Spiering, Sebastian Knust, Michael Mayer, Adam R Hall, André Beyer, Peter Reimann, Armin Götzhäuser, Dario Anselmetti, *Controlled translocation of DNA through nanopores in carbon nano-, silicon-nitride-and lipid-coated membranes*, Analyst **140**, 4843 (2015)



# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>7</b>
1.1	Polymertranslokation durch Nanoporen . . . . .	9
1.2	Ziel und Gliederung . . . . .	12
<b>2</b>	<b>Debye-Schicht und Elektroosmose</b>	<b>14</b>
2.1	Elektrokinetik in einem idealen Kanal . . . . .	17
<b>3</b>	<b>Kontrollierte Translokation</b>	<b>21</b>
3.1	Modell der Polymerdynamik . . . . .	23
3.1.1	Resultate . . . . .	27
3.1.2	Diskussion . . . . .	36
3.2	Elektrokinetik in Silizium-Nitrid-Nanoporen . . . . .	36
3.2.1	Messungen . . . . .	37
3.2.2	Kontinuum-Modell der Elektrokinetik . . . . .	38
3.2.3	Resultate . . . . .	50
<b>4</b>	<b>Laser-induzierte Membranladung</b>	<b>56</b>
4.1	Elektrische Membranoberflächenladung . . . . .	56
4.2	Lösung der erweiterten Gleichung . . . . .	58
4.3	Optoelektronische Kontrolle der Membranladung . . . . .	60
4.4	Reduktion der DNS-Passagezeiten . . . . .	66

4.5	Rückblick auf die Kraftmessungen . . . . .	69
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>71</b>
<b>6</b>	<b>Danksagung</b>	<b>73</b>
	<b>Literatur</b>	<b>74</b>

# 1 Einleitung

Vor fast 150 Jahren wurde der Dreh- und Angelpunkt allen bekannten Lebens entdeckt: Desoxyribonukleinsäure. DNS wurde erstmalig 1871 von Friedrich Miescher isoliert und beschrieben [1]. Meilensteine ihrer Erforschung sind die Beschreibung ihrer Doppelhelix-Struktur 1953 [2], die erste Sequenzierung eines Virus-Genoms (Bakteriophage PhiX174, 5386 Basenpaare) 1977 [3], die erste Sequenzierung des Genoms eines Lebewesens (*Haemophilus influenzae* Rd, 1 830 137 Basenpaare) 1995 [4] und die Sequenzierung eines menschlichen Genoms (circa 3,3 Mrd. Basenpaare) 2004 durch das Humangenomprojekt [5]. Ermöglicht wurde diese Entwicklung durch technische Fortschritte. Für die Sequenzierung von PhiX174 wurde die Sanger-Methode nach Frederick Sanger und Alan Coulson genutzt [6], welche für 50 Basenpaare noch „einige Tage“ Arbeit benötigte [7]. Im Jahr 2008 verkündete die Firma Complete Genomics, dass sie für die vollständige Sequenzierung eines menschlichen Genoms nur acht Tage benötige [8]. Eine ähnlich rasante Entwicklung gilt für die Kosten der Genom-Sequenzierung. Laut dem amerikanischen National Human Genome Research Institute lagen die Kosten 2001 bei circa 100 Mio. US-Dollar pro Genom, bis 2015 war der Preis auf circa 1000 US-Dollar gefallen [9]. Moderne Sequenzierungsverfahren werden heute als „Third-Generation-Sequencing“ bezeichnet [10]. Zu dieser neuen Generation zählt insbesondere auch die Sequenzierung mittels Nanoporen. Sie hebt sich von anderen Verfahren dadurch ab, dass die DNS in Einzelmolekül-Messungen ohne aufwändige Präparation der Probe sequenziert wird [11].

Nanoporen sind Membrankanäle von wenigen Nanometern Durchmesser in ebenso

dünnen Membranen. Diese Membranen sind eingebettet in einer wässrigen Salzlösung. Eine Sequenzierung von DNS kann so geschehen, dass DNS mittels elektrischer Felder durch eine Nanopore bewegt wird. Während des Durchschreitens der DNS durch die Pore, der Translokation, wird dessen Nukleotidsequenz ermittelt, indem das Salzionen-Stromsignal untersucht wird, das abhängig von den Nukleotiden, welche gerade die Pore blockieren, variiert.

Es können generell zwei Arten der Nanoporen unterschieden werden [12]: Proteinporen, sowie Festkörper-Nanoporen. Proteinporen bestehen aus einem kanalbildenden Protein, zum Beispiel Alphahämolyisin [13] oder MspA [14], eingebettet in einer Doppellipidschicht. Festkörper-Poren umfassen eine Vielzahl möglicher Membranmaterialien, wie Silizium-Nitrid [15], Silizium-Oxid [16], Graphen [17], oder Molybdän-Disulfid [18, 19]. In diese Membranen werden die Nanoporen mittels Transmissions-Elektronen-Mikroskop [20] oder Ionenstrahlen-Mikroskop [21] gebohrt.

Proteinporen wie Alphahämolyisin waren die ersten, die 1996 für DNS-Translokations-Experimente genutzt wurden<sup>1</sup> [13]. Derzeit sind sie die einzigen, welche kommerziell verfügbare Technologie hervor brachten. Nanoporen-Sequencer auf Basis von Proteinporen, wie der MinION der Firma Oxford Nanopore Technologies, sind inzwischen ab circa 1000 US-Dollar erwerblich [23, 24]. Der besondere Vorteil der Nanoporen-Sequenzierung gegenüber anderen modernen Methoden ist die Möglichkeit, sie in kleine, tragbare Geräte zu integrieren. So wurde der MinION beispielsweise genutzt, um 2016 die Ebola-Epidemie in Westafrika direkt vor Ort zu untersuchen [25, 26]. Einige Reviews, welche die Bedeutung von Nanoporen-Technologie für zukünftige biologische und medizinische Forschung betrachten, sind [27–32]. Eine „Historical Perspective“ gibt das Review [33] von David Deamer, Mark Akeson und Daniel Branton sowie ein Kommentar darauf [34] von John Kasianowicz.

Festkörper-Nanoporen haben bisher zwar keine kommerzielle Umsetzung erfahren, gel-

---

<sup>1</sup>Die erste Veröffentlichung, in der eine Nanopore (das Protein Alamethicin) als Coulter-Counter benutzt wurde um Polyethylenglycol zu detektieren, ist zwei Jahre früher datiert [22].

ten allerdings als Zukunft der Nanoporen-Sequenzierung [12, 35]. Im Gegensatz zu Proteinporen, welche durch Mutationen der Proteine nur in kleinem Maße modifiziert werden können [36, 37], können Festkörper-Nanoporen in verschiedenen Längen, Größen und Formen produziert werden [20, 38], oder mit verschiedenem Material beschichtet werden [39, 40].

## 1.1 Polymertranslokation durch Nanoporen

In einem typischen experimentellen Setup trennt eine mit einer Nanopore präparierte Membran zwei Compartments, welche mit einer wässrigen Salzlösung gefüllt sind. In eines der beiden Compartments wird DNS eingebracht. Ein dann angelegtes elektrisches Potential zwischen den Compartments führt zu einem elektrischen Feld entlang der Porenachse und dessen Umgebung. Bewegt sich ein elektrisch geladenes Polymer in den Wirkungsbereich des Feldes, wird es durch die Pore hindurchgezogen. Skizziert ist dieser Prozess in Abbildung 1.1. Das Durchfädeln kann detektiert werden, indem gleichzeitig der elektrische Salzionen-Strom durch die Pore gemessen wird. Blockiert ein Polymer die Pore, verändert sich das Stromsignal. Sehr vereinfacht kann eine Pore als Ohmscher Widerstand beschrieben werden. Ein Objekt in der Pore ändert diesen Widerstand auf spezifische Weise. Exemplarische Stromsignale sind in Abbildung 1.2 zu sehen. Zwei Eigenschaften des Stromsignales sind dabei besonders interessant: die Dauer der Stromänderung und die Größe der Änderung des Stroms. Lässt man ein Festklemmen oder Anhaften des Polymers außen vor, zeigt die Dauer unmittelbar die Passagezeit des Polymers durch die Pore. Die Stromänderung selbst kann Aufschlüsse über die Form der Translokation geben. Wie in Abbildung 1.2 gezeigt, ist beispielsweise Schlaufenbildung deutlich erkennbar.

Der Versuchsaufbau in Nanoporen-Translokations-Experimenten wird oft mit einem Coulter-Counter verglichen. 1953 von Wallace Coulter patentiert, ist es ein in der Medizin regelmäßig benutztes Verfahren, um unterschiedliche, kleine Partikel in einer Probe

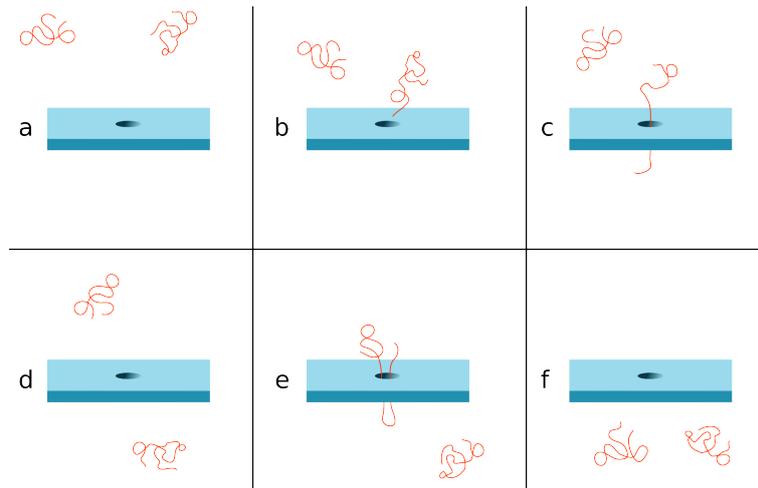


Abbildung 1.1: Skizze zweier Translokationen. (a) Polymere (z.B. DNS) werden auf einer Seite in die Pufferlösung eingebracht und ein elektrisches Potential über die Membran angelegt. (b) Das elektrische Feld in der Umgebung der Pore „fängt Polymere ein.“ (c und d) Das Polymer fädelt durch die Pore hindurch auf die andere Seite. (e und f) Ist die Nanopore groß genug, kann es auch vorkommen, dass das Polymer teilweise als Schlaufe, oder gänzlich als Ring durch die Pore fädelt.

anhand der Passagezeit und Stromänderung zu detektieren [42]. Bei üblichen Coulter-Countern sind die Partikeldurchmesser im Bereich von Mikrometern bis wenige Millimeter, die Kanaldurchmesser ebenso. In solchen Fällen ist es technisch ein Leichtes, Partikel zu zählen und deren Durchmesser zu bestimmen [42]. Nanoporen sind ein Faktor Tausend bis Millionen kleiner. So verlangen sie nicht nur den experimentellen Physikern einiges ab, auch die Theoriebildung wird durch den mesoskopischen Charakter des Systems herausgefordert. Relevante Zeitskalen bewegen sich von Nanosekunden (Passagezeit einzelner Polymersegmente, Elektro- und Hydrodynamik [43]) bis Millisekunden (Dauer einer vollständigen Translokation [16, 44]). Gleiches gilt für die räumlichen Dimensionen: Grenzsichtdicken liegen im Ångström-Bereich, Porendimensionen im Nanometer-Bereich und Polymerlängen im Mikrometer-Bereich [45].

Es finden sich in der Literatur daher verschiedene theoretische Herangehensweisen und Blickwinkel auf Nanoporen und Translokationsvorgänge. Zwei Aspekte werden dabei in

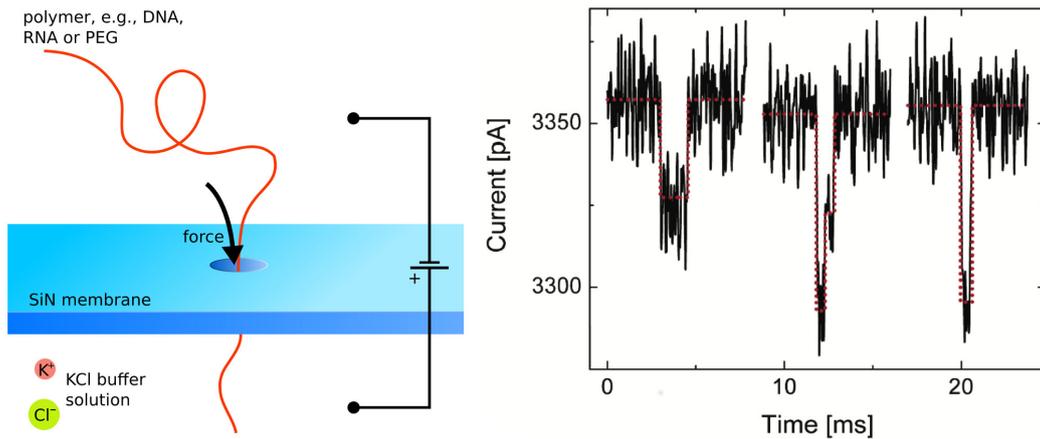


Abbildung 1.2: *Links*: Detail-Skizze des Versuchsaufbaus. Über eine Membran wird ein elektrisches Potential angelegt. Auf geladene Polymere, wie DNS, wirkt eine Kraft, die sie durch die Pore zieht. Weiterhin fließt ein Ionenstrom (hier Kalium-Chlorid) durch die Pore. *Rechts*: Exemplarische Stromsignale von DNS-Translokationen, entnommen aus [41]. Die Grundlinie des Ionenstroms, also eine freie Pore, liegt bei circa 3350 pA. Es werden drei Ereignisse gezeigt. *Linkes Ereignis*: Eine circa 2 ms dauernde Translokation. Der Strom fällt durch die Blockade durch eine DNS um ungefähr 30 pA ab. *Zweites Ereignis*: Eine kürzere Translokation, bei der der Strom zunächst doppelt so stark abfällt und dann ein ähnliches Niveau erreicht, wie links. Hier fädelt die DNS zunächst als Schlaufe ein, um dann einzeln auszufädeln. Bemerkenswert ist die ungefähre Verdopplung des Stromabfalls in der ersten Phase, während der zwei Stränge die Pore blockieren. *Rechtes Ereignis*: Eine DNS fädelt gänzlich als geschlossener Ring durch die Pore.

der Regel getrennt betrachtet: die Dynamik des Polymers einerseits und die Elektro- und Hydrodynamik andererseits. Theoretische Modelle der Polymerdynamik in Nanoporen sind eindimensionale Diffusionsprozesse [43, 46–50], Tension-Propagation [51–53], dreidimensionale Langevin-Dynamik von Bead-Spring-Chains [54–57] und das Wormlike-Chain-Modell [58, 59]. Die Elektro- und Hydrodynamik in Nanoporen wird in der Literatur entweder sehr vereinfacht durch Poisson-Gleichung und Stokes-Gleichung abgeschätzt [60, 61], in Molekular-Dynamik-Simulationen [62, 63] oder Brownian-Dynamics-Simulationen [64, 65] untersucht, oder durch ein Kontinuum-Modell aus gekoppelten

Poisson-Gleichung, Nernst-Planck-Gleichung und Stokes-Gleichung (PNP-Modell) beschrieben [45, 66–71].

In dieser Arbeit nutzen wir das PNP-Modell um die Elektrokinetik in Nanoporen zu beschreiben. Der Vorteil dieses Modells im Vergleich zu MD- und BD-Simulationen ist, dass es weniger Computerressourcen und Zeit zur numerischen Lösung beansprucht [72]. Dies führt unmittelbar zu größeren Modellsystemen, die beispielsweise Felder angemessen berücksichtigen können, welche nur langsam abfallen und für Vergleiche mit Experimenten nicht vernachlässigt werden können [45, 73]. Die Polymerdynamik betrachten wir anhand eines Potentials [58], das aus dem Wormlike-Chain-Modell abgeleitet wurde [59].

## 1.2 Ziel und Gliederung

Der oben erwähnte Vorteil von Festkörpernanoporen, ihre Variabilität, ist gleichzeitig eine Schwierigkeit. Elektrische Oberflächeneigenschaften Das Ziel dieser Arbeit ist es, das Zusammenspiel der elektrischen und hydrodynamischen Felder in Silizium-Nitrid-Nanoporen zu beschreiben und ihren Einfluss auf ein translokierendes Polymer zu quantifizieren. Die Modelle orientieren sich dabei an Messungen, die es erlauben, experimentelle Parameter aus ihnen abzuleiten. Dazu ist diese Arbeit in vier Kapitel gegliedert.

Kapitel 2 gibt eine kleine Einführung in die Grundzüge der Elektrokinetik und führt die relevanten Phänomene und Größen anhand von kurzen Beispielrechnungen ein. Kapitel 3 thematisiert die kontrollierte Translokation einer DNS durch eine Siliziumnitrid-Nanopore. Auf Grundlage von Experimenten aus der Arbeitsgruppe von Professor Dr. Dario Anselmetti an der Universität Bielefeld werden die Kräfte besprochen, welche auf eine DNS in einer Nanopore wirken. Im Wesentlichen sind das entropische Kräfte aufgrund der Dynamik des semiflexiblen Polymers selbst und elektrokinetische Kräfte aufgrund von beweglichen und unbeweglichen elektrischen Ladungen. Eingeleitet wird dieses Kapitel mit der Quantifizierung des Einflusses der DNS-Dynamik auf Kraftmessungen

während einer kontrollierten Translokation. Neben diesem ist ein weiteres Kernresultat dieses Kapitels ein umfangreiches Modell der Elektrokinetik in Nanoporen, welches elektrische Eigenschaften der Pore, sowie hydrodynamische Eigenschaften der DNS berücksichtigt. Letzteres wurde in zwei Artikeln [45, 74] veröffentlicht. Kapitel 4 widmet sich Messungen der elektrischen Leitfähigkeit von Siliziumnitrid-Poren und dem Einfluss von Laserbestrahlung darauf. Das Kernresultat dieses Kapitels ist ein Modell, das es erlaubt, diese Messungen quantitativ zu beschreiben und dabei die elektrischen Eigenschaften der Membranoberfläche zu bestimmen.

## 2 Debye-Schicht und Elektroosmose

Zur Einführung betrachten wir eine geladene Membran in einer Kalium-Chlorid-Lösung (KCl) im thermodynamischen Gleichgewicht. Die Membran sei eine in der  $yz$ -Ebene ausgedehnte Wand bei  $x = 0$  mit elektrischer Oberflächenladung  $\sigma$ . Fernab der Wand sei das elektrische Potential und dessen Ableitung  $V(x = \infty) = 0$  und  $-dV/dx = E(x = \infty) = 0$ . Die Bulk-Konzentrationen der positiv geladenen Kalium-Ionen und der negativ geladenen Chlor-Ionen  $c_+(\infty) = c_-(\infty) = c_0$  sind vorgegeben. Das Problem vereinfacht sich zu einem eindimensionalen System. Weiterhin nehmen wir an, dass das Gesamtsystem ladungsneutral sein muss und fragen: Wie sehen das elektrische Potential  $V(x)$  und die Salzionenkonzentrationen  $c_+(x)$  und  $c_-(x)$  in der Nähe der Wand aus?

Die Poisson-Gleichung beschreibt das elektrische Potential und lautet

$$-\frac{d}{dx} \left\{ \epsilon(x) \frac{dV(x)}{dx} \right\} = \frac{d}{dx} \{ \epsilon(x) E(x) \} = \rho(x). \quad (2.1)$$

Darin ist  $E(x) = -dV(x)/dx$  das elektrische Feld,  $\epsilon(x)$  die Permittivität der wässrigen Lösung (hier sei  $\epsilon = 80 \epsilon_0$ ) und  $\rho(x)$  die elektrische Raumladungsdichte. Letztere setzt sich aus den Ionenkonzentrationen zusammen:

$$\rho(x) = F z \{ c_+(x) - c_-(x) \}, \quad (2.2)$$

wobei  $z$  die elektrische Ladungen pro Ion ist und  $F = N \cdot e$  die Faraday-Konstante (Avogadro-Zahl mal elektrische Elementarladung  $[F] = \text{C/mol}$ ). Da Kalium-Chlorid-

Ionen einfach geladen sind, ist der Betrag der Ladungszahl  $z = 1$ . Im Gleichgewicht sind die Ionen Boltzmann-verteilt,  $c_{\pm}(x) = c_0 \exp(\mp eV(x)/kT)$ . Die Raumladungsdichte wird dann

$$\rho(x) = -2 F c_0 \sinh \left\{ \frac{eV(x)}{kT} \right\}. \quad (2.3)$$

Für große  $x$  ist  $\rho(x = \infty) = F \cdot (c_0 - c_0) = 0$ . Nehmen wir zunächst an, dass das Oberflächenpotential  $V(x = 0) = V_0$  bekannt sei. Gleichungen (2.1) bis (2.3) lassen sich dann analytisch behandeln und haben die Lösung [75, 76]

$$V(x) = \frac{4kT}{e} \operatorname{atanh} \left\{ \tanh \left( \frac{eV_0}{4kT} \right) \exp \left( -\sqrt{\frac{2eFc_0}{\epsilon kT}} x \right) \right\}. \quad (2.4)$$

Wir werden gleich auch das dazugehörige elektrische Feld benötigen. Unter Verwendung von  $(\operatorname{atanh} x)' = 1/(1 - x^2)$  und  $(\tanh x)/(1 - \tanh^2 x) = (1/2) \sinh 2x$  ist es

$$E(x) = -\frac{dV(x)}{dx} = \sqrt{\frac{8Nc_0kT}{\epsilon}} \sinh \left( \frac{eV_0}{2kT} \right) \exp \left( -\sqrt{\frac{2eFc_0}{\epsilon kT}} x \right). \quad (2.5)$$

Für die Rechnungen nahmen wir das Oberflächenpotential  $V_0$  als gegeben an. Die eigentliche Randbedingung ist aber eine Oberflächenladungsdichte  $\sigma$ . Um einen Zusammenhang zwischen diesen beiden zu finden, stellen wir fest, dass die Raumladungsdichte  $\rho(x)$  die Oberflächenladung  $\sigma$  neutralisieren muss, um die geforderte Ladungsneutralität des Systems zu gewährleisten. Das bedeutet

$$\begin{aligned} \sigma &= -\int_0^{\infty} \rho(x) dx = \epsilon \int_0^{\infty} \frac{d^2V(x)}{dx^2} dx = -\epsilon \frac{dV(0)}{dx} \\ &= \sqrt{8Nc_0\epsilon kT} \sinh \left( \frac{eV_0}{2kT} \right). \end{aligned} \quad (2.6)$$

Diese Relation  $\sigma(V_0)$  wird Grahame-Gleichung genannt. Die Oberflächenladung wurde von uns als Randbedingung festgelegt, entsprechend stellt sich das elektrische Potential  $V_0 = (2kT/e) \operatorname{asinh}(\sigma/\sqrt{8Nc_0\epsilon kT})$  abhängig von  $c_0$ ,  $\epsilon$  und  $kT$  ein.

Die Gleichungen (2.4) und (2.6) sind die Antwort auf die Frage nach  $V(x)$  und  $c_{\pm}(x) = c_0 \exp(\mp eV/kT)$ . Auf Gleichung (2.6) wird später in der Arbeit noch zurückgegriffen. Zur Anschauung betrachten wir zuvor noch einmal die Poisson-Boltzmann-Gleichung, diesmal für sehr kleine Oberflächenladungen, sodass  $eV_0/kT \ll 1$  und damit  $\sinh x \approx x$ . Aus der Poisson-Gleichung (2.1) wird dann

$$\frac{d^2V(x)}{dx^2} = \lambda^{-2} V(x), \quad \text{mit} \quad \lambda^{-2} = \frac{2e^2 N c_0}{\epsilon kT}, \quad (2.7)$$

diese Vereinfachung heißt Debye-Hückel-Näherung. Auch die Grahame-Gleichung (2.6) wird einfacher,  $\sigma = (\epsilon/\lambda) V_0$ , und eine Lösung für  $V(x)$  und  $c_{\pm}(x)$  zu finden ist trivial:<sup>1</sup>

$$V(x) = \frac{\lambda\sigma}{\epsilon} \exp\left(-\frac{x}{\lambda}\right) \quad (2.8)$$

$$c_{\pm}(x) = c_0 \left\{ 1 \mp \sigma \sqrt{\frac{\epsilon}{2kTNc_0}} \exp\left(\frac{x}{\lambda}\right) \right\} \quad (2.9)$$

Gleichung (2.9) zeigt, dass in der Salzlösung an der Wand (bei  $x = 0$ ) eine Grenzschicht der Dicke  $\lambda$  liegt. Die nach Peter Debye benannte Grenzschicht spielt eine wichtige Rolle für die hier betrachteten physikalischen Phänomene, ebenso wie ihre charakteristische Größe

$$\lambda = \sqrt{\epsilon kT / (2e^2 N c_0)}, \quad (2.10)$$

die Debye-Länge. Abbildung 2.1 skizziert die Funktionen  $V(x)$  (links) und  $c_{\pm}(x)$  (rechts).

---

<sup>1</sup>Die allgemeine Lösung ist  $V(x) = a \exp(x/\lambda) + b \exp(-x/\lambda)$  mit den Randbedingungen  $V(0) = V_0$  und  $V(\infty) = 0$ . Die Konzentrationen werden dann entwickelt bis zur ersten Ordnung:  $c_{\pm}(x) = c_0(1 \mp eV(x)/kT)$ .

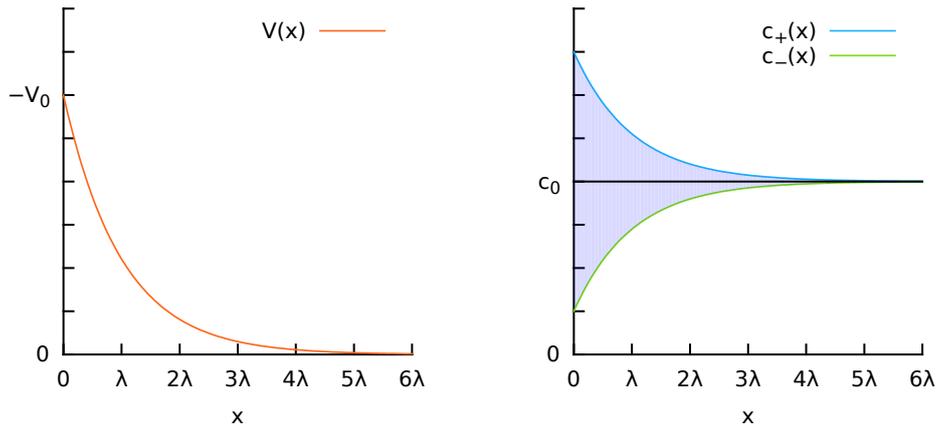


Abbildung 2.1: Das elektrische Potential und die Konzentrationen, Gleichungen (2.8) und (2.9). Die Ionen  $c_+$ , welche entgegen der Oberfläche geladen sind, werden in diesem Kontext oft Gegenionen genannt und schirmen die (hier negative) Oberflächenladung  $\sigma = (\epsilon/\lambda) V_0$  ab. Die blaue Fläche ist proportional zur Raumladungsdichte  $\rho = F \cdot (c_+ - c_-)$ .

## 2.1 Elektrokinetik in einem idealen Kanal

Im nächsten Schritt wird ein zylindrischer Kanal entlang einer Achse  $z$  betrachtet. Der Einfachheit halber soll der Kanal endlich, aber lang genug sein um Endeffekte zu vernachlässigen. Sein Radius  $R$  sei deutlich größer als die Debye-Länge  $\lambda$ . Die Kanalwand trage eine Ladungsdichte  $\sigma < 0$ . Das elektrische Potential in einem Querschnitt des Kanals wird nun durch die Koordinate  $-R < r < R$  beschrieben.

Mit den Randbedingungen  $V(R) = V(-R) = V_0$  lautet die Lösung von Gleichung (2.7) im Kanal dann <sup>2</sup>

$$V(r) = \frac{\lambda\sigma}{\epsilon} \frac{\cosh(r/\lambda)}{\cosh(R/\lambda)} \quad (2.11)$$

und damit

$$\rho = -\frac{\epsilon V}{\lambda^2} = -\frac{\sigma}{\lambda} \frac{\cosh(r/\lambda)}{\cosh(R/\lambda)}. \quad (2.12)$$

<sup>2</sup>Die allgemeine Lösung von (2.7) wird umformuliert als  $V(x) = A \cosh(x/\lambda) + B \sinh(x/\lambda)$ , die Randbedingung führt zu  $V(x) = V_0 \cosh(x/\lambda)$ . Dann muss nur noch die Debye-Hückel-Näherung der Grahame-Gleichung  $V_0 = \lambda\sigma/\epsilon$  eingesetzt werden.

Ein konstantes elektrisches Feld  $E_z$  wird nun entlang der Porenachse angelegt. Da die Lösung in der Debye-Schicht eine von Null abweichende elektrische Ladungsdichte  $\rho$  trägt, wirkt durch das angelegte elektrische Feld eine Kraftdichte auf das Fluidvolumen: die Coulomb-Kraft  $\rho(r) \cdot E_z$ . Um das daraus resultierende Geschwindigkeitsfeld des Fluids  $u_z(r)$  im stationären Zustand zu finden, reicht es in diesem einfachen Fall, die Impulserhaltung als einfachste Form der Stokes-Gleichung zu berücksichtigen [76, 77]:

$$0 = \eta \frac{d^2 u_z(r)}{dr^2} + \rho(r) \cdot E_z. \quad (2.13)$$

Darin ist  $\eta$  die Viskosität von Wasser. Da  $\rho = -\epsilon(d^2 V / d^2 r)$  folgt

$$0 = \frac{d^2}{dr^2} \left\{ u_z(r) - E_z \frac{\epsilon}{\eta} V(r) \right\}. \quad (2.14)$$

Wird Gleichung (2.14) zwei mal integriert und die No-Slip-Randbedingung  $u_z(R) = u_z(-R) = 0$  eingesetzt finden wir, ähnlich zum Potential (2.11), die Lösung

$$u_z(r) = -E_z \frac{\lambda \sigma}{\eta} \left\{ 1 - \frac{\cosh(r/\lambda)}{\cosh(R/\lambda)} \right\}. \quad (2.15)$$

Das externe elektrische Feld induziert also eine Fluid-Strömung  $u_z$  durch den Kanal. Die Coulomb-Kraft wirkt zwar nur in der Debye-Schicht an der Kanalwand, der elektro-neutrale Bereich wird dann aber mitbewegt. Dieses Phänomen wird elektroosmotischer Fluss genannt. Wir sehen in Gleichungen (2.12) und (2.15), dass die Fluss-Richtung diejenige ist, in der die Gegenionen an der geladenen Oberfläche durch das tangentielle elektrische Feld transportiert werden. Die Funktion  $u_z(r)$  ist in Abbildung 2.2 skizziert.

Außer dem Fluid fließt aufgrund von  $E_z$  auch ein elektrischer Ionenstrom durch den Kanal. Die Stromdichten  $J_{\pm}(r)$  der Ionenspezies setzen sich in diesem Modell jeweils aus zwei Komponenten zusammen. Zunächst die offensichtliche, die Migration aufgrund

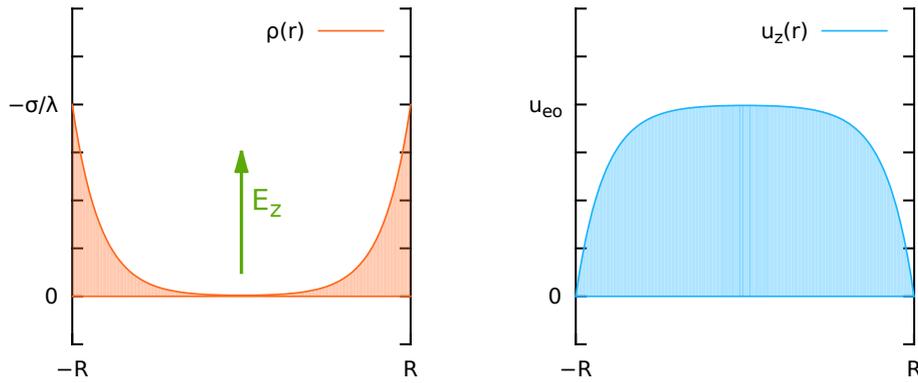


Abbildung 2.2: Skizze der Raumladungsdichte  $\rho(r)$  und des Geschwindigkeit-Profiles  $u_z(r)$  des Fluids. Wie in Abbildung 2.1 bildet sich eine Debyeschicht an der Kanalwand, hier ist  $\lambda = R/6$ . Durch das externe elektrische Feld wird ein elektroosmotischer Fluss induziert. In diesem idealen Fall ist es ein Plugflow mit Plateau-Geschwindigkeit  $u_{e0} = -E_z \lambda \sigma / \eta$  bei  $r = 0$ . Da  $R \gg \lambda$  und damit  $\cosh(R/\lambda) \rightarrow \infty$ .

des elektrischen Feldes  $E_z$ . Sie ist proportional zur Feldstärke:  $J_{+,M} = \mu_+ c_+(r) E_z$  und  $J_{-,M} = \mu_- c_- E_z$ , wobei  $\mu_{\pm}$  die elektrische Mobilität der Ionen bezeichnet ( $\mu_+ > 0$  und  $\mu_- < 0$ ). Dazu kommt die Konvektion der Teilchen durch das sich bewegende Fluid,  $c_+(r) \cdot u_z(r)$  und  $c_-(r) \cdot u_z(r)$ . Aus der Teilchenstromdichte folgt die elektrische Stromdichte  $eN \{J_+(r) - J_-(r)\}$ . Der konvektive Strom bewegt beide Spezies in die gleiche Richtung. Folglich wird nur dort elektrische Ladung konvektiv transportiert, wo  $\rho(r) \neq 0$ .

Versuchen wir aus diesem idealisierten Kanal ein Bild der Größenordnungen zu gewinnen, in denen wir uns in dieser Arbeit bewegen und betrachten dazu typische Parameterwerte. Wird über einer 50 nm langen Pore ein elektrisches Potential von 50 mV angelegt, resultiert daraus in der Mitte der Pore ein elektrisches Feld  $E_z = 1$  mV/nm. Die Oberflächenladung einer Silizium-Membran hängt von verschiedenen Faktoren ab, auf die später in Kapitel 4 eingegangen wird. Setzen wir sie hier auf  $\sigma = -50$  mC/m<sup>2</sup> fest. Die Salzkonzentration in SiN-Nanoporen-Experimenten ist in der Regel zwischen 1 bis 1000 mM, nehmen wir für dieses Beispiel 10 mM an. Bei Raumtemperatur ( $kT \approx 4$  pN nm) in Was-

ser ( $\epsilon \approx 80\epsilon_0$ ) ist die Debye-Länge (2.10) dann  $\lambda \approx 3$  nm. Aus Gleichung (2.15) folgt eine elektroosmotische Geschwindigkeit  $u_{eo} = 15$  cm/s = 150 nm/ $\mu$ s. Tatsächlich entspricht diese grobe Abschätzung den Fluid-Geschwindigkeiten in Nanoporen, wie wir in Abschnitt 3.2.2 sehen werden. Stellen wir uns in diesem Geschwindigkeitsfeld nun ein Teilchen mit Radius  $r = 3$  nm vor, würde es eine Stokes-Kraft  $F_S = 6\pi\eta r u_{eo} \approx 8,5$  pN erfahren, was ebenfalls der Kraft entspricht, die zum Beispiel auf Proteine dieser Größe in Nanoporen wirkt [58].<sup>3</sup>

Der unendlich lange Kanal wurde in mehreren Veröffentlichungen als Nanoporenmodell untersucht [61, 62, 79–81]. Die elektrische Leitfähigkeit einer Pore wird aber auch von Endeffekten, also den physikalischen Feldern außerhalb der Pore bestimmt [82]. In einem Abstand  $d$  von der Pore fallen die Felder mit  $1/d^2$  ab [45, 83], wirken also durchaus noch auf Polymere außerhalb. In der unmittelbaren Nähe hängen sie zusätzlich von der Länge, Form und Oberflächenladung der Pore ab [73]. Für einen quantitativen Vergleich von Modell und Experiment, insbesondere bezüglich der Kräfte auf Polymere, eignen sich diese stark idealisierten Nanoporen daher wenig.

---

<sup>3</sup>In dem Paper [58] wird unter anderem die Kraft auf ein EcoRI-Protein gemessen, welches ungefähr 4 bis 8 nm im Durchmesser hat und nur eine kleine elektrische Ladung trägt (abschätzbar an der Struktur 1ERI in der Protein Data Bank ([www.rcsb.org](http://www.rcsb.org)) [78]).

### 3 Kontrollierte Translokation

Die in der Einleitung beschriebene freie Translokation von DNS-Strängen durch synthetische Nanoporen ist in zweierlei Hinsicht ein schneller Prozess. Zum einen aus technischer Sicht: typische Passagezeiten sind 10 bis 100 ns pro Basenpaar [43], die derzeit experimentell erreichte zeitliche Auflösung von Translokations-Events liegt bei 2,5  $\mu$ s [43, 49]. Zum anderen aus Sicht der DNS: das Durchfädeln geschieht schneller als ein langes DNS-Knäuel, oder dessen Segmente außerhalb der Pore äquilibriert [84–86]. Das Polymer wird förmlich durch die Pore gepresst und ist dabei zu keinem Zeitpunkt im Gleichgewicht [87]. Um einen Einblick in die Wirkung der elektrischen und hydrodynamischen Kraftfelder zu erlangen, muss das Polymer also deutlich verlangsamt, oder besser noch, kontrolliert durch die Pore geführt werden. Die Möglichkeit hierzu bietet eine optische Pinzette.

Der in der Einleitung beschriebene experimentelle Aufbau (Abbildung 1.2) wird erweitert. Anstatt die DNS mittels elektrischem Feld frei durch die Pore fädeln zu lassen, wird sie an einem circa 3  $\mu$ m großem Microbead befestigt.<sup>1</sup> Dieses liegt im Fokus einer optischen Pinzette. Wirkt eine externe Kraft auf das Bead, wird es aus dem Fokus herausgezogen. Diese Auslenkung führt zu einer linearen Rückstellkraft, welche das Bead in den Fokus zurückzieht [89]. Die Messung der Auslenkung, lässt damit direkt auf die wirkende Kraft folgen [90, 91].

Das Bead kann mit der optischen Pinzette in die Nähe der Membran gebracht werden,

---

<sup>1</sup>Die Bindung geschieht folgendermaßen: An einem Ende der DNS-Stränge wird das Vitamin Biotin angebracht. Das Microbead ist mit Streptavidin beschichtet. Dieses Protein bindet Biotin sehr stark, die Verbindung hält Kräfte bis etwa 150 pN [88]. Tatsächlich befinden sich in der Regel mehrere DNS-Stränge an einem Microbead, wodurch auch mehrere DNS-Stränge gleichzeitig durch die Pore geführt werden können.

bis der DNS-Strang in die Pore einfädelt. Es stellt sich ein stationärer Zustand ein. Die DNS bleibt dabei am Bead fixiert und wird an zwei Punkten gestreckt, auf einer Seite durch das elektrische Feld in der Pore, auf der anderen Seite durch die Rückstellkraft der optischen Pinzette. Durch das Verschieben des Fokus kann dann das Polymer kontrolliert durch die Pore geführt werden. In Abbildung 3.1 ist der Versuchsaufbau skizziert und eine exemplarische Kraftmessung gezeigt. In der dargestellten Messung wurde eine Lambda-

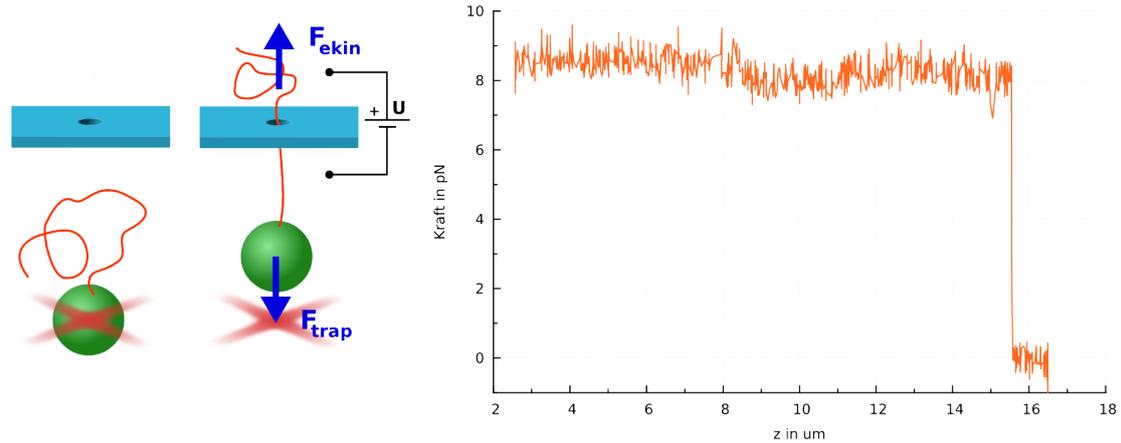


Abbildung 3.1: *Links*: Ein DNS-Strang (rot) ist an einem Polysterol-Kügelchen (grün) befestigt. Wird eine Spannung  $U$  über die Siliziumnitrid-Membran (blau) angelegt, wird die DNS in die Pore gezogen. Dort wirkt auf sie die elektrokinetische Kraft  $F_{ekin}$ . Das Microbead wird aus dem Fokus der optischen Pinzette (rotes Kreuz) ausgelenkt bis die Rückstellkraft  $F_{trap}$  den Zug der DNS kompensiert. *Rechts*: Eine exemplarische Kraftmessung an einer Lambda-DNS in einer 41 nm großen Pore [45]. Die angelegte Spannung beträgt 50 mV. Der Graph zeigt die gemessene Kraft  $F_{trap}$  als Funktion des Abstandes  $z$  zwischen Pinzetten-Fokus und Membran.

DNS<sup>2</sup> in die Pore eingefädelt und der Fokus der Pinzette bis unter  $3\mu\text{m}$  an die Membran geführt. Ab dort wurde der Abstand  $z$  langsam vergrößert. Bei  $z \approx 15,5\mu\text{m}$  fällt die Kraft auf Null, die DNS wurde vollständig aus der Nanopore gezogen. Währenddessen wirkt eine konstante Kraft von circa  $8,5\text{pN}$  auf das Microbead.

<sup>2</sup>Lambda-DNS bezeichnet die DNS des Escherichia-Virus Lambda, dessen Sequenz seit 1982 vollständig bekannt ist [92], ebenso wie ihre Konturlänge von circa  $16,4\mu\text{m}$  [91].

### 3.1 Modell der Polymerdynamik

In diesem Versuch wirken maßgeblich zwei äußere Kräfte auf die DNS. Auf einer Seite zieht das elektrische Feld in der Pore, auf der anderen das Microbead. Dazu kommt eine entropische Kraft. Sie ist die Antwort des Polymers auf dessen Streckung. Bevor die elektrokinetischen Kräfte in der Nanopore besprochen werden, gilt es, den Einfluss dieser entropischen Kraft zu untersuchen und damit auch insbesondere den Zusammenhang zwischen der gemessenen Kraft (in der optischen Pinzette) und der elektrokinetischen Kraft zu verstehen. Dies geschieht im Rahmen eines theoretischen Modells, welches zuerst in [58] beschrieben wurde.

Die kontrollierte Translokation wird durch drei Potentiale modelliert, jeweils eins für die genannten Kräfte [58]. Die Dynamik der DNS wird durch zwei Variablen beschrieben,  $r$  und  $s$ . Erstere beschreibt den Abstand zwischen Pore und Microbead, letztere die Konturlänge des Polymers dazwischen. Sie stellen sich abhängig von den auf die DNS wirkenden Kräften ein. Die Fokusposition der optischen Pinzette sei  $z$  und wird experimentell festgelegt. Einen Überblick über die Variablen in diesem Modell gibt Abbildung 3.2.

Die elektrokinetische Kraft auf die DNS folgt aus einem Wechselspiel der elektrischen Felder, der Salzionenkonzentrationen und Geschwindigkeitsfelder der Pufferlösung. Diese werden später im Detail untersucht. Für diesen ersten Blick auf die Translokation wird dieses Wechselspiel sehr vereinfacht. Die Kraft  $F_{\text{ekin}}$  ist proportional zu angelegter elektrischer Spannung  $V$  [93, 94]. Sie kann also durch ein einfaches Potential  $\phi_{\text{ekin}}$  beschrieben werden.

$$\phi_{\text{ekin}}(s) = \epsilon s V \quad (3.1)$$

$$\Rightarrow F_{\text{ekin}} = \epsilon V \quad (3.2)$$

Die Proportionalitätskonstante  $\epsilon$  ist die elektrische Linienladungsdichte der DNS.

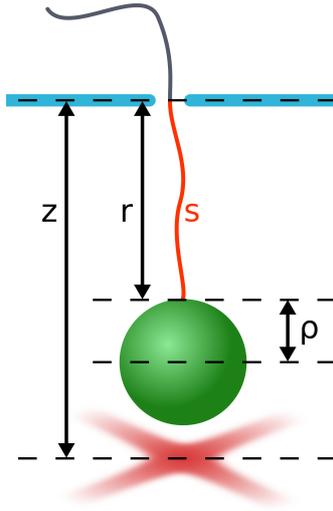


Abbildung 3.2: Ein Skizze des theoretischen Modells. Die dreidimensionale Polymerdynamik wird reduziert auf die Variablen  $r$ , dem Abstand zwischen Microbead und Pore, und  $s$ , der Konturlänge des Polymers zwischen den beiden. Der Radius der Kugel ist  $\rho = 1,64\mu\text{m}$ .  $z$  ist der Abstand des Fokus der optischen Pinzette zur Nanopore.

Die Rückstellkraft auf das Microbead,  $F_{\text{trap}}$ , resultiert aus einem linearen Federpotential  $\phi_{\text{trap}}$  [90, 91, 94].

$$\phi_{\text{trap}}(r) = \frac{\kappa}{2} (z - \rho - r)^2 \quad (3.3)$$

$$\Rightarrow F_{\text{trap}}(r) = -\kappa (z - \rho - r) \quad (3.4)$$

Der Radius des Kügelchens ist  $\rho \approx 1,64\mu\text{m}$  und  $\kappa \approx 0,05\text{pN/nm}$  ist die „Federhärte“ der optischen Pinzette, sie muss experimentell bestimmt werden [90, 91].  $z - \rho - r$  ist die Auslenkung des Beads aus dem Pinzettenfokus. Sie allein ist es, die gemessen wird.

Um die Wirkung der beiden Kräfte  $F_{\text{ekin}}$  und  $F_{\text{trap}}$  auf das Polymer zu beschreiben, muss etwas weiter ausgeholt werden. Ein lineares Polymer wie DNS, das sich nicht in komplexe Strukturen faltet wie zum Beispiel Proteine, kann bildlich als langer Faden vorgestellt werden. Die einzelnen Segmente sind deutlich kleiner als dessen Konturlänge.

Die Lambda-DNS beispielsweise hat eine Länge  $L \approx 16,4 \mu\text{m}$  bei einem Doppelhelix-Durchmesser von nur etwa  $2,2 \text{ nm}$  [2, 95] und einer Windungslänge der Helix von  $3,4 \text{ nm}$  [96]. In ihrer natürlichen Umgebung, einer wässrigen Salzlösung, unterliegen die einzelnen, kleinen Segmente dessen thermischen Fluktuationen. Der natürliche Zustand solcher langen Fadenmoleküle ist folglich ein Knäuel [97]. Je flexibler das Polymer ist, desto kleiner ist das Knäuel, bei gegebener Konturlänge.

Eine etablierte Beschreibung solcher Polymere ist das Worm-like-Chain-Modell [98], in dem das Polymer eine Kurve der Länge  $L$  im Raum wird. Wird diese Kurve durch  $s \in [0, L]$  parametrisiert, dann sei  $\mathbf{R}(s)$  der Ortsvektor dieser Kurve und  $\mathbf{u}(s) = \partial\mathbf{R}/\partial s$  die Tangente an diesem Ort. Biegung des Polymers bedeutet in diesem Modell folglich eine Änderung der Tangente,  $\partial\mathbf{u}/\partial s \neq 0$ . Die nötige Energie dafür ist [59, 98, 99]

$$E_B = \frac{1}{2} \int_0^L kT l_p \left( \frac{\partial\mathbf{u}}{\partial s} \right)^2 ds. \quad (3.5)$$

Die Konstante  $l_p$  heißt *Persistenzlänge* und beschreibt eine charakteristische Länge des Polymers. In Gleichung (3.5) sieht man, dass zur Biegung des Polymers um einen Radius  $R_B = |\partial\mathbf{u}/\partial s|^{-1}$  die dazu nötige Arbeit pro Länge  $(kT l_p)/(2R_B^2)$  ist. Weiterhin bestimmt es, wie stark zwei Tangenten auf der Kurve korrelieren. Betrachten wir zwei Tangenten an den Orten  $s$  und  $t$ , dann ist [98]

$$\langle \mathbf{u}(s) \cdot \mathbf{u}(t) \rangle = \exp\left(-\frac{|s-t|}{l_p}\right). \quad (3.6)$$

Die Korrelation fällt also exponentiell ab, abhängig von der Persistenzlänge. Es ist in der Polymerphysik gängig, ein Polymer über eine Länge von  $2l_p$  als starr zu betrachten<sup>3</sup> [97, 98, 100]. Konkrete Werte für doppelsträngige DNS-Helices und andere Polymere lassen

---

<sup>3</sup> Eine alternative Beschreibung der Flexibilität ist die Kuhn-Länge  $l_{\text{Kuhn}}$ , benannt nach Werner Kuhn [97]. Wird ein Polymer als Freely-Jointed-Chain modelliert — also aus starren, geraden Segmenten, welche in ihren Winkeln zueinander frei beweglich miteinander verbunden sind — dann ist die Segmentlänge, die dessen experimentellen statistischen Eigenschaften korrekt wiedergibt, gerade die Kuhn-Länge. Es gilt  $l_{\text{Kuhn}} = 2l_p$  [100].

sich unter anderem durch Zugversuche [101, 102] oder deren Gyrationradius (in etwa der Radius des Knäuels) [103] bestimmen. Eine DNS-Doppelhelix hat eine Persistenzlänge von 50 nm [101, 102].

Zurück zur kontrollierten Translokation kommend, verstehen wir das Einfädeln der DNS in die Pore als das Strecken des am Microbead anhaftenden Polymerknäuels durch das elektrische Feld und der optischen Pinzette. Die freie Energie dieses Knäuels ist [58, 59, 101, 104]

$$\phi_{\text{wlc}}(r, s) = \frac{kT}{4l_p} \left( \frac{s^2}{s-r} - s + 2 \frac{r^2}{s} - r \right). \quad (3.7)$$

Darin ist  $s$  die Konturlänge des Polymersegmentes, das gestreckt wird und  $r$  die Länge, auf welche das Segment gestreckt wird. In diesem Versuch ist das gestreckte Polymersegment  $s$  der Teil der DNS zwischen Nanopore und Microbead und  $r$  der Abstand zwischen diesen beiden. Da die DNS nicht überdehnt wird,<sup>4</sup> ist immer  $r < s$ .

Aus dem Potential (3.7) lassen sich die zwei Kräfte für  $r$  und  $s$  ableiten.

$$F_{\text{wlc},r}(r, s) = -\frac{\partial \phi_{\text{wlc}}(r, s)}{\partial r} = \frac{kT}{4l_p} \left( 1 - 4\frac{r}{s} - \left(1 - \frac{r}{s}\right)^{-2} \right) \quad (3.8)$$

$$F_{\text{wlc},s}(r, s) = -\frac{\partial \phi_{\text{wlc}}(r, s)}{\partial s} = \frac{kT}{4l_p} \left( 2 \left(\frac{r}{s}\right)^2 + \left(\frac{r/s}{1-r/s}\right)^2 \right) \quad (3.9)$$

Diese beiden Kräfte sind sicherlich nicht so intuitiv wie  $F_{\text{ekin}}$  und  $F_{\text{trap}}$ . Betrachten wir  $F_{\text{wlc},r}$  und halten darin die Konturlänge  $s$  fest, entspricht die Kraft derjenigen, die nötig ist, ein Polymer an beiden Enden auseinanderzuziehen (wie es in Zugexperimenten geschieht [101]). Für  $r \ll s$  ist  $F_{\text{wlc},r}$  eine lineare Federkraft mit Federkonstante  $kT/l_p$ . Wird die DNS deutlich gestreckt,  $r/s \approx 1$ , ist  $F_{\text{wlc},r} \approx -(1-r/s)^{-2}$  nichtlinear. In diesem Modell sind die beiden Kräfte (3.8) und (3.9) allerdings nicht unabhängig voneinander zu betrachten. Sie sind die Antwort der DNS auf die Streckung zwischen Nanopore

---

<sup>4</sup>Solange eine DNS nur wenig gestreckt wird, ist dessen Antwort rein entropischer Natur. Das Polymer möchte einen Zustand maximaler Entropie einnehmen: als Knäuel. Die Konturlänge bleibt konstant. Wird eine DNS jedoch gänzlich gestreckt, also  $r \approx s$ , kann sie auch überdehnt werden und das einfache Worm-like-Chain-Modell verliert seine Gültigkeit.

und Microbead. Erste Auffälligkeit ist, dass die Gleichungen (3.8) und (3.9) nur von dem Quotienten aus  $r$  und  $s$  abhängen, nicht von der Länge der DNS zwischen Pore und Microbead ( $s$ ) oder dem Abstand des Beads von der Pore alleine ( $r$ ). Dies ist die Ursache für die Unabhängigkeit der gemessenen Kraft vom Abstand der optischen Pinzette  $z$  in Abbildung 3.1.

Die Kräfte sind damit aufgestellt und es können die Bewegungsgleichungen für  $r$  und  $s$  formuliert werden. Sie beschreiben eine überdämpfte Langevin-Dynamik im Gesamtpotential  $\phi(r, s) = \phi_{\text{kin}}(s) + \phi_{\text{trap}}(r) + \phi_{\text{wlc}}(r, s)$  [58].

$$\eta_r \dot{r} = -\frac{\partial \phi(r, s)}{\partial r} + \sqrt{2kT\eta_r} \xi_r(t) \quad (3.10)$$

$$\eta_s \dot{s} = -\frac{\partial \phi(r, s)}{\partial s} + \sqrt{2kT\eta_s} \xi_s(t) \quad (3.11)$$

Der Reibungskoeffizient  $\eta_r$  lässt sich durch die Stokesreibung einer Kugel mit Radius  $1,64 \mu\text{m}$  abschätzen:  $\eta_r \approx 6\pi \cdot 1,0 \text{ mPa} \cdot \text{s} \cdot 1,64 \mu\text{m} = 31 \text{ pN} \mu\text{s}/\text{nm}$  [58], der Reibungskoeffizient der DNS ist in diesem Modell  $\eta_s \approx 1 \text{ pN} \mu\text{s}/\text{nm}$  [58, 61, 81, 105]. Die Funktionen  $\xi_r(t)$  und  $\xi_s(t)$  beschreiben weißes Rauschen mit den üblichen Eigenschaften  $\langle \xi_{r,s}(t) \rangle = 0$ ,  $\langle \xi_r(t_1) \cdot \xi_s(t_2) \rangle = \delta_{r,s} \delta(t_1 - t_2)$  und  $\int_{-\infty}^{\infty} \xi_{r,s}(t) dt = 1$ . Diese Gleichungen können numerisch gelöst werden. Für die folgenden Rechnungen wurde dazu das Euler-Maruyama-Verfahren benutzt [106].

### 3.1.1 Resultate

Überprüfen wir das Modell zunächst an experimentellen Messungen. Der Parameter  $\epsilon$  in Gleichung (3.1), die *effektive* Linienladung eines DNS-Stranges, ist ein Fitparameter. Die restlichen sind experimentell festgelegt:  $kT = 4 \text{ pN nm}$  (Raumtemperatur 293 K),  $V = 50 \text{ mV}$ ,  $\rho = 1,64 \mu\text{m}$  und  $\kappa = 0,05 \text{ pN}/\text{nm}$ , oder aus der Literatur bekannt:  $l_p \approx 50 \text{ nm}$  für eine DNS-Doppelhelix [101, 102].

Die Gesamtlänge  $L$  der DNS spielt in den Gleichungen (3.1) bis (3.11) keine Rolle. In

dem Modell wird sie quasi als unendlich lang angenommen. Wenn wir Gleichung (3.2) jedoch um eine Heaviside-Funktion  $\theta(L - s)$  erweitern, können wir auch das Ausfädeln der DNS simulieren und so ihre Länge bestimmen (also  $L$  anfitten).<sup>5</sup> Für die Simulation sei also  $F_{\text{ekin}}$  erweitert zu

$$F_{\text{ekin}} = \epsilon V \theta(L - s). \quad (3.12)$$

Sobald die DNS aus der Pore fädelt, wenn also  $s > L$  ist, wird  $F_{\text{ekin}} = 0$ .

Zwei exemplarische Rechnungen sind in Abbildung 3.3 dargestellt. Die Fitparame-

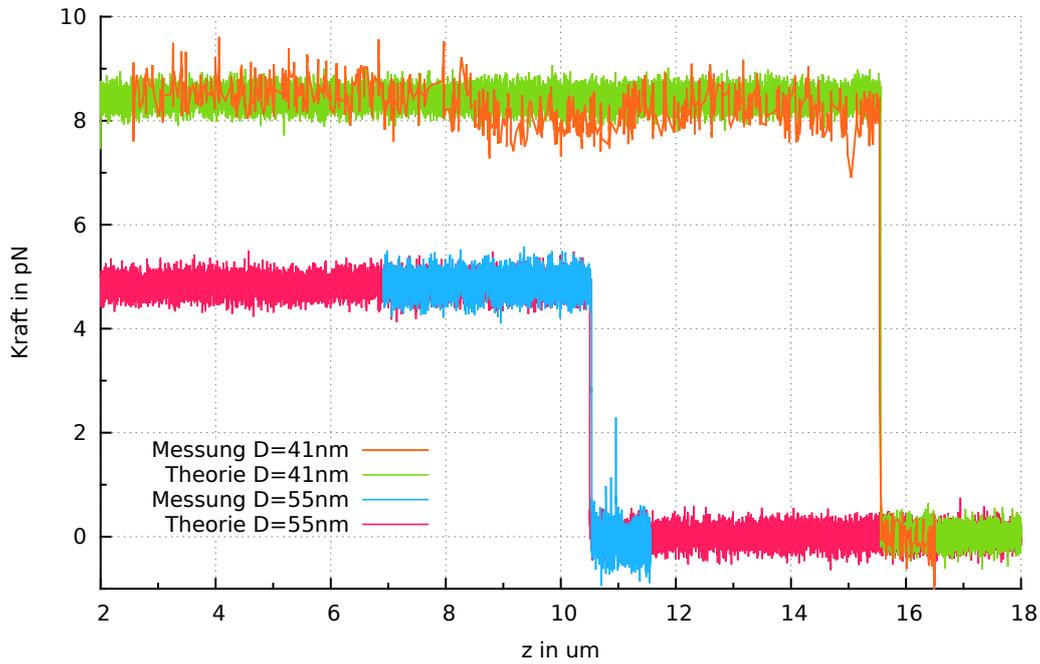


Abbildung 3.3: Ein Vergleich zwischen Modell und Messungen. Es sind Messungen an zwei Nanoporen mit jeweils 41 nm und 55 nm Durchmesser gezeigt. Die Länge der DNS und ihre effektive Linienladung wurden angefitet (siehe Text). Die Messungen unterscheiden sich deutlich in ihrer Sample-Rate, entsprechen aber ansonsten den dazugehörigen Simulationen von Gleichungen (3.10) und (3.11). Die orange Messung stammt aus [45], die blaue aus [107].

ter  $L$  und  $\epsilon = F_{\text{ekin}}/V$  können fast direkt abgelesen werden. Die beiden DNS fädeln

<sup>5</sup>Die Länge einer Lambda-DNS ist circa  $16,5 \mu\text{m}$  [45]. In den Experimenten kann sich die Länge jedoch verkürzen, wenn sich die DNS zum Beispiel um das Bead wickelt, oder anderswie anheftet.

jeweils bei  $z = 10,5 \mu\text{m}$  und  $z = 15,5 \mu\text{m}$  aus. Da, wie wir gleich sehen werden, die DNS nicht vollständig gestreckt ist, entspricht das nicht ganz den Längen, die angefitet wurden. Sie sind  $L_{41} = 11,2 \mu\text{m}$  und  $L_{55} = 16,3 \mu\text{m}$ . Die elektrische Linienladung  $\epsilon_{\text{DNS}}$  einer DNS-Doppelhelix ist  $-2e/bp \approx -5,88 e/\text{nm}$ . In der Nanopore wird die elektrische Kraft auf die DNS reduziert durch den elektroosmotischen Fluss, welcher der DNS „entgegenströmt“ und abhängig von Details der jeweiligen Nanopore ist. In Abbildung 3.3 fitten wir daher eine reduzierte, effektive Linienladung an:  $\epsilon_{55} = -0,53 e/\text{nm}$  und  $\epsilon_{41} = -0,95 e/\text{nm}$ . Die effektive Ladungsdichte wird also auf  $\epsilon_{55}/\epsilon_{\text{DNS}} = 9\%$  und  $\epsilon_{41}/\epsilon_{\text{DNS}} = 16\%$  der „nackten“ Linienladung reduziert. In Abschnitt 3.2.2 betrachten wir die Elektrokinetik umfangreicher, ohne effektive Parameter. Zunächst fragen wir aber, inwiefern die DNS zwischen Pore und Bead gestreckt wird und welchen Einfluss das auf die gemessene Kraft hat.

Stellen wir dazu die Kräfte im Modell zueinander in Relation. Im thermodynamischen Gleichgewicht sind  $\langle \dot{r} \rangle = \langle \dot{s} \rangle = 0$ . Für die mittleren Kräfte gilt dann

$$F_{\text{trap}}(r) + F_{\text{wlc},r}(r, s) = 0 \quad (3.13)$$

$$\text{und } F_{\text{ekin}} + F_{\text{wlc},s}(r, s) = 0. \quad (3.14)$$

Wie sehr ist das Polymer zwischen Nanopore und Bead bei gegebener elektrokinetischer Kraft gestreckt? Wir suchen also  $q = r/s < 1$ . Für  $r \approx s$  ist das Polymer fast gänzlich gestreckt, für  $r \ll s$  nur wenig im Vergleich zur Segmentlänge  $s$ . Wird dazu der Ausdruck für  $F_{\text{wlc},s}$  (Gl. (3.9)) in Gleichung (3.14) eingesetzt und (numerisch) nach  $q$  gelöst, bekommen wir  $q$  als Funktion von  $F_{\text{ekin}}$  und  $kT/l_p$ . Abbildung 3.4 zeigt die Streckung für drei verschiedene Persistenzlängen  $l_p$ : 50 nm, 4 nm und 0,4 nm. Sie entsprechen jeweils denen von doppelsträngiger DNS [102] und einzelsträngiger DNS (ssDNS) oder RNS, deren Persistenzlänge zwischen 2 Å und 40 Å liegt, abhängig von der Salzkonzentration und

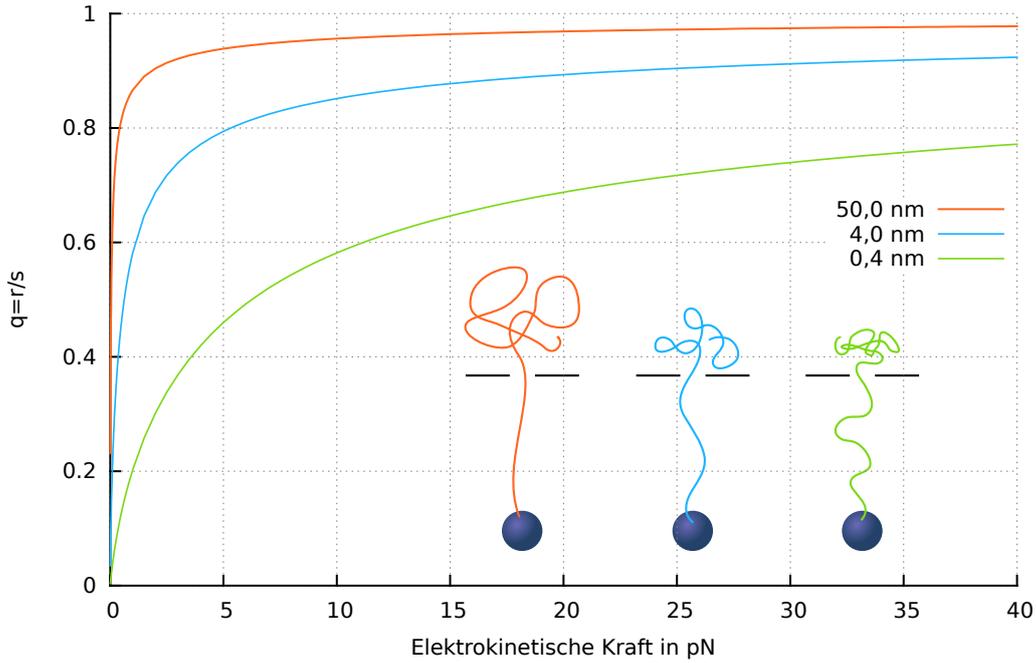


Abbildung 3.4: Die Streckung eines Polymers bei gegebener Kraft in der Nanopore für drei verschiedene Persistenzlängen  $l_p$ : 50 nm, 4 nm und 0,4 nm. Gleichung (3.14) wurde numerisch nach  $q$  aufgelöst für gegebene  $F_{\text{ekin}}$ . Steife Polymere wie eine DNS-Doppelhelix ( $l_p \approx 50$  nm) sind nahezu vollständig gestreckt, flexiblere wie einzelsträngige Polynukleotide ( $l_p \approx 0,4$  bis 4 nm) weniger. *Inset*: Skizzen zur Verdeutlichung der Flexibilität.

den Nucleobasen im Polymer<sup>6</sup> [110–113]. Bis dato wurden leider keine Kraftmessungen in Nanoporen mit einzelsträngigen Polynukleotiden durchgeführt. Zug- und Verdrill-Experimente an RNS und ssDNS wurden jedoch schon veröffentlicht und bestätigen die Gültigkeit des Worm-like-Chain-Modells auch für diese sehr flexiblen Polymere [114].

Abbildung 3.4 zeigt, dass doppelsträngige DNS bei Kräften  $F_{\text{ekin}} > 5$  pN zwischen Pore und Bead erheblich gestreckt ist,  $r/s \approx 95\%$ . Je größer die entropische Flexibilität  $kT/l_p$ , desto stärker widersetzt sich das Polymer der Streckung. Was folgt daraus für den Zusammenhang zwischen der (in der optischen Pinzette) gemessenen Kraft und der

<sup>6</sup>Der Vollständigkeit halber soll erwähnt sein, dass Polyethylenglycol (PEG) ebenfalls eine Persistenzlänge von etwa 4 Å hat [108] und bereits in den frühen 1990ern als Polymer in Nanoporen-Experimenten verwendet wurde [27]. Dabei ist es aber nicht single-file durch die Pore gefädelt worden, sondern in Knäuelform, zum Beispiel um Nanoporendurchmesser zu bestimmen [109].

elektrokinetischen Kraft in der Pore?

Im Gleichgewicht werden die Gleichungen (3.13) und (3.14) miteinander addiert. Dann gilt mit  $q = r/s$  und den Kräften (3.8) und (3.9)

$$\begin{aligned}
F_{\text{trap}}(r) &= -F_{\text{ekin}} - (F_{\text{wlc},r}(r, s) + F_{\text{wlc},s}(r, s)) \\
&= -F_{\text{ekin}} - \frac{kT}{4l_p} \left( \left\{ 1 - 4q - \frac{1}{(1-q)^2} \right\} + \left\{ 2q^2 + \frac{q^2}{(1-q)^2} \right\} \right) \\
&= -F_{\text{ekin}} - \frac{kT}{4l_p} \left( 2 - 4q + 2q^2 - 1 + \frac{q^2 - 1}{(1-q)^2} \right) \\
&= \underbrace{-F_{\text{ekin}}}_{>0} + \underbrace{\frac{kT}{2l_p} \left( \frac{1}{1-q} - (1-q)^2 \right)}_{>0},
\end{aligned} \tag{3.15}$$

worin benutzt wurde, dass

$$\frac{q^2 - 1}{(1-q)^2} = \frac{(q+1)(q-1)}{(1-q)^2} = -\frac{q+1}{1-q} = -(q+1) \sum_{n=0}^{\infty} q^n = 1 - 2 \frac{1}{1-q}.$$

Der rechte Summand in Gleichung (3.15) ist die Kraft in der optischen Pinzette, welche aus der Flexibilität des Polymers resultiert. Insbesondere erhöht er die Kraft, welche bei gegebenen  $F_{\text{ekin}}$  in der optischen Pinzette gemessen wird. Für sehr steife Polymere ist  $kT/l_p \ll 1$  und so  $F_{\text{trap}} \approx -\epsilon V$ , ansonsten  $F_{\text{trap}} > -\epsilon V$ . Da sich  $q$  jedoch abhängig von der elektrokinetischen Kraft einstellt, ist Gleichung (3.15) noch kein geschlossener Ausdruck. Wir suchen keinen analytischen Ausdruck für  $q$  als Funktion von  $F_{\text{ekin}}$  und begnügen uns mit einer numerischen Lösung eines Zusammenhangs von  $F_{\text{trap}}$  und  $F_{\text{ekin}}$ . Dies ist die gemessene Kraft (in der optischen Pinzette) als Funktion der Kraft auf die DNS in der Pore. Zur Anschauung werden wir danach Näherungen suchen.

Um das zu erreichen, betrachten wir nochmal Gleichungen (3.13) und (3.14). Im Gleichgewicht stellt sich der Quotient  $r/s$  abhängig von  $F_{\text{ekin}}$  und  $kT/l_p$  ein. Wir bestimmen also  $F_{\text{wlc},r}(q) = -F_{\text{trap}}$  und  $F_{\text{wlc},s}(q) = -F_{\text{ekin}}$  für alle  $0 \leq q < 1$ . Die durch  $q$

parametrisierte Kurve

$$\mathcal{C} = \begin{pmatrix} F_{\text{wlc},s}(q) \\ -F_{\text{wlc},r}(q) \end{pmatrix} \quad \text{für } 0 \leq q < 1 \quad (3.16)$$

ist dann der gesuchte Zusammenhang  $F_{\text{trap}}(F_{\text{ekin}})$  und wird in Abbildung 3.5 gezeigt. Bemerkenswert ist zunächst der große Einfluss der Flexibilität auf die Kraft in der opti-

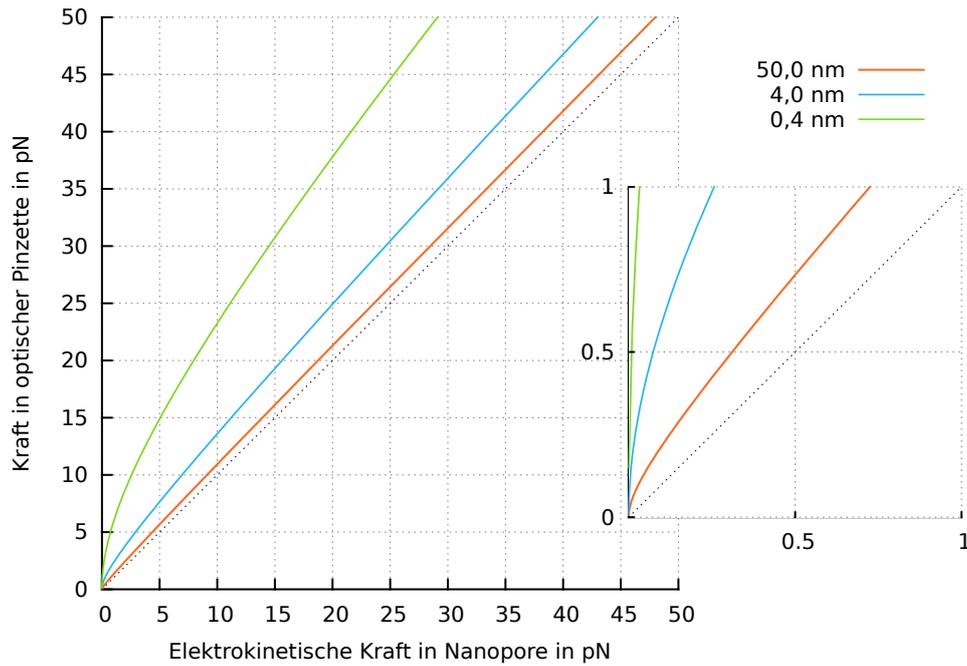


Abbildung 3.5: Die in der optischen Pinzette gemessene Kraft als Funktion der elektrokinetischen Kraft in der Nanopore für verschiedene Persistenzlängen, wie in Abbildung 3.4. Für doppelsträngige DNS (rote Kurve) sind die Abweichungen von der Diagonalen nur gering. Flexiblere Polymere, wie einsträngige DNS und RNS (blaue und grüne Kurve), sind deutlich nicht-linear. *Inset*: Eine Vergrößerung um den Ursprung. Die Kurven gehen mit Steigung  $F'_{\text{trap}}(0) = \infty$  durch Null (Gleichung (3.20)).

schen Pinzette. Doppelsträngige DNS weicht nur wenig von der Diagonalen ab (welche  $l_p = \infty$  entspricht), einzelsträngige Polynukleotide jedoch deutlich.

Betrachten wir die Grenzfälle. Für  $q \ll 1$  bilden wir die Taylor-Reihe  $T\{\dots\}$  der

Funktionen  $F_{\text{wlc},r}$  und  $F_{\text{wlc},s}$  (Gleichungen (3.8) und (3.9)) am Punkt  $q = 0$  bis zur zweiten Ordnung. Unter Berücksichtigung der Relationen (3.13) und (3.14) folgt

$$F_{\text{ekin}} \approx -T \{F_{\text{wlc},s}(q)\} = -\frac{kT}{4l_p} \left( 0 + 0 \cdot q + \frac{5}{2} \cdot q^2 + \mathcal{O}(q^3) \right) = -\frac{5kT}{8l_p} q^2 \quad (3.17)$$

$$F_{\text{trap}} \approx -T \{F_{\text{wlc},r}(q)\} = -\frac{kT}{4l_p} \left( 0 + (-4) \cdot q + 0 \cdot q^2 + \mathcal{O}(q^3) \right) = \frac{kT}{l_p} q \quad (3.18)$$

Aus (3.17) und (3.18) folgt

$$q = \sqrt{\frac{8l_p}{5kT} (-F_{\text{ekin}})} \quad \text{und folglich} \quad (3.19)$$

$$F_{\text{trap}} = \sqrt{\frac{8kT}{5l_p} (-F_{\text{ekin}})} \quad \text{für } q \ll 1. \quad (3.20)$$

Im Inset der Abbildung 3.5 werden die Kurven für sehr kleine  $q$  vergrößert. Abhängig von der Persistenzlänge, zeigt Gleichung (3.19), dass diese Näherung nur für Kräfte  $F_{\text{ekin}} \ll kT/l_p$  gelten kann, was bei doppelsträngiger DNS auf weniger als 0,08 pN bei Raumtemperatur hinausläuft. Experimentell sind diese Bereiche des Modells leider nicht greifbar, bisher veröffentlichte Kraftmessungen sind immer größer als 2 bis 5 pN [45, 58, 74, 81, 94]. Aus dem Grund wenden wir uns direkt dem Grenzfall großer Kräfte zu.

Betrachten wir den Grenzfall  $F_{\text{ekin}} \gg kT/l_p$  und beginnen mit der Suche nach einem konkreten Ausdruck für  $q(F_{\text{ekin}})$ . Abbildung 3.4 zeigte nur numerische Lösungen davon. Gleichung (3.9) in (3.14) eingesetzt gibt

$$0 = F_{\text{ekin}} + F_{\text{wlc},s}(q) = \frac{-kT}{4l_p} \left( 2q^2 + \frac{q^2}{(1-q)^2} \right). \quad (3.21)$$

Für  $q \rightarrow 1$  dominiert der rechte Summand in der Klammer und  $2q^2$  kann vernachlässigt werden. Diese Näherung ist sehr gut für steifere Polymere  $kT/l_p > 1$ , wo tatsächlich  $q \approx 1$ . Abbildung 3.4 zeigt aber, dass flexible Polymere auch bei größeren Kräften  $F_{\text{ekin}} > 40$  pN nicht gänzlich gestreckt sind,  $q < 1$  ist und damit  $q^2 \lesssim q^2/(1-q)^2$ .

Eine etwas bessere Näherung von (3.21) erhalten wir, indem wir den linken Summanden mitteln. Da  $0 < q < 1$ , nähern wir  $2q^2 \approx 1$ .

$$-F_{\text{ekin}} \approx \frac{kT}{4l_p} \left( 1 + \frac{q^2}{(1-q)^2} \right),$$

Diese Näherung lässt sich einfach nach  $q$  umstellen,

$$\Rightarrow q = \frac{\frac{4l_p}{kT} (-F_{\text{ekin}}) - 1 - \sqrt{\frac{4l_p}{kT} (-F_{\text{ekin}}) - 1}}{\frac{4l_p}{kT} (-F_{\text{ekin}}) - 2}, \quad (3.22)$$

und die so gefundene Funktion  $q(F_{\text{ekin}})$  dann in Gleichung (3.15) einsetzen.

$$\begin{aligned} F_{\text{trap}} &= -F_{\text{ekin}} + \frac{kT}{2l_p} \left( \frac{1}{1-q} - (1-q)^2 \right) \\ &= -F_{\text{ekin}} + \frac{kT}{2l_p} \left( \frac{\frac{4l_p}{kT} (-F_{\text{ekin}}) - 2}{\sqrt{\frac{4l_p}{kT} (-F_{\text{ekin}}) - 1} - 1} - \left\{ \sqrt{\frac{4l_p}{kT} (-F_{\text{ekin}}) - 1} + 1 \right\}^{-2} \right) \\ &= -F_{\text{ekin}} + \frac{kT}{2l_p} \left( \sqrt{\frac{4l_p}{kT} (-F_{\text{ekin}}) - 1} + 1 - \left\{ \sqrt{\frac{4l_p}{kT} (-F_{\text{ekin}}) - 1} + 1 \right\}^{-2} \right) \\ &\approx -\epsilon V + \frac{kT}{2l_p} \left( \sqrt{\frac{4l_p}{kT} (-\epsilon V) - 1} + 1 \right) \end{aligned} \quad (3.23)$$

Im letzten Schritt wird genutzt, dass für große  $q$  gilt  $\{\dots\}^{-2} \rightarrow 0$ , da  $l_p F_{\text{ekin}}/kT \gg 1$ . Außerdem wurde  $F_{\text{ekin}} = -\epsilon V$  eingesetzt. Vergleichen wir diese Näherung mit den numerischen Lösungen, die in den Abbildungen 3.4 und 3.5 gezeigt wurden, sehen wir, dass  $q$  aus Gleichung (3.22) die Streckung sehr flexibler Polymere leicht überschätzt. Der sehr einfache Ausdruck in Gleichung (3.23) für die Relation zwischen gemessener Kraft  $F_{\text{trap}}$  und elektrokinetischer Kraft in der Nanopore  $F_{\text{ekin}}$  ist für Kräfte ab 10 pN eine gute Näherung.

Um die Polymerdynamik zwischen optischer Pinzette und Nanopore abzuschließen,

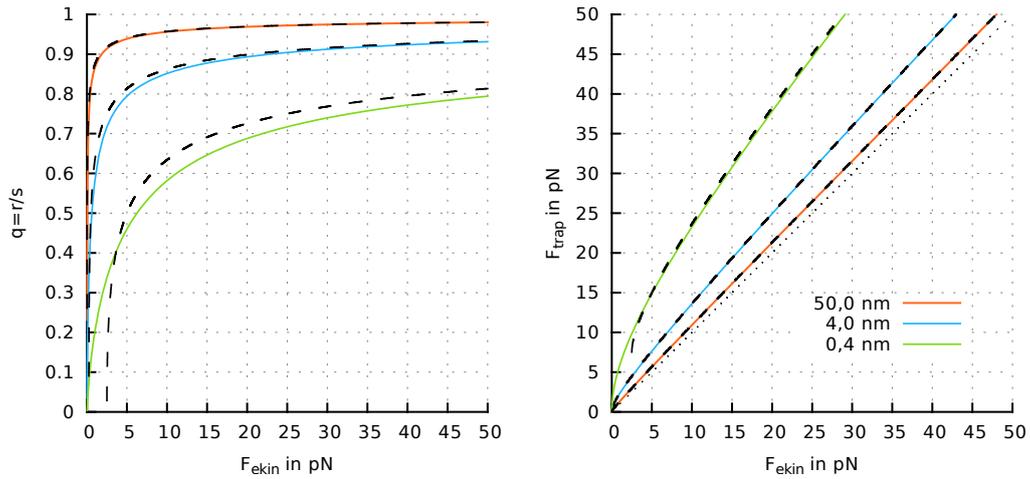


Abbildung 3.6: Die numerischen Lösungen der Streckung des Polymers und der gemessenen Kraft als Funktion der angelegten Kraft in der Nanopore mit den Näherungen (3.22) und (3.23) (gestrichelte Linien). Die Farben entsprechen, wie oben, unterschiedlichen Persistenzlängen, repräsentativ für eine Doppelhelix (rot) und einzelsträngige Polynukleotide (blau und grün).

wird zuletzt das Polymerknäuel auf der trans-Seite der Pore betrachtet (die Seite, zu der die DNS vom elektrischen Feld gezogen wird). Wie die exemplarischen Messungen in Abbildung 3.3 deutlich zeigen, ist die Kraft in der optischen Pinzette unabhängig von  $z$ , also auch von den Segmentlängen  $s$  zwischen Pore und Bead oder  $L - s$  jenseits der Pore. Das Modell oben hat von vornherein nur die cis-Seite des Experimentes betrachtet (die Seite mit Microbead und DNS). Dass das Segment  $L - s$  Einfluss auf die Kraft hat, wurde ausgeschlossen.

Nehmen wir an, dass das Polymer durch die Pore gefädelt wurde und jenseits des Kraftfeldes der Pore ein Knäuel bildet, das mit einem Ende in der Pore fixiert ist. Es habe eine Segmentlänge von  $s' \approx L - s \gg l_p$  und einen daraus resultierenden Durchmesser von  $D \approx \sqrt{s' l_p} \ll s'$  [100]. Das Fixieren in der Pore entspricht dem Auseinanderziehen des Polymers um höchstens seinen Durchmesser, erfordert also in etwa die Kraft, mit der das Polymer sein fixiertes Ende in das Knäuel zurückzieht. Die Kraft  $F_{\text{fix}}(s')$  mit der

ein ideales Polymer antwortet, lässt sich aus Gleichung (3.8) ablesen.

$$F_{\text{fix}}(s' = L - s) = F_{\text{wlc},r}(D, s') \approx -\frac{kT}{l_p} \frac{D}{s'} = -\frac{kT}{\sqrt{l_p} s'} \ll kT$$

Der Fit von  $L$  an die Daten in Abbildung 3.3 zeigte, dass DNS aus der Pore ausfädelt bevor  $s' < 1 \mu\text{m}$ . Dadurch ist  $F_{\text{fix}} \ll 0,1 \text{ pN}$ . Die Kraft ist also nicht echt  $z$ -unabhängig, sie zu vernachlässigen aber sehr plausibel.

### 3.1.2 Diskussion

In diesem Abschnitt 3.1 haben wir im Rahmen eines einfachen Modells [58] die kontrollierte Translokation von Polynukleotiden durch Siliziumnitrid-Nanoporen betrachtet. Trotz der wenigen Parameter, die in das Modell eingehen oder angefitet werden müssen, kann es veröffentlichte Messungen an Lambda-DNS sehr gut beschreiben. Im Fokus dieser Ausarbeitung stand dabei der Einfluss der entropischen Flexibilität des Polymers auf die Kraft in der optischen Pinzette. Wir haben festgestellt, dass sie dafür sehr empfindlich ist, insbesondere bei kleinen Persistenzlängen. Kleine Persistenzlängen, wie sie bei den oben erwähnten RNS und PEG gefunden werden, im Rahmen der kontrollierten Translokation experimentell zu untersuchen, wären ein spannender Test für das erstaunliche Verhalten der Kraft bei geringen Auslenkungen des Polymers. Im nächsten Abschnitt widmen wir uns allein der elektrokinetischen Kraft.

## 3.2 Elektrokinetik in Silizium-Nitrid-Nanoporen

Die Einführung des theoretischen Modells geschieht im Rahmen eines Experimentes, das in [45] veröffentlicht wurde. Die elektrokinetische Kraft auf DNS wird in Nanoporen mit unterschiedlichen Durchmessern und Längen gemessen. Weiter werden einzelne Membranen mit einer Lipid-Doppelschicht überzogen. Diese verringert nicht nur die Größe der Pore, sondern ändert ebenso dessen Oberflächeneigenschaften.

### 3.2.1 Messungen

Eine optische Pinzette kontrolliert ein Microbead an den mehrere DNS-Stränge befestigt sind. Über eine Siliziumnitrid-Membran wird ein elektrisches Potential angelegt und das Microbead in dessen Nähe gebracht. Durch das elektrische Potential wird eine DNS am Microbead gefangen und in die Pore gefädelt. Es stellt sich ein stationärer Zustand ein. Die elektrokinetische Kraft in der Pore wird durch die Zugkraft der optischen Pinzette ausgeglichen und so messbar gemacht. Dies wird für unterschiedlich große Nanoporen wiederholt. Dabei werden alle andere experimentellen Parameter, Salzionenkonzentration, pH-Wert, Temperatur und elektrisches Potential, gleich gehalten. Die Folge ist die elektrokinetische Kraft allein als Funktion der Porengröße.

In einem zweiten Schritt wird eine Auswahl der zuvor vermessenen Poren mit einer Lipid-Doppelschicht überzogen. Die Lipide werden vor der Messung als unilamelares Liposom (einem kleinen Kügelchen) in die Testkammer eingebracht. Bei Kontakt mit der Membran platzen sie auf und legen sich über die Membran. Sie dringen durch die Nanopore und beschichten auch dessen Wände und die andere Membranseite. Wie auch die

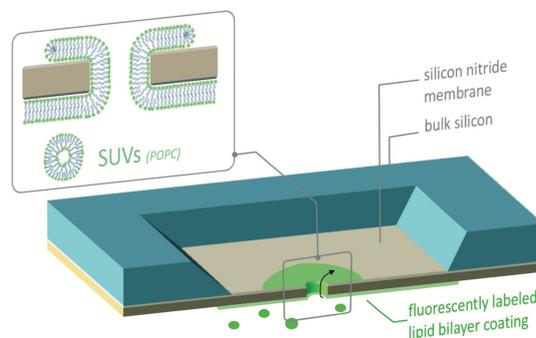


Abbildung 3.7: Die Lipide werden als unilamelares Liposom (SUV, small unilamellar vesicle) in die Testkammer gebracht. Dort platzen sie auf und beschichten die Pore und Membran beidseitig. Die Skizze wurde mit freundlicher Genehmigung der Dissertation von Dr. Lukas Galla entnommen [115].

aus Lipid-Doppelschichten bestehenden biologischen Zell-Membranen, richten sich die hydrophilen Kopfgruppen der Lipide auf die beiden Außenseiten, während die hydro-

phoben Kohlenwasserstoff-Reste das Innere der Membran bilden. Die genauen Details der Beschichtung und ihrer Herstellung können [45] entnommen werden. Wir beschränken uns hier auf die für das Modell relevanten Eigenschaften. Die Doppelschicht hat eine Dicke von etwa 3,7 nm und ist elektrisch neutral [40]. Zwischen ihr und der Membran liegt eine 1 bis 2 nm dicke Wasserschicht [40, 116, 117]. Der Porendurchmesser wird folglich um circa 10 nm reduziert. Die Lipide sind elektrisch neutral. Sie üben bei einem über die Pore angelegten Potential (im experimentellen Rahmen) daher keine gerichtete Bewegung aus [45].

Die anderen experimentellen Parameter sind identisch zu den Messungen an den unbeschichteten Poren. Bei jeder Kraftmessung wird ein externes elektrisches Potential  $V_{\text{ext}} = 50 \text{ mV}$  über die Pore angelegt. Die wässrige Lösung beinhaltete eine Kaliumchlorid-Konzentration von  $c_0 = 20 \text{ mol/m}^3$  und hatte pH 8,0. Die Temperatur der Testkammer lag bei  $T = 293 \text{ K}$ .

Abbildung 3.8 zeigt die Ergebnisse der Messungen. Zwei exemplarische Kraftmessungen einer Pore mit und ohne Beschichtung zeigen, dass die Lipide zu einem deutlichen Anstieg der Kraft führen. Die Reduktion des Porendurchmessers durch die Beschichtung wurde in den Datenpunkten schon berücksichtigt. Sie kann daher nicht allein ursächlich für die erhöhte Kraft sein. Ebenso führt ein reduzierter Porenradius ab einem gewissen Punkt zu einer höheren Kraft.

### 3.2.2 Kontinuum-Modell der Elektrokinetik

Die Dynamik der DNS in einer Nanopore wird von einem komplexen Zusammenspiel elektrodynamischer und hydrodynamischer Effekte bestimmt [60, 61, 81, 83, 118]. Durch das elektrische Feld in der Pore wird nicht nur eine elektrophoretische Kraft auf die DNS ausgeübt, sondern auch ein elektroosmotischer Fluss induziert [79, 80]. Weitere Effekte sind die Kräfte, welche aus der Selbstenergie des Makromoleküls in der Pore folgen [119, 120], Polarisierung der Raumladungsdichte [121], osmotischer Druck [67, 122] und an-

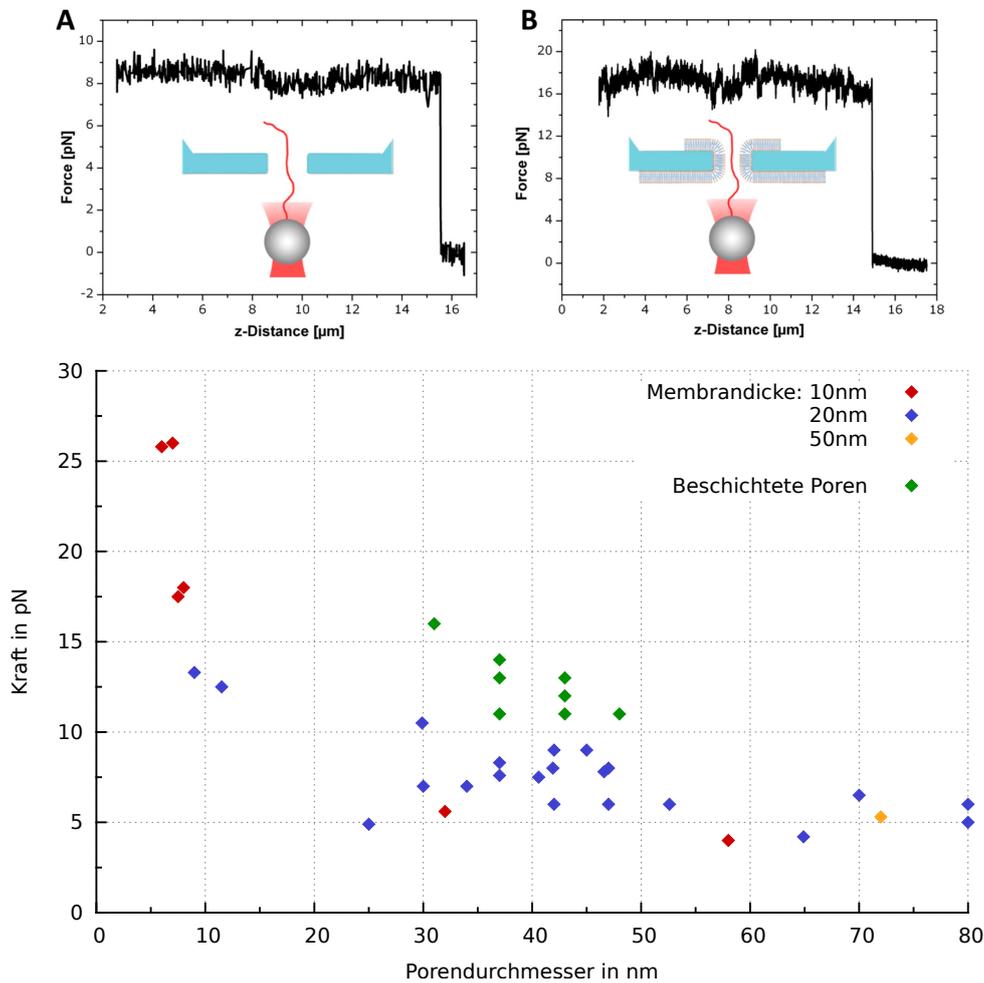


Abbildung 3.8: *Oben*: Zwei exemplarische Messungen entnommen aus [45], links in einer unbeschichteten, 41 nm messenden Pore, rechts die gleiche Pore mit Lipidbeschichtung. Das Microbead wird langsam von der Pore wegbewegt. Bei circa 15  $\mu\text{m}$  fädelt die DNS aus der Pore aus, die Kraft sinkt auf 0. Die Kraft verdoppelt sich durch die Beschichtung ungefähr. *Unten*: Die gesamte Messreihe der gemessenen Kraft als Funktion des Porendurchmessers. Die grünen Datenpunkte sind die beschichteten Poren, die anderen sind nach Membrandicke farbkodiert. Am auffälligsten ist der starke Anstieg für Poren kleiner als 20 nm und der Einfluss der Beschichtung.

dere nichtlineare oder ladungsinduzierte Phänomene [123]. Ein unendlich langer Kanal, wie in Kapitel 2 beschrieben, kann viele dieser Phänomene nicht wiedergeben. Ebenso wenig berücksichtigt er den Einfluss der Porenform oder ihre Länge, die so nur durch wenig aussagekräftige, effektive Parameter einfließen [73]. Das im Folgenden beschriebene theoretische Modell berücksichtigt alle diese Effekte.

Das hier benutzte Kontinuum-Modell basiert auf den Poisson-, Nernst-Planck- und Stokes-Gleichungen [67, 70, 71]. Sie beschreiben jeweils das elektrische Feld, die Salzionendynamik und das Geschwindigkeitsfeld der Pufferlösung. Geometrische Parameter, wie Porenform und Polymergröße, fließen über die Wahl der Domänen der Gleichungen<sup>7</sup> ein, auf deren Rändern Randbedingungen formuliert werden.

Abbildung 3.9 zeigt eine Skizze des Modells. Die DNS wird reduziert zu einem starren Zylinder in der Porenachse. Die Membran trennt zwei Reservoirs eines ebenso zylindrischen Bades. Um Randeffekte zu vermeiden, muss dieses Bad ausreichend groß gewählt sein, damit die Felder außerhalb der Pore ungestört bleiben. Die Reservoir-Höhe  $H_{\text{res}}$

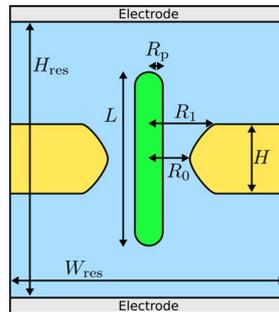


Abbildung 3.9: Eine (nicht maßstabstreue) Skizze des Modells. Das System ist rotationssymmetrisch entlang der Porenachse. Die Geometrie ist aufgeteilt in drei Bereiche: Die Pufferlösung (blau), die Membran (gelb) und die DNS (grün). Die eingezeichneten Parameter beschreiben die Längen und Radien im Modell (siehe Text).

und dessen Durchmesser  $W_{\text{res}}$  sind immer größer als  $1\ \mu\text{m}$  gewählt worden. Der DNS-

<sup>7</sup>Im Rahmen der numerischen Methode wird oft von einer *Geometrie* gesprochen, wenn der Definitionsbereich der Funktionen und die Positionen der Randbedingungen gemeint sind. In dieser Arbeit halten wir es ebenso.

Zylinder-Radius  $R_p$  wird festgesetzt auf 1,1 nm [95, 124]. Die Nanopore selbst ist nicht zylindrisch. Die innere Porenwand wird in unserem Modell durch eine Hyperbel  $r(z)$  beschrieben, wobei der Radius  $r = \sqrt{x^2 + y^2}$  und  $z \in [-H/2, H/2]$  [124]. Die Hyperbel-Gleichung lautet dann

$$r(z) = \sqrt{\frac{4 \cdot z^2 (R_1^2 - R_0^2)}{H^2} + R_0^2}. \quad (3.24)$$

Die Kanten am Poreneingang wurden im Modell mit einem kleinen Radius abgerundet, um die Endlichkeit des elektrischen Feldes an diesem Ort zu gewährleisten. Die Parameter  $R_0$  und  $R_1$  geben daher jeweils den inneren und äußeren Radius an. Im Vergleich mit Messungen setzen wir  $R_0$  auf den entsprechenden experimentellen Porenradius. Wie exzentrisch die Pore ist, hängt von der Herstellung ab. In diesem Kapitel haben wir  $R_1 = R_0 + H/10$  festgesetzt [20, 124, 125].

Die DNS innerhalb der Pore als starren, geraden Zylinder zu beschreiben, ist nicht nur der Vereinfachung geschuldet. Die exemplarischen Messungen in Abbildung 3.8 zeigen, dass die DNS bei circa 15  $\mu\text{m}$  aus der Pore fädeln. Die nominale Konturlänge der Lambda-DNS ist 16,4  $\mu\text{m}$  [45]. Zwischen Microbead und Nanopore kann sie also als nahezu vollständig gestreckt angenommen werden. Auch auf der gegenüberliegenden Seite der Pore ist die Annahme einer Streckung über wenigstens einer Kuhn-Länge plausibel. Wie oben besprochen, ist die Kuhn-Länge eines Polymers dabei ein Maßstab für dessen Flexibilität. Vereinfacht kann gesagt werden, dass ein Polymer über dessen Kuhn-Länge als starr betrachtet werden kann [97, 100]. In Abschnitt 3.1.1 wurde genauer auf die Polymer-Flexibilität eingegangen, dort wurde insbesondere der Einfluss der beiden DNS-Segmente außerhalb der Nanopore abgeschätzt. An dieser Stelle stellen wir nochmal fest: Eine DNS-Doppelhelix hat eine Kuhn-Länge  $l_{\text{Kuhn}} = 100 \text{ nm}$  [59, 101]. Für die Länge  $L$  des Zylinders bedeutet es, dass wir ihn abhängig von der Membrandicke  $H$  festsetzen als  $L = H + 2l_{\text{Kuhn}} = H + 200 \text{ nm}$ . Weiterhin besteht die Möglichkeit, dass die DNS-Achse von der Porenachse abweicht. Eine solche Abweichung hat einen vernachlässigbaren Einfluss auf die gemessene Kraft [45, 118].

Die Differentialgleichungen des Kontinuum-Modells sind miteinander gekoppelt, können also nicht unabhängig voneinander gelöst werden. Beginnen wir mit der Poisson-Gleichung für das elektrische Potential  $V(\mathbf{x})$ .

$$-\nabla \cdot \{\epsilon(\mathbf{x}) \nabla V(\mathbf{x})\} = \rho(\mathbf{x}) \quad (3.25)$$

Die Permittivität  $\epsilon(\mathbf{x})$  ist insofern ortsabhängig, als dass sie unterschiedliche Werte in der Pufferlösung, der Membran und der DNS annimmt. In den jeweiligen Bereichen sei sie aber homogen und unabhängig von anderen Parametern. Wir setzen sie für den Rest der Arbeit fest auf  $80 \cdot \epsilon_0$  in der Pufferlösung,  $4 \cdot \epsilon_0$  in der Membran [126] und  $2 \cdot \epsilon_0$  in der DNS [50], worin  $\epsilon_0$  die Vakuumpermittivität ist. Die elektrische Raumladungsdichte  $\rho(\mathbf{x})$  wird durch die Konzentrationen der Salzionen bestimmt. Diese sind  $c_+(\mathbf{x})$  für die positiv geladenen Kalium-Ionen und  $c_-(\mathbf{x})$  für die negativ geladenen Chlorid-Ionen. Sie sind jeweils einfach geladen, haben also die Ladungszahlen  $z_K = 1$  und  $z_{Cl} = -1$ . Das bedeutet  $\rho(\mathbf{x}) = F_c \cdot \{c_+(\mathbf{x}) - c_-(\mathbf{x})\}$ , worin  $F_c = N_A \cdot e$  die Faraday-Konstante (Avogadrozahl mal Elementarladung) ist. Fernab elektrischer Ladungen ist  $c_+(\mathbf{x}) = c_-(\mathbf{x})$ , daher  $\rho(\mathbf{x}) = 0$ , das Fluid also elektrisch neutral.

Die Siliziumnitrid-Membran ist ein Nichtleiter, in ihr ist  $\rho = 0$ . In wässriger Lösung trägt sie dabei eine elektrische Oberflächenladungsdichte  $\sigma$ . Auf den Ursprung dieser Ladung und weitere Details wird in Kapitel 4 eingegangen, hier sei sie eine konstante, homogene Ladungsdichte. Auf der Membran gilt daher die Randbedingung [127]

$$\{\epsilon_s \mathbf{E}_s(\mathbf{x}) - \epsilon_m \mathbf{E}_m(\mathbf{x})\} \cdot \mathbf{n}(\mathbf{x}) = \sigma \quad (3.26)$$

mit  $\epsilon_{s,m}$  und  $\mathbf{E}_{s,m}$  den Permittivitäten und elektrischen Feldern jeweils auf der Seite der Pufferlösung (s(olution)-Index) oder der Membran (m-Index) und der Oberflächennormalen  $\mathbf{n}$ .

Ebenso behandeln wir die DNS, in ihr sei  $\rho = 0$ . Sie wird als langer, unbeweglicher

Stab im Zentrum der Pore, entlang der Porenachse modelliert. Die elektrischen Ladungen der Phosphatgruppen auf dem DNS-Rückgrat werden durch eine homogene Oberflächenladungsdichte  $\sigma_{\text{DNS}}$  dieses Zylinders berücksichtigt, für die die gleiche Randbedingung (3.26) gilt. In unserem Modell ist

$$\sigma_{\text{DNS}} = \frac{-2 \cdot e}{0,34 \text{ nm} \cdot 2 \cdot \pi \cdot 1,1 \text{ nm}} \approx 136 \text{ mC/m}^2, \quad (3.27)$$

entsprechend zwei Elektronen pro Basenpaar<sup>8</sup>.

An den oberen und unteren Systemrändern wird das externe Potential festgelegt, das im Experiment durch zwei Elektroden über die Pore angelegt wird. Am oberen Rand sei  $V(\mathbf{x}) = V_{\text{ext}}$ , am unteren  $V(\mathbf{x}) = 0$ . Diese Wahl ist willkürlich, eine symmetrische Verteilung hätte den gleichen Effekt. Die Mantelfläche des Bades trägt keine Ladung. Sie ist weit von der Pore und DNS entfernt. Hier setzen wir  $\mathbf{E}(\mathbf{x}) \cdot \mathbf{n}(\mathbf{x}) = 0$  [127].

Die Dynamik der Salzionen wird durch eine Konvektions-Diffusions-Gleichung beschrieben, der Nernst-Planck-Gleichung. Sei  $\mathbf{J}_{\pm}(\mathbf{x})$  die Teilchenstromdichte der jeweiligen Konzentrationen  $c_{+}(\mathbf{x})$  und  $c_{-}(\mathbf{x})$ ,<sup>9</sup> dann ist

$$\mathbf{J}_{\pm}(\mathbf{x}) = c_{\pm}(\mathbf{x}) \mathbf{w}_{\pm}(\mathbf{x}) - D_{\pm} \nabla c_{\pm}(\mathbf{x}). \quad (3.28)$$

Darin ist  $D_{\pm}$  der jeweilige Diffusions-Koeffizient und  $\mathbf{w}_{\pm}(\mathbf{x})$  eine verallgemeinerte Geschwindigkeit. Sie setzt sich wiederum aus zwei Komponenten zusammen: Die Ionen werden, unabhängig von ihrer Ladung, durch das Geschwindigkeitsfeld  $\mathbf{u}(\mathbf{x})$  der Pufferlösung transportiert (Konvektion), sowie durch Elektrophorese aufgrund des elektrischen Feldes,  $\mathbf{E}(\mathbf{x})$ , proportional zur elektrischen Mobilität der jeweiligen Ionenspezies

---

<sup>8</sup>Die DNS-Doppelhelix trägt eine elektrische Ladung an jeder Phosphat-Gruppe entlang ihres Rückgrades. Der Abstand zwischen zwei aufeinander folgende Basenpaare entlang der Helix sind 0,34 nm. Der Durchmesser des Polymers ist ungefähr 2,2 nm [2, 95].

<sup>9</sup>In der Literatur gibt es keinen einheitlichen Umgang mit der Maßeinheit der Konzentration. Manchmal ist es eine Teilchendichte  $1/\text{m}^3$ , manchmal die Stoffmengenkonzentration  $\text{mol}/\text{m}^3$ , oft in Molar angegeben,  $\text{M} = \text{mol}/\text{dm}^3 = 1000 \cdot \text{mol}/\text{m}^3$ . In dieser Arbeit ist es immer letzteres und damit  $[\mathbf{J}_{\pm}] = \text{mol}/(\text{m}^2 \text{ s})$ , auch wenn wir „Teilchenstrom“ schreiben.

$\mu_{\pm}(\mathbf{x}) = z_{\text{K/Cl}} e D_{\pm}/kT$  (Migration). Das bedeutet  $\mathbf{w}_{\pm}(\mathbf{x}) = \mathbf{u}(\mathbf{x}) + \mu_{\pm}\mathbf{E}(\mathbf{x})$  [77]. Die zwei Nernst-Planck-Gleichungen, wir fassen sie durch den Index  $\pm$  zu einer zusammen, lauten dann

$$\mathbf{J}_{\pm}(\mathbf{x}) = c_{\pm}(\mathbf{x}) \mathbf{u}(\mathbf{x}) + c_{\pm}(\mathbf{x}) \mu_{\pm}(\mathbf{x}) \mathbf{E}(\mathbf{x}) - D_{\pm}(\mathbf{x}) \nabla c_{\pm}(\mathbf{x}). \quad (3.29)$$

Chemische Reaktionen der Salzionen werden in unserem Modell ausgeschlossen, folglich gilt zusätzlich die Kontinuitätsgleichung

$$\nabla \mathbf{J}_{\pm}(\mathbf{x}) + \frac{\partial c_{\pm}(\mathbf{x})}{\partial t} = 0. \quad (3.30)$$

Die Diffusionskoeffizienten der Ionen, und damit auch ihre Mobilität, sind generell Konzentrationsabhängig. Wir verwenden die Werte bei unendlich dünner Konzentration:  $D_+ = 1,96 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ ,  $D_- = 2,03 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ ,  $\mu_+ = 7,62 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2/(\text{V s})$  und  $\mu_- = 7,91 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2/(\text{V s})$  [76]. Bei größeren Salzkonzentrationen sinken die Diffusionskoeffizienten der Ionen, bei  $c_0 = 1 \text{ M}$  beispielsweise ist  $D_{\text{KCl},1\text{M}} = 1,5 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$  [126].

Die Nernst-Planck-Gleichung gilt nur in der wässrigen Lösung. Die Ionen dringen weder in die DNS, noch in die Membran oder Mantelfäche des Bades ein. An diesen Rändern gilt also [67, 128]

$$\mathbf{J}_{\pm}(\mathbf{x}) \cdot \mathbf{n}(\mathbf{x}) = 0. \quad (3.31)$$

An den in der Skizze 3.9 als Electrode bezeichneten Rändern wird die im Experiment benutzte Salzkonzentration fest gelegt, dort ist

$$c_+(\mathbf{x}) = c_-(\mathbf{x}) = c_0. \quad (3.32)$$

Die Modellierung des Geschwindigkeitsfeldes  $\mathbf{u}(\mathbf{x})$  und des Drucks  $p(\mathbf{x})$  wird durch zwei Umstände vereinfacht. Einmal kann die Pufferlösung als inkompressibel betrachtet werden, für dessen Dichte  $\rho_{\text{F}}(\mathbf{x})$  gilt  $\nabla \rho_{\text{F}}(\mathbf{x}) = 0$ . Außerdem gilt für typische Längen

$l \approx 1 \text{ nm}$  und Geschwindigkeiten  $u \approx 1 \text{ mm/s}$ . Das führt zu einer sehr kleinen Reynolds-Zahl

$$\text{Re} = \frac{\rho_{\text{F}} \cdot u \cdot l}{\eta} \approx \frac{1000 \text{ kg/m}^3 \cdot 1 \text{ mm/s} \cdot 1 \text{ nm}}{1 \text{ mPa s}} = 10^{-6},$$

was die Navier-Stokes-Gleichung zur Stokes-Gleichung (3.33) vereinfacht [76].

$$\rho_{\text{F}} \frac{\partial \mathbf{u}(\mathbf{x})}{\partial t} = \eta \nabla^2 \mathbf{u}(\mathbf{x}) - \nabla p(\mathbf{x}) + \mathbf{f}(\mathbf{x}) \quad (3.33)$$

$$\nabla \mathbf{u}(\mathbf{x}) = 0 \quad (3.34)$$

Die Kraftdichte  $\mathbf{f}(\mathbf{x})$  ist die Coulomb-Kraft  $\mathbf{f}(\mathbf{x}) = \rho(\mathbf{x}) \mathbf{E}(\mathbf{x})$  auf die elektrische Raumladungsdichte im Fluid. Die dynamische Viskosität des Wassers bei Raumtemperatur sei  $\eta = 8 \cdot 10^{-4} \text{ Pa s}$ . Auf der Membran (beschichtet oder unbeschichtet) gilt für das Geschwindigkeitsfeld die bewährte No-Slip-Randbedingung

$$\mathbf{u}(\mathbf{x}) = 0. \quad (3.35)$$

Bei der Präparation der meisten SiN-Nanoporen-Experimente wird die Kammer, in der sich die Membran mit der Nanopore befindet, mit sogenannter Piranha-Lösung, einer Lösung aus Wasserstoffperoxid  $\text{H}_2\text{O}_2$  und Schwefelsäure  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , durchgespült [45, 58, 129, 130]. Dadurch wird die Membranoberfläche hydrophil. Ohne diese Behandlung würde von vornherein kein Wasser in die Pore eindringen [115].

An den Elektroden verschwindet der zum Rand orthogonale Anteil des hydrodynamische Spannungstensors  $\mathbf{A}$  [128], also

$$\mathbf{A}(\mathbf{x}) \mathbf{n}(\mathbf{x}) = 0, \quad (3.36)$$

mit

$$A_{ij} = \eta \left( \frac{\partial u_i}{\partial x_j} + \frac{\partial u_j}{\partial x_i} \right) - \delta_{ij} p. \quad (3.37)$$

Der Druck  $p$  wird ebenso an diesen Rändern festgelegt. Der konkrete Wert spielt keine Rolle, lediglich der Gradient  $\nabla p$ . Es gilt also

$$p = \text{beliebig, aber fest} \quad (3.38)$$

auf beiden Elektroden. Man kann diese Randbedingung als „offene Randbedingung“ bezeichnen. Wir geben ansonsten keine Geschwindigkeit oder andere Einschränkung auf das Fluid vor.

Auf der Oberfläche der DNS nehmen wir a priori keine No-Slip-Randbedingung an, sondern die allgemeinere, sogenannte Navier-Randbedingung [131]. Die zur Oberfläche tangentielle Fluidgeschwindigkeit  $\mathbf{u}_{\parallel}(\mathbf{x}) \equiv \mathbf{u}(\mathbf{x}) - \mathbf{u}(\mathbf{x}) \cdot \mathbf{n}(\mathbf{x})$  sei proportional zur Scherrate  $\partial_{\perp} \mathbf{u}(\mathbf{x})$  an diesem Ort. Darin bezeichnet  $\partial_{\perp}$  die Ableitung orthogonal zur Oberfläche. Außerdem dringt kein Wasser in den Zylinder ein. Die Randbedingung lauten daher

$$\mathbf{u}(\mathbf{x}) \cdot \mathbf{n}(\mathbf{x}) = 0 \quad (3.39)$$

$$\mathbf{u}_{\parallel}(\mathbf{x}) = \mathbf{u}(\mathbf{x}) = l_{\text{slip}} \cdot \partial_{\perp} \mathbf{u}(\mathbf{x}).$$

Darin ist  $l_{\text{slip}}$  eine Proportionalitätskonstante. Sie wird Slip-Length genannt und hat die Dimension einer Länge, Abbildung 3.10 skizziert die Randbedingung. Eine detaillierte Herleitung der Navier-Randbedingung findet sich in [131]. In diesem Modell bieten sich Zylinder-Koordinaten zur Verdeutlichung an. Die Komponenten von  $\mathbf{u}(\mathbf{x})$  seien  $u_r(r, z)$  und  $u_z(r, z)$ , wobei  $z$  die Porenachse sei,  $r$  die radiale Komponente (vergleiche Skizze 3.9). Die Scherrate auf der Mantelfläche der DNS lässt sich dann einfach ausdrücken als  $\partial_{\perp} \mathbf{u} = \partial u_z / \partial r$ . Eine anschauliche Formulierung von (3.39) ist dann

$$\begin{aligned} u_r &= 0 \\ u_z &= l_{\text{slip}} \cdot \frac{\partial u_z}{\partial r}. \end{aligned} \quad (3.40)$$

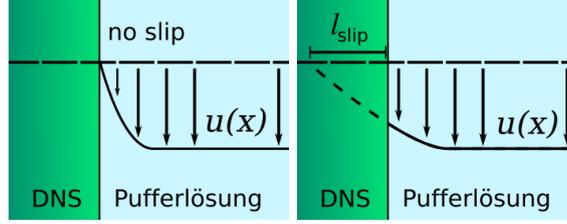


Abbildung 3.10: Zwei Skizzen zur Navier-Randbedingung. *Links*: Die klassische No-Slip-Randbedingung bedeutet  $\mathbf{u} = 0$  an der Oberfläche der DNS. *Rechts*: Die allgemeinere Navier-Randbedingung (3.39) macht die tangentiale Oberflächengeschwindigkeit abhängig von der Scherrate an dem jeweiligen Ort. Ist  $l_{\text{slip}} = 0$  erhalten wir die No-Slip-Randbedingung.  $l_{\text{slip}} \rightarrow \infty$  führt zur Slip-Randbedingung, wie sie beispielsweise bei sehr hydrophoben Oberflächen gilt. Zu beachten ist: Die Slip-Length  $l_{\text{slip}}$  gibt keine Oberflächendimensionen wider (Vertiefungen, Welligkeit, Furchen, oder Ähnliches). Sie ist vielmehr eine abstrakte Größe mit der Dimension einer Länge.

Um die Messungen an das System anzupassen, machen wir die Annahme, dass die Zeitskalen der Elektrohydrodynamik und der Polymerdynamik deutlich voneinander getrennt sind und die Nernst-Planck-Gleichungen und die Stokes-Gleichungen im stationären Zustand betrachtet werden können [45, 60, 61, 67, 70, 71]. Damit reduziert sich die Kontinuitätsgleichung (3.30) zur Teilchenerhaltung  $\nabla \mathbf{J}_{\pm}(\mathbf{x}) = 0$  und die Stokesgleichung verliert den Zeitableitungsterm,  $\rho_F \partial \mathbf{u}(\mathbf{x}) / \partial t = 0$ . Berücksichtigen wir die elektrische Raumladungsdichte  $\rho(\mathbf{x}) = F_c \{c_+(\mathbf{x}) - c_-(\mathbf{x})\}$  in (3.25) und die Kraftdichte auf das Fluid  $\mathbf{f}(\mathbf{x}) = \rho(\mathbf{x}) \mathbf{E}(\mathbf{x})$  in (3.33), können wir das zu lösende Gleichungssystem zusammenfassen:

$$\begin{aligned}
 -\epsilon \nabla^2 V(\mathbf{x}) &= \epsilon \nabla \mathbf{E}(\mathbf{x}) = F_c \{c_+(\mathbf{x}) - c_-(\mathbf{x})\} \\
 D \nabla^2 c_{\pm}(\mathbf{x}) &= \nabla \left\{ \left\{ \mathbf{u}(\mathbf{x}) \pm \frac{D}{kT} \mathbf{E}(\mathbf{x}) \right\} c_{\pm}(\mathbf{x}) \right\} \\
 \eta \nabla^2 \mathbf{u}(\mathbf{x}) &= \nabla p(\mathbf{x}) - F_c \{c_+(\mathbf{x}) - c_-(\mathbf{x})\} \mathbf{E}(\mathbf{x}) \\
 \nabla \mathbf{u}(\mathbf{x}) &= 0
 \end{aligned} \tag{3.41}$$

Die Farbkodierung dient der Veranschaulichung der Kopplungen. Zusammen mit den Randbedingungen und deren Geometrie lassen sich die Gleichungen nur numerisch lösen. Wir verwenden dazu die Finite-Elemente-Methode durch das kommerzielle Software-Paket Comsol Multiphysics [132].

Das Modell, wie es bis hierher beschrieben wurde, erlaubt nun die Berechnung der elektrokinetischen Kraft  $\mathbf{F}$  auf die DNS. Dazu werden der Maxwell-Tensor  $\mathbf{M}(\mathbf{x})$ , mit

$$M_{ij} = \epsilon_s \left( E_i E_j - \delta_{ij} \frac{|\mathbf{E}|^2}{2} \right) \quad (3.42)$$

und der hydrodynamische Spannungstensor  $\mathbf{A}(\mathbf{x})$  über die DNS-Oberfläche  $S$  integriert [76, 127], sodass

$$\mathbf{F} = \int_S \{ \mathbf{A}(\mathbf{x}) + \mathbf{M}(\mathbf{x}) \} \mathbf{n}(\mathbf{x}) \, dS \quad (3.43)$$

ist. Die Permittivität  $\epsilon_s$  ist diejenige der Flüssigkeit und  $\mathbf{n}$  der Normalenvektor auf der DNS.

Bevor im Folgenden die Messungen modelliert werden, betrachten wir das Potential und Geschwindigkeitsfeld in einer leeren Pore, also ohne eine DNS. Wir setzen exemplarisch  $H = 20 \text{ nm}$ ,  $R_0 = 5 \text{ nm}$  und  $R_1 = R_0 + H/10 = 7 \text{ nm}$ . Der Testkammer wird eine Salzkonzentration  $c_0 = 20 \text{ mol/m}^3$  beigefügt und  $T = 293 \text{ K}$ . Die Ionenspezies haben bei dieser Temperatur einen Diffusionskoeffizienten  $D_{K^+} = 1,96 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$  und  $D_{Cl^-} = 2,03 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$  [76]. Der Membran geben wir hierzu zunächst exemplarisch eine elektrische Oberflächenladungsdichte  $\sigma = -60 \text{ mC/m}^2$ . Damit lassen sich die Gleichungen vollständig lösen. Abbildung 3.11 zeigt die beiden Größen  $V(\mathbf{x})$  und  $\mathbf{u}(\mathbf{x})$  für diese Modellpore. Die beiden oberen Abbildungen in 3.11 zeigen  $V(\mathbf{x})$  und  $\mathbf{u}(\mathbf{x})$  in einem Querschnitt durch die Pore. Deutlich fällt links das elektrische Potential überwiegend in der Pore und ihrer unmittelbaren Nachbarschaft ab. Ebenso markant ist die Debye-Schicht, welche die Oberflächenladung der Membran über wenige Nanometer abschirmt. Die Debye-Länge ist hier  $\lambda = \sqrt{\frac{80\epsilon_0(4 \text{ pN nm})}{2e^2 N_A (20 \text{ mol/m}^3)}} \approx 2 \text{ nm}$ , vergleichbar also mit der Größe

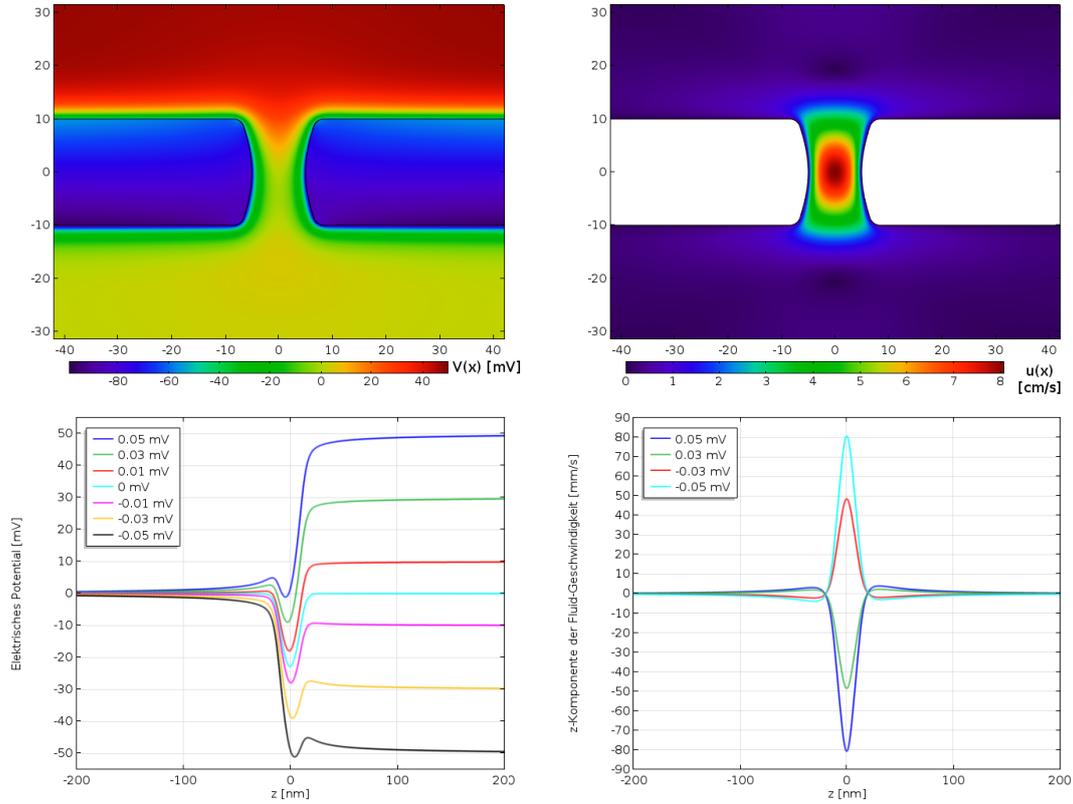


Abbildung 3.11: Das elektrische Potential  $V(\mathbf{x})$  und das Geschwindigkeitsfeld  $u(\mathbf{x})$ . In allen vier Grafiken ist  $c_0 = 20 \text{ mM}$ ,  $T = 293 \text{ K}$  und  $\sigma = -60 \text{ mC/m}^2$ . *Oben:* Links das Potential und rechts das Geschwindigkeitsfeld in einer Nanopore mit  $H = 20 \text{ nm}$ ,  $R_0 = 5 \text{ nm}$  und  $R_1 = H/10 + R_0 = 7 \text{ nm}$  bei  $V_{\text{ext}} = 50 \text{ mV}$ . *Unten:* Links der Potentialverlauf entlang der Porenachse ( $z$ -Achse), rechts die  $z$ -Komponente des Geschwindigkeitsfeldes entlang der Achse, beide für unterschiedliche Potentiale  $V_{\text{ext}}$  zwischen  $-50$  bis  $50 \text{ mV}$ . Das elektrische Potential fällt überwiegend in der Nanopore ab. Bei einem Abstand von  $100 \text{ nm}$  von der Pore weicht es nur noch um etwa  $2\%$  vom Endwert auf der jeweiligen Seite ab. Das Geschwindigkeitsfeld ist ebenfalls auf die Nähe der Pore beschränkt. Für  $V_{\text{ext}} = 0$  ist das System im thermodynamischen Gleichgewicht und es findet kein Fluss statt. Wechselt das Vorzeichen von  $V_{\text{ext}}$ , wechselt auch die Flussrichtung. Der elektroosmotische Fluss an einer geladenen Oberfläche entspricht immer der Flussrichtung der Gegenionen, in diesem Fall dem der positiv geladenen Kalium-Ionen.

der Nanopore. Die rechte Seite zeigt, dass das Geschwindigkeitsfeld ebenso auf die Pore beschränkt ist. Der elektroosmotische Fluss wird durch die Raumladungsdichte in der Debye-Schicht induziert und fließt natürlich durch die gesamte Testkammer. Da aber  $W_{\text{res}} \gg R_0$ , wird  $\mathbf{u}$  in den Reservoirs schnell verschwindend gering.

Auf den Ionenstrom in der Nanopore wird später gesondert eingegangen. Als nächstes wenden wir das Modell auf die Messungen in 3.8 an, inklusive der DNS.

### 3.2.3 Resultate

In der Modell-Pore in Abbildung 3.11 waren alle Systemparameter zuvor bekannt oder aus dem oben beschriebenen Experiment entnommen, außer der elektrischen Ladung der Siliziumnitrid-Membran  $\sigma$ . Berücksichtigen wir nun zusätzlich die DNS, kommt ein weiterer, zunächst unbekannter, Parameter hinzu:  $l_{\text{slip}}$ . Diese zwei Unbekannten werden nacheinander bestimmt. Dafür betrachten wir zunächst die Datenpunkte der beschichteten Membranen. Nachdem  $l_{\text{slip}}$  bestimmt wurde, kann dann durch das Anpassen des Modells an die unbeschichteten Poren  $\sigma$  angefitet werden.

Durch die Lipidbeschichtung wird die elektrische Membranladung abgeschirmt oder sogar gänzlich unterdrückt [40, 45, 116, 117]. Dadurch bleibt in diesen Poren  $l_{\text{slip}}$  als einziger Fitparameter, da hier  $\sigma = 0$ . Wie oben beschrieben, ist die Lipid-Doppelschicht etwa 5 nm dick. Es wurden ausschließlich 20 nm dicke SiN-Membranen beschichtet. Für die Rechnungen nehmen wir also  $H = 30$  nm an. Experimentell festgelegt werden ansonsten das elektrische Potential  $V_{\text{ext}} = 50$  mV, die Salzkonzentration  $c_0 = 20$  mol/m<sup>3</sup> und die Temperatur  $T = 293$  K. Die Diffusionskoeffizienten der beiden Ionenspezies sind  $D_{\text{K}^+} = 1,96 \cdot 10^{-9}$  m<sup>2</sup>/s und  $D_{\text{Cl}^-} = 2,03 \cdot 10^{-9}$  m<sup>2</sup>/s [76] und  $\sigma = 0$ . Lösen wir die Gleichungen (3.41) mit den genannten Randbedingungen auf der Geometrie aus Abbildung 3.9 und berechnen damit  $\mathbf{F}$ , können wir  $l_{\text{slip}}$  anfiten. Abbildung 3.12 zeigt die elektrokinetische Kraft  $\mathbf{F}$  aus (3.43) für verschiedene  $l_{\text{slip}}$  als Funktion vom Porendurchmesser  $2R_0$ .

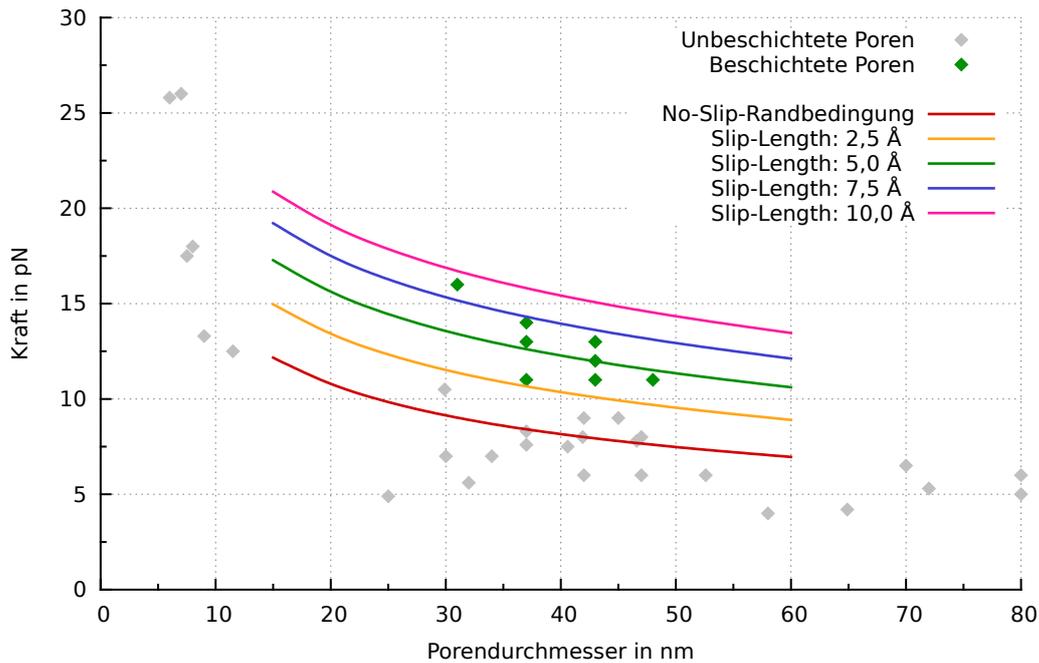


Abbildung 3.12: Die Kraft auf eine DNS in lipidbeschichteten Nanoporen für unterschiedliche Slip-Längen. Je größer  $l_{\text{slip}}$ , desto stärker ist auch die Kraft. Die Messungen (grüne Punkte) entsprechen am besten einer Slip-Length  $l_{\text{slip}} = 0,5 \text{ nm}$ .

Die Slip-Length führt zu einer größeren Gesamtkraft  $\mathbf{F}$ . Wie (3.43) zeigt, setzt sie sich aus den beiden Komponenten elektrische Kraft und hydrodynamische Reibungskraft zusammen. Da die elektrische Kraft unabhängig von  $l_{\text{slip}}$  ist,<sup>10</sup> resultiert die Steigung der Gesamtkraft aus einer Reduktion der hydrodynamischen Reibungskraft. Aus 3.12 lesen wir eine Slip-Length  $l_{\text{slip}} = 0,5 \text{ nm}$  als besten Fit an die Daten ab. Die Einführung der Navier-Randbedingung auf der DNS mag zunächst künstlich erscheinen, ist jedoch nicht nur durch den guten Fit an die Daten gerechtfertigt, sondern physikalisch die plausibelste Randbedingung in diesem Modell. Die klassische No-Slip-Randbedingung gilt in erster Linie für makroskopische Strömungen, in denen die Dicke von Grenzschichten gänz-

<sup>10</sup>Diese Behauptung ist nur näherungsweise richtig.  $\mathbf{E}(\mathbf{x})$  ist über die Raumladungsdichte  $\rho(\mathbf{x})$  an  $c_{\pm}(\mathbf{x})$  gekoppelt. Deren stationäre Verteilung wiederum wird durch  $\mathbf{u}(\mathbf{x})$  verschoben. Das führt dazu, dass auch  $\mathbf{E}(\mathbf{x})$  und damit die elektrische Kraftkomponente mit  $l_{\text{slip}}$  variiert, nicht jedoch in dem Ausmaß wie die hydrodynamische. Insbesondere verdeutlicht dies, dass die Gleichungen vollständig gekoppelt gelöst werden müssen, um quantitativ gute Ergebnisse zu erhalten.

lich vernachlässigbar ist. Die hier betrachteten Nanoporen-Systeme sind mesoskopische Systeme, die Debye-Schicht in der Größenordnung der Pore selbst. Eine Kontinuum-Beschreibung solcher Systeme ist plausibel für Strukturgrößen ab circa 1 bis 2 nm [133–136]. Die Benetzbarkeit der Oberflächen muss jedoch berücksichtigt werden [136]. Während die Nanoporenwand sehr hydrophob ist [115] und damit No-Slip plausibel, kann die DNS nicht so beschrieben werden.

Ein starrer, homogener Zylinder als DNS-Modell [60, 61, 81, 105, 118, 129] ignoriert strukturelle Eigenschaften der Doppelhelix. Zunächst ist der Backbone der DNS durch die negativ geladenen Phosphat-Gruppen hydrophil, die Nukleobasen jedoch hydrophob [96]. In den Grooves der Doppelhelix stehen letztere im Kontakt mit dem Lösungsmittel. Diese Struktur kann zu Slip-Effekten führen [131]. Auch Molekulardynamik-Simulationen eines kurzen DNS-Segementes in einer Nanopore zeigen eine nicht verschwindende Fluidgeschwindigkeit entlang der DNS [62, 79]. Tatsächlich entspricht die von uns gefundene Slip-Length  $l_{\text{slip}} = 0,5 \text{ nm}$  sehr gut derjenigen, die sich aus Abbildung 2 in Referenz [62] ableiten lässt. An dieser Stelle sei nochmal daran erinnert, dass  $l_{\text{slip}}$  keine tatsächlichen Strukturgrößen der DNS-Doppelhelix wiedergibt, sondern nur die Reibung an diesem Interface quantifiziert [137]. Dass es in etwa den Ausmaßen der DNS-Grooves [138] entspricht, ist vielmehr Zufall.

Die Slip-Length der DNS ist damit bestimmt und kann für die unbeschichteten Poren verwendet werden. Da  $l_{\text{slip}}$  eine Poren-unabhängige Eigenschaft der DNS ist, gilt sie auch dort. Die Siliziumnitrid-Poren tragen eine negative Oberflächenladungsdichte  $\sigma$  [80, 139–143]. Um sie zu bestimmen, werden erneut die Gleichungen gelöst und  $\sigma$  an die Daten angepasst. Die Lösung für verschiedene  $\sigma$  wird in Abbildung 3.13 gezeigt. Je größer die Oberflächenladungsdichte ist, desto stärker der elektroosmotische Fluss, der in der Debye-Schicht an der Nanopore induziert wird. Folglich wird  $\mathbf{F}$  mit negativen, betragsmäßig größerem  $\sigma$  kleiner. In der Publikation [45] haben wir eine Ladungsdichte  $\sigma = -60 \text{ mC/m}^2$  angefügt. Die Datenbasis in dem Paper war jedoch kleiner, als die

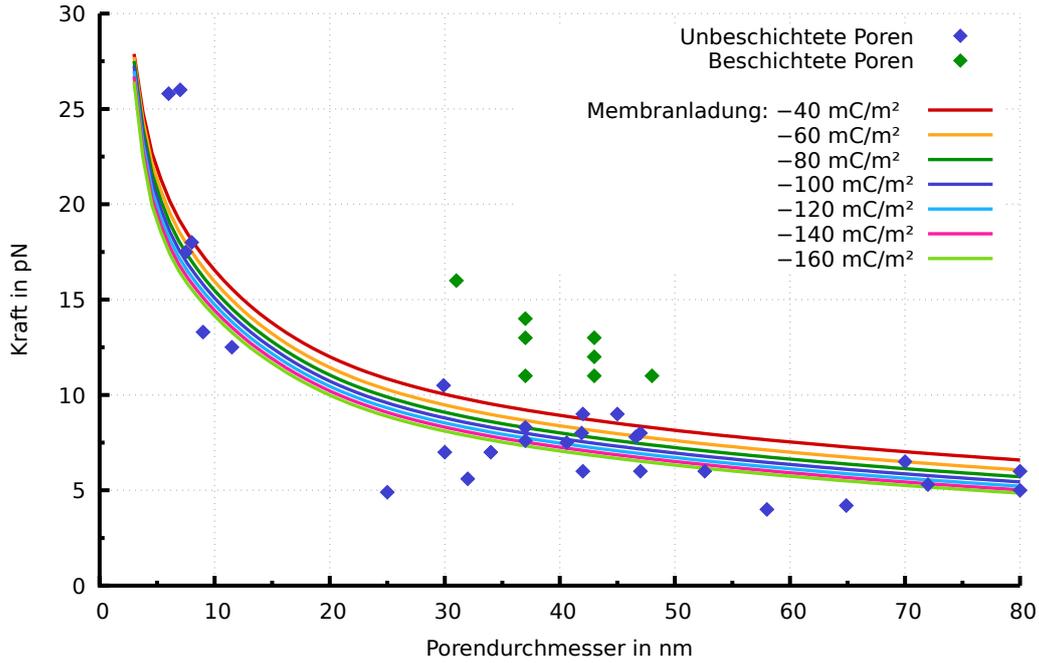


Abbildung 3.13: Die Kraft auf eine DNS in unbeschichteten Siliziumnitrid-Nanoporen. Die Kurven sind Lösungen des PNP-Modells für verschiedene Membranladungsdichten. Bei allen Kurven wurde  $l_{\text{slip}} = 0,5 \text{ nm}$  verwendet.

hier benutzte aus [74]. Abbildung 3.13 zeigt, dass auch Oberflächenladungen zwischen  $\sigma < -60 \text{ mC/m}^2$  und  $\sigma > -160 \text{ mC/m}^2$  die Messungen gut beschreiben können. Der Einfluss der Oberflächenladung auf die Kraft ist zwar deutlich, aber leider auch deutlich geringer als die Streuung der Messpunkte.

Bis zu diesem Punkt wurden die Ergebnisse aus Abschnitt 3.1.1 nicht berücksichtigt. Um das zu tun und anstelle der (in der optischen Pinzette) gemessenen Kraft, die (in der Pore wirkende) elektrokinetische Kraft mit den Rechnungen zu vergleichen, werden die Messdaten entsprechend der Funktion  $F_{\text{trap}}(F_{\text{ekin}})$  in Gleichung (3.23) auf Seite 34 verschoben. Dazu bilden wir das Inverse der Funktion,

$$F_{\text{ekin}}(F_{\text{trap}}) = F_{\text{trap}} - \sqrt{\frac{2 kT l_p F_{\text{trap}} - (kT)^2}{2 l_p^2}}. \quad (3.44)$$

Im Abschnitt 3.1.1 wurde gezeigt, dass für die relativ steife DNS-Doppelhelix die Korrektur nicht sehr groß ist. Tatsächlich liegt sie für die Messungen aus Abbildung 3.13 nur bei ungefähr 1 pN. Die zwei Fitparameter  $l_{\text{slip}}$  und  $\sigma$  werden aber erneut berechnet und an die Daten angepasst. Die resultierende elektrokinetische Kraft im Vergleich zu den Messungen zeigt Abbildung 3.14.

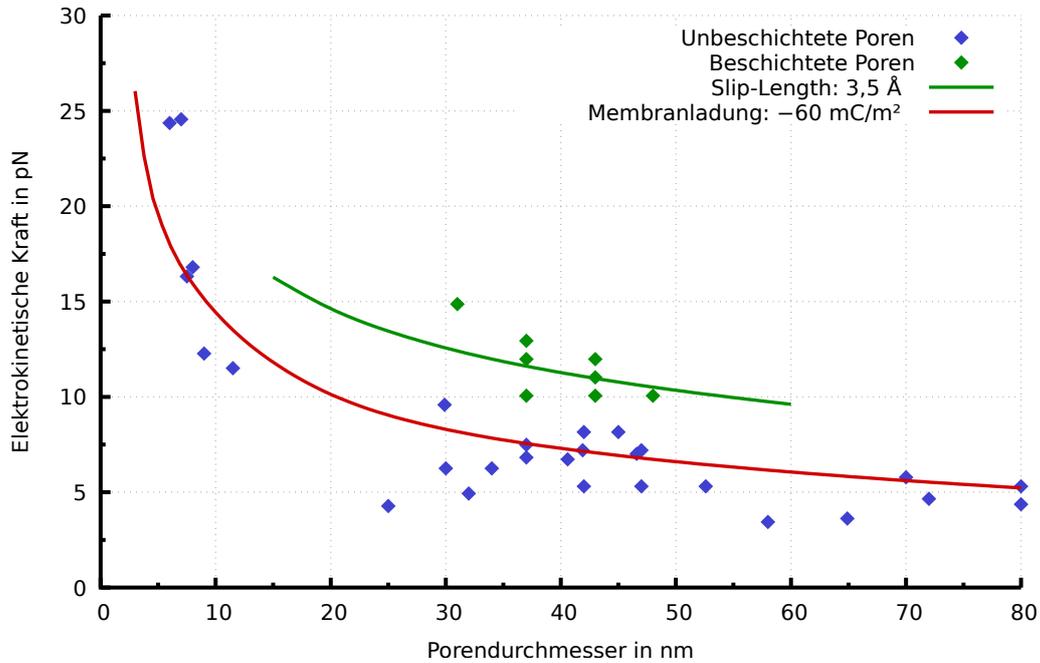


Abbildung 3.14: Die elektrokinetische Kraft auf eine DNS in Nanoporen verschiedenen Durchmessers. Die Messungen wurde mit Gleichung (3.44) um die entropische Kraft der DNS korrigiert (siehe Abschnitt 3.1.1). Die Rechnungen wurden erneut durchgeführt für  $l_{\text{slip}} = 3,5 \text{ \AA}$  und  $\sigma = -60 \text{ mC/m}^2$ , welche gut mit den Messungen übereinstimmen (vgl. Abbildungen 3.12 und 3.13).

Die korrigierten Messdaten der beschichteten Poren lassen sich am besten durch eine Slip-Länge  $l_{\text{slip}} = 3,5 \text{ \AA}$  anpassen. Wird diese Slip-Länge auch für die Berechnung der Kräfte in unbeschichteten Nanoporen verwendet, ändert sich für den Fit der Membranoberflächenladung  $\sigma$  wenig,  $\sigma \approx -60 \text{ mC/m}^2$  passt die Daten nach wie vor gut an, da der Zusammenhang  $F_{\text{ekin}}(l_{\text{slip}})$  ungefähr linear ist (vgl. Abbildung 3.12). Wir halten daher

die Argumentation im Zusammenhang mit den veröffentlichten Rechnung [45, 74] nach wie vor für valide.

Die Messpunkte in Abbildung 3.13 zeigen keine Fehlerbalken. Der Grund hierfür ist, dass *bei einzelnen Messungen* das Rauschen relativ gering ist (sichtbar in den Messungen in Abbildung 3.3 auf Seite 28 und Abbildung 3.8 auf Seite 39). Die Streuung kann auf die jeder Messung vorausgehende Kalibrierung der optischen Pinzette [91, 144] oder unterschiedliche Oberflächenladungen der Pore zurückzuführen sein. Die Kurven in 3.13 beruhen auf der Annahme, dass alle Poren die gleiche Oberflächenladung tragen. Fraglich ist, wie plausibel diese Annahme ist. Das folgende Kapitel geht daher näher auf die elektrische Membranladung ein. Es beinhaltet in Abschnitt 4.5 auf Seite 69 einen Rückblick auf die Ergebnisse dieses Abschnittes.

## 4 Laser-induzierte Membranladung

Die elektrische Oberflächenladung der Membran wird durch die Elektrolytlösung abgeschirmt. Die Debye-Schicht an der Porenwand ist nicht elektrisch neutral. So wird durch ein externes elektrisches Feld entlang der Pore ein elektroosmotische Fluss der Pufferlösung induziert. Dieser bestimmt auch die Leitfähigkeit der Nanopore sowie die Kraft, welche auf ein Polymer darin wirkt. Eine direkte Kontrolle dieser Oberflächenladung ist also wünschenswert, da sie eine Steuerung des Translokationsprozesses erlauben könnte. Im Kapitel 3.2 konnte die Ladung zwar neutralisiert werden, indem die Pore mit Lipiden beschichtet wurde. Zur Reduktion der Kraft auf negativ geladene Polymere wäre aber gerade eine Verstärkung der negativen Membranladung interessant. Diese Verstärkung erhöht den elektroosmotischen Fluss, welche der elektrischen Kraft auf die DNS entgegen wirkt.

In Kapitel 3.2 wurde die Oberflächenladung, homogen über die Membran verteilt, als Fitparameter eingeführt. Die Ursache der Ladung und eine detailliertere Modellierung steht im ersten Teil dieses Kapitels im Fokus. Darauf werden Experimente der Arbeitsgruppe von Professor Dr. Amit Meller diskutiert, welche zeigen, dass sich die Membranladung durchaus steuern lässt.

### 4.1 Elektrische Membranoberflächenladung

Wird Silizium-Nitrid in eine wässrige Lösung eingebracht, bildet sich an dessen Oberfläche innerhalb weniger Minuten eine Oxidschicht [145, 146]. Die Behandlung mit Piranha-

Lösung führt zur Bildung von Hydroxygruppen (Si-O-H) auf der Oberfläche [147], welche in der Elektrolytlösung deprotonieren [139, 142]. Diese Gleichgewichtsreaktion an der Oberfläche der Membran,



ist der Ursprung der elektrischen Membranoberflächenladung  $\sigma$ .<sup>1</sup> Seien  $[\text{SiOH}]$  und  $[\text{SiO}^-]$  die Dichten der ungeladenen und der negativ geladenen Oberflächengruppen, dann folgt daraus für die elektrische Ladungsdichte

$$\sigma = -e \cdot [\text{SiO}^-]. \quad (4.2)$$

Wir suchen also eine neue Randbedingung für die Membranoberfläche in der Poisson-Gleichung unseres Elektrokinetik-Modells. Zunächst brauchen wir einen Ausdruck für  $[\text{SiO}^-]$ . Dazu betrachten wir das Massenwirkungsgesetz zu Reaktion (4.1):

$$\begin{aligned} [\text{H}^+]_S \cdot \frac{[\text{SiO}^-]}{[\text{SiOH}]} &= 10^{-\text{pK}} \text{ M} \\ \Leftrightarrow [\text{SiO}^-] &= 10^{-\text{pK}} \text{ M} \cdot \frac{\Gamma - [\text{SiO}^-]}{[\text{H}^+]_S} \\ \Leftrightarrow [\text{SiO}^-] &= \Gamma \cdot \left( \frac{[\text{H}^+]_S}{10^{-\text{pK}} \text{ M}} + 1 \right)^{-1} \end{aligned} \quad (4.3)$$

Darin sind die Gleichgewichtskonstante  $K \equiv 10^{-\text{pK}} \text{ M}$ , die Gesamtdichte der Oberflächengruppen  $\Gamma = [\text{SiO}^-] + [\text{SiOH}]$  und die Protonenkonzentration unmittelbar an der Oberfläche  $[\text{H}^+]_S$ . Die ersten beiden sind Eigenschaften der Membranoberfläche, welche als neue Fitparameter bestimmt werden. Die Protonenkonzentration kann jedoch be-

---

<sup>1</sup>Außer der in Gleichung (4.1) gezeigten Reaktion kann sich zusätzlich auch ein weiteres Proton an die Hydroxygruppe binden, wodurch diese dann positiv geladen wird,  $\text{SiOH} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{SiOH}_2^+$ . Die Gleichgewichtskonstante dazu ist etwa  $\text{pL} \approx 2,7$  [142]. Die Reaktion spielt bei  $\text{pH} \approx 7$  bis 8 also keine Rolle.

rechnet werden. Dazu wird das Modell der Elektrokinetik aus Kapitel 3.2 im Folgenden erweitert.

Die Protonen sind ein Produkt der Eigendissoziation des Wassers,



wobei die Bulk-Konzentration im Gleichgewicht  $[\text{H}^+]_0 = [\text{OH}^-]_0 = 10^{-\text{pH}} \text{ M}$  ist. Deren Dynamik wird, wie die Dynamik der Salzionen, durch je eine Nernst-Planck-Gleichung beschrieben (vgl. (3.29) auf Seite 44):

$$\nabla \mathbf{J}_{\text{H}}(\mathbf{x}) = \nabla \left\{ \mathbf{u}(\mathbf{x})[\text{H}^+](\mathbf{x}) + \mu_{\text{H}}(\mathbf{x})\mathbf{E}(\mathbf{x})[\text{H}^+](\mathbf{x}) - D_{\text{H}}(\mathbf{x})\nabla[\text{H}^+](\mathbf{x}) \right\} = 0 \quad (4.5)$$

$$\nabla \mathbf{J}_{\text{OH}}(\mathbf{x}) = \nabla \left\{ \mathbf{u}(\mathbf{x})[\text{OH}^-](\mathbf{x}) + \mu_{\text{OH}}(\mathbf{x})\mathbf{E}(\mathbf{x})[\text{OH}^-](\mathbf{x}) - D_{\text{OH}}(\mathbf{x})\nabla[\text{OH}^-](\mathbf{x}) \right\} = 0 \quad (4.6)$$

Die Diffusionskonstanten und Mobilitäten der Protonen und Hydroxid-Ionen sind  $D_{\text{H}} = 9,31 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ ,  $D_{\text{OH}} = 5,3 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ ,  $\mu_{\text{H}} = 36,2 \text{ m}^2/(\text{V s})$  und  $\mu_{\text{OH}} = 20,6 \text{ m}^2/(\text{V s})$  [76]. Da diese Konzentrationen außerhalb des Gleichgewichts nicht homogen auf der Membranoberfläche sein müssen, wird auch  $\sigma$  ortsabhängig sein. Die Randbedingung der Poisson-Gleichung auf der Membranoberfläche, die Oberflächenladung  $\sigma(\mathbf{x})$ , ist also bestimmt durch die Gleichungen (4.2) und (4.3):

$$\sigma(\mathbf{x}) = -e \cdot \Gamma \cdot \left( \frac{[\text{H}^+]_S(\mathbf{x})}{10^{-\text{pKM}}} + 1 \right)^{-1} \quad (4.7)$$

## 4.2 Lösung der erweiterten Gleichung

Das Modell der Elektrokinetik wird erneut numerisch gelöst. Exemplarisch betrachten wir zunächst eine 20 nm dicke Membran mit einer 10 nm weiten Pore. Die Parameter sind wie im oberen Kapitel,  $V_{\text{ext}} = 50 \text{ mV}$ ,  $T = 293,15 \text{ K}$ ,  $\text{pH} = 8$  und  $c_{\text{KCl}} = 20 \text{ mol/m}^3$ .

Die Abbildungen 4.1 zeigen die elektrische Oberflächenladung entlang eines Querschnittes der Membran für verschiedene Parameter  $\Gamma$  und pK-Werte. Deutlich ist, dass

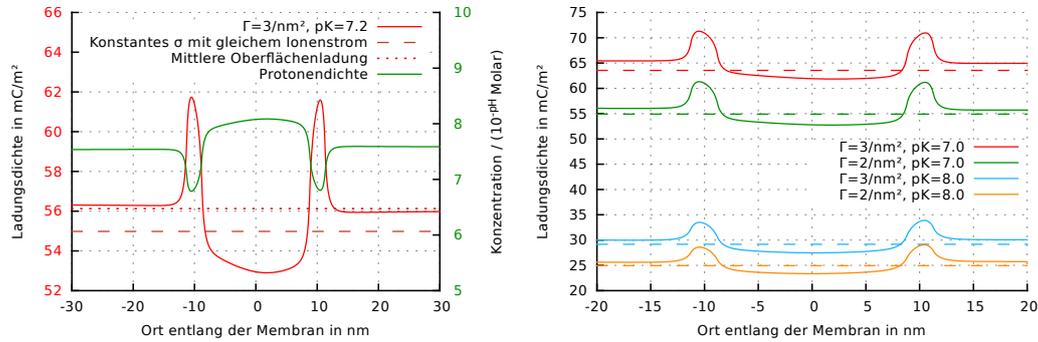


Abbildung 4.1: Die elektrische Oberflächenladung der Membran entlang eines Querschnittes der Oberfläche. Der Ort  $x = 0$  ist die Porenwand in der Mitte der Nanopore, die Orte  $x = -10$  nm und  $x = 10$  nm die untere und obere Kante der Pore.  $x < -11$  nm ist die untere Membranoberfläche,  $x > 11$  nm die obere. In der linken Grafik wird gepunktet der Mittelwert der Membranladung außerhalb der Pore dargestellt. Die gestrichelte Kurve entspricht einer konstanten Oberflächenladung (wie in den oberen Kapiteln), welche zum gleichen Ionenstrom durch die Pore führt. Sie entspricht in etwa dem Mittelwert aus der Ladung im Poreninneren und außerhalb. Die grüne Kurve zeigt die Protonendichte  $[H^+]_S(x)$  als Vielfaches der Bulk-Konzentration  $10^{-pH}$ . In der rechten Grafik ist die Oberflächenladung für unterschiedliche Oberflächen-Parameter gezeigt. Die gestrichelten Linien sind, wie links, die konstanten Ladungsdichten mit gleichem Ionenstrom. Die Membraneigenschaften pK und  $\Gamma$  haben einen deutlichen Einfluss auf die Größe der Oberflächenladung.

die Oberflächenladung variiert. Innerhalb der Pore ( $-10$  nm  $< x < 10$  nm) ist sie circa 5% bis 10% geringer als außerhalb auf der Membran. Die gestrichelten Linien in beiden Graphen entsprechen jeweils dem Wert einer konstanten Oberflächenladung, welche den gleichen Ionenstrom produziert wie das erweiterte Modell. Sie ist in etwa der Mittelwert aus Ladungsdichte auf der Membran und innerer Porenwand und weicht in allen gezeigten Fällen weniger als 5% von Ersterem ab. Ebenfalls auf der linken Seite wird in grün die Protonenkonzentration  $[H^+]$  aufgetragen, sie ist antiproportional zu Oberflächenladung. Die Variation der Ladung entlang der Pore ist nicht greifbar durch Kraft- oder

Leitfähigkeitsmessungen. Da die Abweichungen vom Mittelwert aber gering sind, werden wir im folgenden Abschnitt, wo nötig, eine homogene Oberflächenladung betrachten.

### 4.3 Optoelektronische Kontrolle der Membranladung

Das verfeinerte Modell der Oberflächenladung wurde erst in diesem Kapitel eingeführt, da die zuvor besprochenen Messungen keinen Aufschluss über die örtliche Verteilung der Ladung oder die Parameter  $pK$  und  $\Gamma$  ermöglichten. In einem 2013 veröffentlichten Artikel der Arbeitsgruppe von Amit Meller wird jedoch ein Experiment beschrieben, das es erlaubt, Rückschlüsse auf diese Oberflächenparameter zu ziehen [129].

Sie bestrahlten eine Nanopore in einer Siliziumnitrid-Membran mit einem stark fokussierten Laser. Abhängig von der Leistung des Lasers wurde dadurch der Ionenstrom durch die Pore verstärkt. Der Ionenstrom reagierte im Rahmen der Messgenauigkeit unmittelbar, unabhängig davon, ob die Laserleistung erhöht oder reduziert wurde. Ebenfalls wurde die Translokationszeit von DNS-Strängen durch Nanoporen abhängig von der Laserleistung verlängert. Je größer die Laserleistung, desto langsamer fädelt die DNS durch die Pore. Diese Phänomene waren nur bei unmittelbarer Bestrahlung der Pore sichtbar. Wurde der Laserfokus auf die Membran abseits der Pore gelenkt, hatte er keinen Effekt auf Ionenstrom oder Translokationszeit. Die Stärke der Reaktion auf die Laserstrahlung unterschied sich zwischen einzelnen Nanoporen. Alle Poren wurden mit einem Elektronenstrahl (TEM) gebohrt (Supplementary Information, Kapitel 9, in [129]). Je größer die dazu verwendete Elektronendosis, desto stärker war die Reaktion.

Ursache für die beobachteten Phänomene ist eine laserleistungsabhängige Erhöhung der Oberflächenladung der Siliziumnitrid-Membran [129, 130]. Die Änderung des Stromes und der Passagezeit für jeweils vier unterschiedliche Poren wird in Abbildung 4.2 gezeigt. Als Ursache für die Ladungsänderung der Oberfläche wird in [129] vermutet, dass freistehende Siliziumatome („dangling bonds“) an der Membranoberfläche Elektronen fangen, wenn sie durch das Laserlicht angeregt werden [148–151]. Ein Problem bei

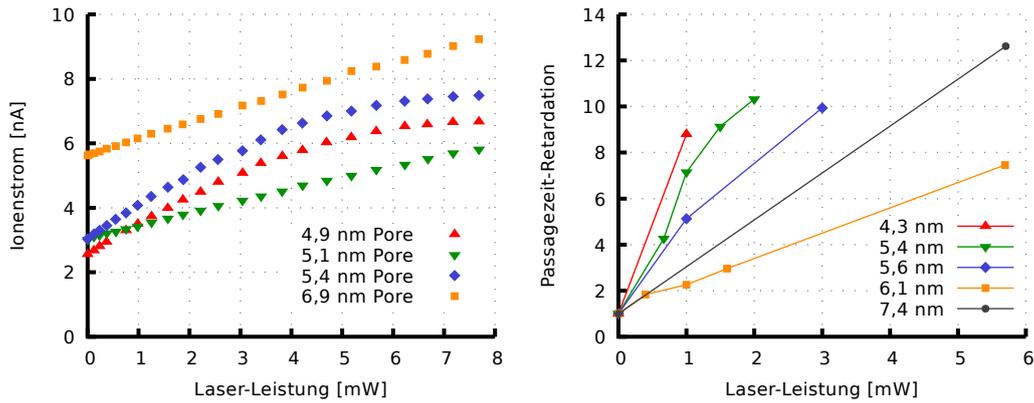


Abbildung 4.2: Messungen extrahiert aus [129]. *Links*: Wird eine Nanopore von einem grünen (532 nm) Laser bestrahlt, ändert sich die Leitfähigkeit der Pore. Deutlich sind zwei Paare von Poren: Die rot und blau gezeichneten Poren reagieren deutlich stärker auf die Laserstrahlung als die gelbe und grüne. Erstere erreichen bei hoher Laserleistung eine Sättigung. Die beiden Gruppen unterscheiden sich in der Elektronendosis, welche zum Bohren benutzt wurde. *Rechts*: Die Passagezeit von translokierenden DNS-Strängen wird abhängig von der Laserleistung verlängert. Die Kurven zeigen die mittlere, relative Verlängerung der Passagezeit für verschiedene Poren. Die Verbindungslinien dienen nur der Übersichtlichkeit.

diesem Ansatz ist jedoch, dass Siliziumnitrid in der wässrigen Lösung eine Oxidschicht von mehreren Ångström trägt [145, 146, 152–154]. Da das hier vorgestellte Modell den Ladungsmechanismus mit einem in der Literatur etablierten Bild der Oberflächenreaktion erklären kann, ohne neue physikalische Effekte einbinden zu müssen, halten wir Halbleiter-Effekte, wie in [129] vorgeschlagen, für unwahrscheinlich.

In [129] wurde ein einfaches, effektives Modell den experimentellen Ergebnissen angepasst, welches den Messungen für kleine Laserleistung zumindest qualitativ entspricht. Im Folgenden beschreiben wir ein Modell der Membranoberfläche, das die Messungen auch für große Laserleistungen beschreiben kann und uns erlaubt, daraus Oberflächeneigenschaften der Membran abzuleiten. In erster Näherung sollten Laserleistung  $P$  und Oberflächenladung  $\sigma$  proportional zueinander sein,  $d\sigma = \gamma dP$ . Die Proportionalitätskonstante  $\gamma < 0$  ist die Reaktionsfähigkeit der Membranoberfläche ( $[\gamma] = \text{C}/(\text{m}^2 \text{W})$ ).

Sie ist ein Fitparameter, der für jede untersuchte Nanopore angepasst werden muss<sup>2</sup>. Für höhere Leistungen sättigt  $\sigma$ , da es maximal  $-e \cdot \Gamma \equiv \sigma_0$  sein kann. Das einfachste Modell für  $\sigma$ , das diese beiden Eigenschaften erfüllt, ist die Differentialgleichung

$$\frac{\partial \sigma}{\partial P} = \gamma \left( 1 - \frac{\sigma}{\sigma_0} \right). \quad (4.8)$$

Die Lösung dieser Gleichung ist

$$\sigma(P) = \sigma_0 \left\{ 1 - \exp \left( -\frac{\gamma P}{\sigma_0} \right) \right\} + \sigma(P=0) \exp \left( -\frac{\gamma P}{\sigma_0} \right), \quad (4.9)$$

worin  $\sigma(P=0)$  die Oberflächenladungsdichte ohne Laser und durch Gleichung (4.7) gegeben ist. Wird sie in Gleichung (4.9) eingesetzt, bekommen wir einen neuen Ausdruck für  $\sigma$ , welcher nicht nur die Gleichgewichtsreaktion der Silanol-Gruppen, sondern auch den Einfluss des Lasers berücksichtigt:

$$\begin{aligned} \sigma(\mathbf{x}) &= \sigma_0 \left\{ 1 - \exp \left( -\frac{\gamma P}{\sigma_0} \right) \right\} + \sigma_0 \left\{ \frac{[\text{H}^+]_S(\mathbf{x})}{10^{-\text{pKM}}} + 1 \right\}^{-1} \exp \left( -\frac{\gamma P}{\sigma_0} \right) \\ &= \sigma_0 \left\{ 1 + \exp \left( -\frac{\gamma P}{\sigma_0} \right) \left\{ \left\{ \frac{[\text{H}^+]_S(\mathbf{x})}{10^{-\text{pKM}}} + 1 \right\}^{-1} - 1 \right\} \right\} \end{aligned} \quad (4.10)$$

Für  $P = 0 \text{ W}$  wird Gleichung (4.10) zu (4.7). Weiterhin ist das erweiterte  $\sigma$  abhängig von der Protonendichte an der Oberfläche  $[\text{H}^+]_S(\mathbf{x})$ , muss also durch Lösen des Systems für gegebene Membranparameter bestimmt werden. Im Vergleich zu Abschnitt 4.1 wird das Gleichgewicht der Reaktion (4.1) hier auch von  $\gamma P$  bestimmt.

Um die Systemparameter an Messdaten anzupassen, müssen sechs gekoppelte Differentialgleichungen ( $V$ ,  $\mathbf{u}$ ,  $c_+$ ,  $c_-$ ,  $[\text{H}^+]$  und  $[\text{OH}^-]$ ) im Rahmen der Fehlerminimierung wiederholt gelöst werden. Um das Anfitzen zu vereinfachen, gehen wir ähnlich zu

---

<sup>2</sup>Wir nehmen außerdem an, dass der Laserfokus breit genug ist, sodass die lokale Variation der Laserleistung nicht berücksichtigt werden muss. In den hier betrachteten Experimenten ist die radiale Verteilung der Leistung ungefähr Gauß-förmig mit einer Breite („full-width at half-maximum“) von 500 nm [129].

den einführenden Beispielen in Kapitel 2 vor und betrachten zunächst das System im Gleichgewicht. Anschließend nehmen wir an, dass das extern angelegte elektrische Potential die Ionenverteilung nicht zu stark verändert. Die Ionenkonzentrationen seien also Boltzmann-verteilt, insbesondere ist dann

$$[\text{H}^+]_S = 10^{-\text{pH}} \text{M} \exp\left(\frac{-eV_0}{kT}\right). \quad (4.11)$$

Darin ist  $V_0$  das Oberflächenpotential der Membran. Wenn (4.11) in (4.10) eingesetzt wird, erhalten wir eine Relation zwischen Oberflächenladung  $\sigma$  und Oberflächenpotential  $V_0$ . Sie folgt aus der Gleichgewichtsreaktion der Silanol-Gruppen und dem Modell der Laserstrahlung.

$$\sigma = \sigma_0 \left\{ 1 + \exp\left(\frac{-\gamma P}{\sigma_0}\right) \left\{ \left\{ 10^{\text{pK}-\text{pH}} \exp\left(\frac{-eV_0}{kT}\right) + 1 \right\}^{-1} - 1 \right\} \right\} \quad (4.12)$$

Eine weitere Beziehung zwischen  $\sigma$  und  $V_0$  folgt aus der Elektroneutralität des Gesamtsystems: die Grahame-Gleichung (2.6). Stellen wir sie nach  $eV_0/kT$  um, folgt

$$\frac{eV_0}{kT} = 2 \operatorname{asinh}\left(\frac{\sigma}{\sqrt{8Nc_0\epsilon kT}}\right). \quad (4.13)$$

Man beachte, dass die Wasserionen  $\text{H}^+$  und  $\text{OH}^-$  in der Grahame-Gleichung unterschlagen wurden und nur  $c_0$  vorkommt. Sie haben einen sehr geringen Anteil an der elektrischen Raumladungsdichte, da  $10^{-\text{pH}} \text{M} \ll c_0$ .

Diese beiden Gleichungen können numerisch gelöst werden. Das Ergebnis ist die Oberflächenladungsdichte  $\sigma$  als Funktion ausschließlich bekannter Parameter oder Fitparameter,  $\sigma(P, \gamma, \text{pK}, \Gamma, \text{pH})$ . Mit dieser Näherung ist es unnötig, die sechs Gleichungen (3.41) auf Seite 47 vollständig zu lösen. Um das Modell an Messungen anzupassen, reicht es, eine konstante homogene Oberflächenladung in den FEM-Rechnungen zu benutzen. Abbildung 4.1 auf Seite 59 zeigt, dass die lokale Oberflächenladungsdichte auch

im Nichtgleichgewicht nur wenig variiert. Insbesondere entspricht sie in etwa der konstanten homogenen Ladungsdichte bei gleicher Porenleitfähigkeit (Abweichungen entlang der Membran und Pore liegen bei circa 5 %).

Um den Porenstrom  $I(P)$  in Abbildung 4.2 an das Modell anzufitten, wird zunächst  $I(\sigma$  konstant und homogen) mittels Comsol berechnet. Die dabei benutzten Parameter sind neben den jeweiligen Porenradien:  $c_0 = 1 \text{ M}$ ,  $V_{\text{ext}} = 300 \text{ mV}$ ,  $H_{\text{Pore}} = 30 \text{ nm}$  [129] und  $D_{\text{KCl},1\text{M}} = 1,5 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$  [126]. Mit der Lösung aus (4.12) und (4.13) kann dann  $I(\sigma(P, \gamma, \text{pK}, \Gamma, \text{pH}))$  angefittet werden. Auf dieser Art erhalten wir nicht nur  $\gamma$ , welches (wie in [129]) ein effektiver Modell-Parameter ist, der die Laser-Membran-Wechselwirkung quantifiziert. Auch die Größen  $\Gamma$  und  $\text{pK}$  können ermittelt werden. Sie bestimmen die elektrische Oberflächenladungsdichte in SiN-Nanoporen und sind damit zwei zentrale Größen jedes Translokationsprozesses. In den bis hierher betrachteten Experimenten wäre es nicht möglich gewesen,  $\Gamma$  und  $\text{pK}$  zu finden.

Abbildung 4.3 vergleicht die schon in 4.2 gezeigten Ionenströme mit dem Modell. Die Fitparameter der Kurven sind

$D$ in nm	$\gamma$ in C/(m <sup>2</sup> W)	$\Gamma$ in 1/nm <sup>2</sup>	pK
4,9	-165	3,1	8,3
5,1	-80	2,9	7,9
5,4	-176	3,2	8,2
6,9	-96	3,4	7,3

Die offensichtliche Gruppierung der Kurven spiegelt sich auch in den gefundenen Oberflächenparametern wider. Die beiden Kurven, die mit einer geringen Elektronendosis gebohrt wurden (gelb und grün), haben eine schwächere Empfänglichkeit für die Bestrahlung,  $\gamma < 100$ . Ebenso ist bei diesen  $\text{pK} < 8$ . Der  $\text{pK}$ -Wert der Oberfläche beschreibt das chemische Gleichgewicht der Oberflächenreaktion, (4.1) und (4.3). Je größer dieser Wert ist, desto mehr ladungsneutralisierende Protonen binden an die Silanol-Gruppen (das Gleichgewicht liegt auf der linken Seite in (4.1)). Betrachtet man die Poren, welche

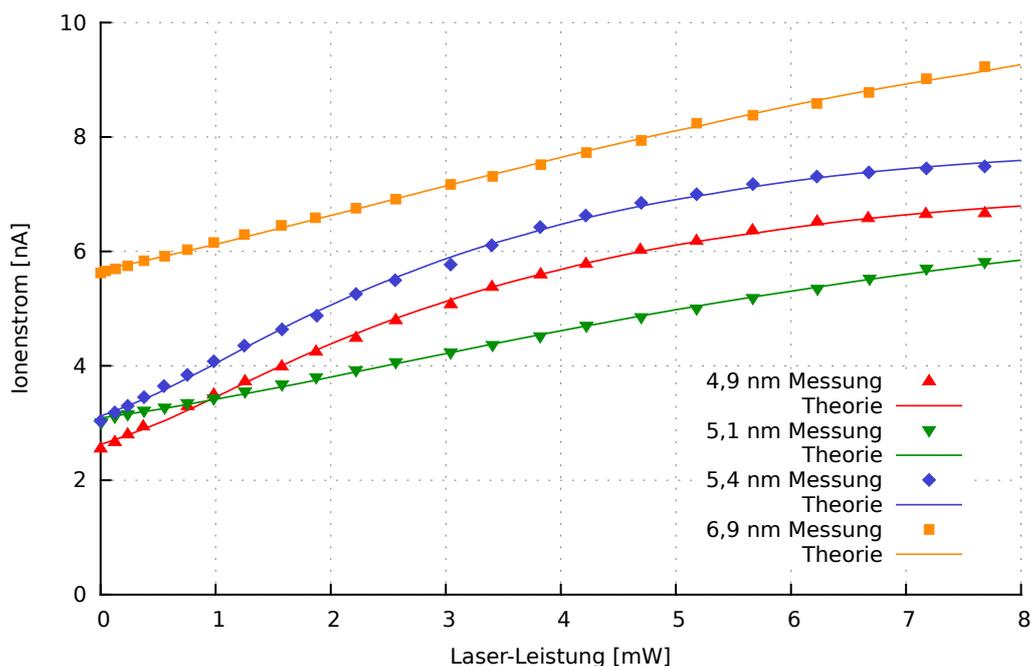


Abbildung 4.3: Vergleich der Messung aus [129] mit dem Modell für verschiedene Porendurchmesser. Die Übereinstimmung von Experiment und Theorie ist sehr gut. Einzige Fitparameter waren  $\gamma$ ,  $\Gamma = -\sigma_0/e$  und pK.

mit einer höheren Elektronendosis gebohrt wurden (rot und blau) genauer, fällt auf, dass sie bei  $P = 0$  mW, unter Berücksichtigung des Porendurchmessers, eine kleinere Leitfähigkeit besitzen als die beiden anderen<sup>3</sup>, also die elektrische Oberflächenladungsdichte geringer sein muss. Da sie einen größeren pK-Wert haben, sind bei ihnen mehr Protonen an den Silanol-Gruppen gebunden. Gleichzeitig reagieren sie deutlich stärker auf die Laserstrahlung,  $\gamma$  ist fast doppelt so hoch im Vergleich zu den beiden anderen Poren. Dieser Parameter  $\gamma$  quantifiziert die Wahrscheinlichkeit, mit der ein Proton von einem Photon aus der Bindung gelöst wird.

<sup>3</sup>Da die Porenradien unterschiedlich sind, kann man diesen Vergleich nicht unmittelbar anstellen. Es fällt jedoch auf, dass die 5,1 nm-Pore (grün) eine gleich große Leitfähigkeit wie die 5,4 nm-Pore (blau) hat, trotz des geringeren Durchmessers. Weiter ist die Leitfähigkeit der 6,9 nm-Pore (gelb) fast doppelt so hoch wie diejenige dieser beiden. Da bei hohen Ionenkonzentrationen die Leitfähigkeit im Bulk dominiert, sollte die Leitfähigkeit mit  $D^2$  skalieren, also nur ca.  $1 - (6,9/5,4)^2 \approx 60\%$  im Vergleich zur blauen Pore zunehmen. Innerhalb der beiden Gruppen stimmen diese durchmesserabhängigen Verhältnisse sehr gut miteinander überein.

Das Bohren einer Pore mit einem Elektronenstrahl reduziert das Verhältnis von Stickstoff zu Silizium [125, 129]. Während die Dichte der Reaktions-Sites  $\Gamma$  scheinbar unabhängig von der Elektronendosis ist, wird  $pK$  und  $\gamma$  hiervon beeinflusst. Dies *suggeriert*, dass die Silanol-Gruppen zwar nicht zunehmen, aber zugänglicher für die Protonen in der Lösung sind und diese von dem Laser auch häufiger gelöst werden, wenn durch die höhere Elektronendosis mehr Stickstoff abgetragen wird. Da die Experimente der Meller-Gruppe [129, 130] bis dato nicht von anderen Arbeitsgruppen reproduziert wurden, ist die Datenbasis leider etwas gering. Präzisere Aussagen werden hoffentlich in naher Zukunft durch weitere Experimente ermöglicht.

Vergleichswerte in der Literatur lassen sich für  $\Gamma$  und  $pK$  leider nur in wenigen Veröffentlichungen finden. Nach [139, 155] gilt für Siliziumdioxid-Oberflächen  $pK = 6$  bis  $8$  und  $\Gamma = 5$  bis  $8/\text{nm}^2$ . Für Siliziumnitrid-Membranen wurde in [142]  $pK = 6,6$  und  $\Gamma = 0,4/\text{nm}^2$  gefunden.

#### 4.4 Reduktion der DNS-Passagezeiten

Wie im vorangegangenen Kapitel 3 erläutert, wird die Kraft auf eine DNS in einer Nanopore maßgeblich von der Elektrokinetik bestimmt und diese wiederum von der elektrischen Ladungsdichte auf der Nanoporenwand. Abbildung 4.2 zeigt auf der rechten Seite, dass die Passagezeiten der DNS schon bei kleiner Laserleistung teilweise um den Faktor 10 verlängert wird. Dies ist unter anderem eine Folge des erhöhten elektroosmotischen Flusses durch die Pore, der der DNS entgegenströmt.

Da im Experiment [129] die relative Verlängerung (Retardation Factor)  $RF(P) = T_{\text{trans}}(P)/T_{\text{trans}}(P = 0)$  der Translokationszeit  $T_{\text{trans}}$  beschrieben wurde, lassen sich die theoretischen Ergebnisse leicht vergleichen. Mit der Translokations-Geschwindigkeit  $v_{\text{trans}}$ , der elektrokinetischen Mobilität der DNS  $\mu_{\text{DNS}}$  und der elektrokinetischen Kraft

$F$  gilt

$$T_{\text{trans}} = \frac{L_{\text{DNS}}}{v_{\text{trans}}} = \frac{L_{\text{DNS}}}{\mu_{\text{DNS}} F} \quad (4.14)$$

und daher

$$\text{RF}(P) = \frac{F(P=0)}{F(P)}. \quad (4.15)$$

Betrachten wir exemplarisch die 5,4 nm-Pore. Die durch die Strommessung ermittelten Parameter benutzen wir, um die  $P$ -abhängige Kraft auf eine DNS in der Pore zu bestimmen. Da wir auch keinen Fit durchführen müssen, lösen wir die Elektrokinetik-Gleichungen vollständig, also einschließlich der zwei Nernst-Planck-Gleichungen für die Protonen und Hydroxid-Ionen. Die Randbedingung für die elektrische Obeflächenladungsdichte  $\sigma$  wird dann durch (4.10) beschrieben. Alle anderen Randbedingungen sind identisch zu denen in Abschnitt 3.2.2. Die verwendeten Parameter für das externe Potential, der Salzkonzentration wurden in Abschnitt 4.3 aufgelistet, sie sind  $c_0 = 1 \text{ M}$ ,  $V_{\text{ext}} = 300 \text{ mV}$ ,  $H_{\text{Pore}} = 30 \text{ nm}$  [129] und  $D_{\text{KCl},1\text{M}} = 1,5 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$  [126]. Das Resultat der Rechnungen zeigt Abbildung 4.4.

An dieser Stelle nähern wir uns der Grenze des Modells der Elektrokinetik, dennoch wollen wir einen Vergleich wagen, wenn auch nur einen qualitativen. Die Gründe hierfür sind, dass die freie Translokation, wie in Kapitel 3 erläutert, ein Prozess sehr fern vom Gleichgewicht ist. Die Geschwindigkeit der DNS wird dabei nicht allein von der Elektrokinetik bestimmt. Das Polymer kann insbesondere auch mit der Porenwand oder sich selbst wechselwirken. Die Mobilität  $\mu_{\text{DNS}}$  in Gleichung (4.14) ist eher eine abstrakte Größe, die eine hypothetische Translokation einer unendlich langen, unendlich steifen DNS beschreibt. Weiterhin sind die Messungen in Abbildung 4.2 zum Teil an anderen Poren, als die oben untersuchten und auch die zur Messung benutzten Polymere unterscheiden sich in der Länge von 400 bis 10 000 bp [129].

Für Abbildung 4.4 wurde die Kraft mit verschiedenen Slip-Längen der DNS berechnet. In Abschnitt 3.2.2 fanden wir  $l_{\text{slip}} = 0,35 \text{ nm}$ . Hier betrachten wir auch andere Werte bis

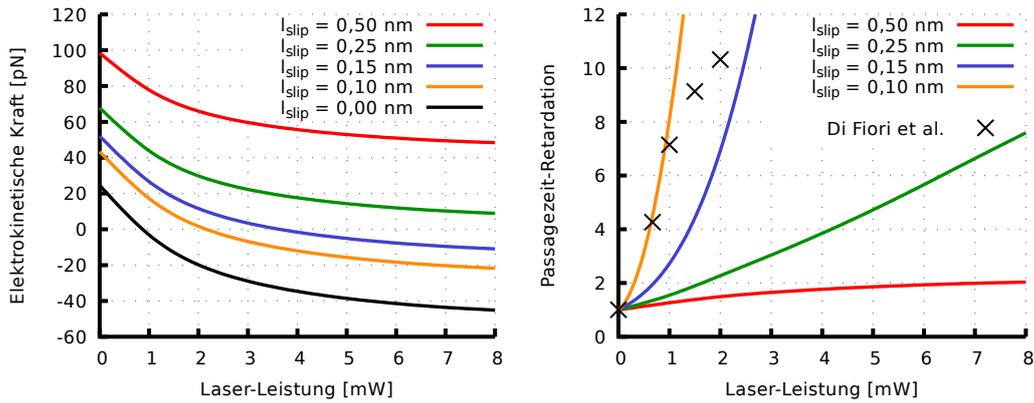


Abbildung 4.4: Der Einfluss der Laserstrahlung auf die Translokation einer DNS durch die 5,4 nm-Pore. *Links*: Die elektrokinetische Kraft auf eine DNS als Funktion der Slip-Länge und Laserleistung. Eine negative Kraft bedeutet, dass sie der Translokation entgegen wirkt. *Rechts*: Der Retardationsfaktor RF, Gleichung (4.15). Die Translokation wird, abhängig von  $l_{\text{slip}}$ , teilweise um einen Faktor 10 verlängert. Die schwarzen Kreuze sind Messungen in der 5,4 nm-Pore aus [129] (vgl. Abb. 4.2).

hin zur No-Slip-Randbedingung um den Einfluss dieser Randbedingung auf die Kraft zu untersuchen. Insbesondere ist die Slip-Länge eine Randbedingung, welche die strukturellen Eigenschaften der Doppelhelix annähert. Dass sie (wie fast alle Parameter in diesem Modell) von anderen Größen des Systems abhängt, ist nicht unwahrscheinlich. Die Persistenzlänge einer dsDNS beispielsweise ist eine Funktion der Salzkonzentration. In Natrium-Chlorid variiert sie von circa 35 nm bei  $c_0 > 1$  M bis 50 nm bei  $c_0 < 0,1$  M [156].

Qualitativ stimmen die Ergebnisse mit den Messungen in Abbildung 4.2 überein. Für die von uns zuvor gefundene  $l_{\text{slip}} = 0,35$  nm verdoppelt sich die Translokationszeit bei circa  $P = 2$  mW (in der Grafik nicht gezeigt). Insbesondere ist deutlich, dass auch hier eine Slip-Länge  $l_{\text{slip}} > 0$  gefunden wird. Im Fall der No-Slip-Randbedingung (schwarze Kurve links) ist die Stokes-Reibungskraft auf die DNS schon für kleine Laserleistungen stärker als die elektrische Kraft und die DNS würde gar nicht durch die Pore fädeln. Durch Variation von  $l_{\text{slip}}$  lassen sich sogar quantitative Übereinstimmungen mit der

Messung (schwarze Kreuze rechts) finden.

## 4.5 Rückblick auf die Kraftmessungen

In diesem Kapitel haben wir ein detaillierteres Bild der Oberflächenladung der Nanopore gewonnen. Daher wenden wir uns noch einmal den Resultaten aus Abschnitt 3.2.3 auf Seite 53 zu. Die Ergebnisse der unbeschichteten Poren ließen sich mit einer Oberflächenladungsdichte zwischen  $\sigma = -60 \text{ mC/m}^2$  und  $\sigma = -160 \text{ mC/m}^2$  beschreiben.

In Abbildung 4.1 auf Seite 59 haben wir gezeigt, dass bei  $c_0 = 20 \text{ mM}$  für  $\Gamma = 2-3/\text{nm}^2$  und  $\text{pK} = 7-8$  die Ladungsdichte  $-\sigma = 25 - 65 \text{ mC/m}^2$  ist. Deutlicher zeigt dies Grafik 4.5. Eine Ladungsdichte  $\sigma = -60 \text{ mC/m}^2$  lässt sich anhand der Grafik aus den Parame-

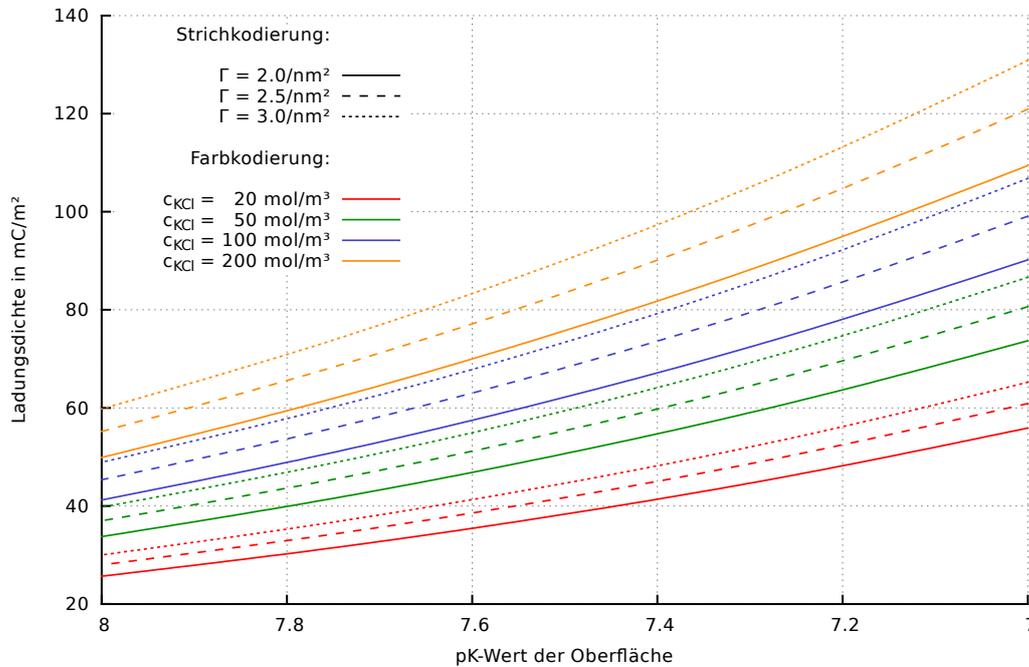


Abbildung 4.5: Die mittlere elektrische Oberflächenladungsdichte einer 20 nm langen und 10 nm durchmessenden Pore für verschiedene Salzkonzentrationen, pK und  $\Gamma$ . Diese Rechnungen wurden an der gleichen Pore berechnet wie die Ergebnisse in Abbildung 4.1. Es wurde das vollständige PNP-Modell, einschließlich der Protonen und Hydroxidionen, ohne externes elektrisches Potential mittels FEM gelöst.

tern  $\Gamma \approx 2 - 3/\text{nm}^2$  und  $\text{pK} \approx 7$  ableiten. Dieser Wertebereich ist vergleichbar mit dem der Membran-Fitparameter aus diesem Kapitel,  $\Gamma \approx 3/\text{nm}^2$  und  $\text{pK} \approx 8$ . Ferner lässt die geringe Varianz von  $\Gamma$  und  $\text{pK}$  in den Strommessungen in Abbildung 4.3 zusammen mit Abbildung 4.5 vermuten, dass die Streuung der Datenpunkte in Abbildung 3.13 nicht auf eine breites Spektrum von  $\Gamma$  und  $\text{pK}$  zurückzuführen ist.

Die Slip-Länge  $l_{\text{slip}} = 3,5 \text{ \AA}$ , welche wir mit den Kraftmessungen gefunden haben, ist zumindest von der gleichen Größenordnung wie diejenige, welche wir mit der Passagezeit der freien Translokation bei Laserbestrahlung bestimmen konnten,  $l_{\text{slip}} = 1 \text{ \AA}$ . Dies ist insofern erstaunlich, dass, wie bereits argumentiert, die freie Translokation ein schneller Prozess, sehr fern vom Gleichgewicht ist [84–87] und somit schon die Grundannahme, die Relation  $v_{\text{trans}} = \mu_{\text{DNS}} F$  aus (4.14) mit  $F$  allein aus der Elektrokinetik und  $\mu_{\text{DNS}} = \text{const.}$ , nicht erfüllt sein muss. Für die Messung der Translokationzeit durch die 5,4 nm-Pore, welche wir in Abbildung 4.4 betrachtet haben um  $l_{\text{slip}} = 1 \text{ \AA}$  zu bestimmen wurden DNS-Segmente der Länge  $400 \text{ bp} \cdot 3,4 \text{ \AA}/\text{bp} = 136 \text{ nm}$  verwendet [129]. Dies ist unwesentlich Länger als eine Kuhn-Länge der DNS, 100 nm. Somit können die DNS-Segmente als starr betrachtet werden, was Wechselwirkungen der DNS mit sich selbst und der Membran reduziert [157] und die Vergleichbarkeit mit den Kraftmessungen aus dem vorangegangenen Kapitel begünstigt.<sup>4</sup>

---

<sup>4</sup>Die anderen Translokationszeitmessungen in Abbildung 4.2 wurden mit DNS-Segmenten durchgeführt, welche länger als 3500 bp sind [129]. In der Publikation [157] wurde diese Länge als Grenze zwischen zwei unterschiedlichen Translokationsverhalten gefunden. Die Translokation längerer Polymere wird von Selbst- und Membran-Wechselwirkungen dominiert, kürzere nicht.

## 5 Zusammenfassung

Wir haben nach einer kurzen Einführung die Kräfte auf eine DNS in Silizium-Nitrid-Nanoporen berechnet. Dabei betrachteten wir nicht nur die Elektrokinetik, sondern auch entropische Kräfte, welche aus der Dynamik eines semiflexiblen Polymers resultieren. Diese bisher unberücksichtigte Komponente der Kraftmessung mit optischen Pinzetten in Nanoporen kann zu wesentlichen Korrekturfaktoren führen. Die Elektrokinetik in Nanoporen wurde in einem Modell beschrieben, das es möglichst vermeidet, effektive Parameter oder Näherungen einzuführen. Darauf fußend konnten Kraftmessungen [45] und Leitfähigkeitsmessungen [129] mit Nanoporenparametern in Bezug gestellt werden. Insbesondere haben wir Oberflächenladungsdichten und Parameter der ihnen zugrunde liegenden chemischen Reaktion bestimmen können, für die in der Literatur bisher nur wenige Referenzen verfügbar sind. Auch, wenn das Modell zuletzt seine Grenzen erreicht hat und die Elektrokinetik allein nicht ausreicht um Passagezeiten frei translokierender Polymere zu beschreiben, wurde ein Einblick in das Wechselspiel zwischen elektrischen Ladungen, Fluidströmungen und DNS in Nanoporen gewonnen. Insbesondere haben wir die laserabhängige Porenleitfähigkeit aus [129] durch ein einfaches Modell vollständig beschreiben können.

Das Kontinuum-Modell aus Poisson-, Nernst-Planck- und Stokes-Gleichungen ist ein etabliertes Werkzeug aktueller Nanoporen-Forschung [72, 152–154]. Besonderheiten des mesoskopischen Systems Nanopore können dem Modell ohne große Schwierigkeiten hinzugefügt werden, seien es chemische Reaktionen, wie in Kapitel 4, sterische Wechsel-

wirkung der Ionen untereinander bei extrem hohen Konzentrationen [158] oder Ionen-DNS-Wechselwirkungen [159]. Auch die Aufhebung der Trennung der Polymerdynamik und der Elektrokinetik erscheint durch das PNP-Modell greifbar. Zum Beispiel, indem die Wechselwirkungen von Polymersegmenten mit elektrischen Ladungen, Wänden und Fluidströmungen zunächst in PNP-Modellen gelöst werden und Brownian-Dynamics-Simulationen in diesen Potentiallandschaften durchgeführt werden [152, 153, 160].

## 6 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei den Menschen bedanken, die mich während meines Studiums der Physik und der anschließenden Promotion unterstützt haben.

Ich danke Professor Dr. Peter Reimann für die ausgezeichnete Betreuung meiner Diplomarbeit und Promotion. Ebenso danke ich Professor Dr. Jürgen Schnack für die Begutachtung dieser Arbeit. Ich danke Kati für die Geduld die sie mit mir während dieser Zeit hatte. Ich danke Thomas, der nicht nur ein guter Kollege sondern auch ein Freund wurde. Und ich danke ganz besonders meinen Eltern, Waltraud und Franz, ohne deren selbstlose Unterstützung nichts davon möglich gewesen wäre.

# Literatur

1. Graw, J. *Genetik* (Springer Berlin Heidelberg, 2010).
2. Watson, J. D. & Crick, F. H. C. Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature* **171**, 737–738 (Apr. 1953).
3. Sanger, F., Air, G. M., Barrell, B. G., Brown, N. L., Coulson, A. R., Fiddes, J. C., Hutchison, C. A., Slocombe, P. M. & Smith, M. Nucleotide sequence of bacteriophage PhiX174 DNA. *Nature* **265**, 687–695 (Feb. 1977).
4. Fleischmann, R., Adams, M., White, O., Clayton, R., Kirkness, E., Kerlavage, A., Bult, C., Tomb, J., Dougherty, B., Merrick, J. & e. al. Whole-genome random sequencing and assembly of Haemophilus influenzae Rd. *Science* **269**, 496–512 (Juli 1995).
5. Human Genome Project Information Archive. *Zuletzt abgerufen 1. Mai 2019* <[https://web.ornl.gov/sci/techresources/Human\\_Genome/](https://web.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/)>.
6. Sanger, F., Nicklen, S. & Coulson, A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **74**, 5463–5467 (Dez. 1977).
7. Sanger, F. & Coulson, A. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *Journal of Molecular Biology* **94**, 441–448 (Mai 1975).

8. Hayden, E. C. Genome sequencing: the third generation. *Nature* **457**, 768–769 (Feb. 2009).
9. National Human Genome Research Institute. *Zuletzt abgerufen 1. Mai 2019* <<http://genome.gov/sequencingcosts>>.
10. Bonetta, L. Genome sequencing in the fast lane. *Nature Methods* **3**, 141–147 (Feb. 2006).
11. Bleidorn, C. Third generation sequencing: technology and its potential impact on evolutionary biodiversity research. *Systematics and Biodiversity* **14**, 1–8 (Dez. 2015).
12. Branton, D., Deamer, D. W., Marziali, A., Bayley, H., Benner, S. A., Butler, T., Ventra, M. D., Garaj, S., Hibbs, A., Huang, X., Jovanovich, S. B., Krstic, P. S., Lindsay, S., Ling, X. S., Mastrangelo, C. H., Meller, A., Oliver, J. S., Pershin, Y. V., Ramsey, J. M., Riehn, R., Soni, G. V., Tabard-Cossa, V., Wanunu, M., Wiggin, M. & Schloss, J. A. The potential and challenges of nanopore sequencing. *Nature Biotechnology* **26**, 1146–1153 (Okt. 2008).
13. Kasianowicz, J. J., Brandin, E., Branton, D. & Deamer, D. W. Characterization of individual polynucleotide molecules using a membrane channel. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **93**, 13770–13773 (Nov. 1996).
14. Butler, T. Z., Pavlenok, M., Derrington, I. M., Niederweis, M. & Gundlach, J. H. Single-molecule DNA detection with an engineered MspA protein nanopore. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **105**, 20647–20652 (Dez. 2008).
15. Li, J., Stein, D., McMullan, C., Branton, D., Aziz, M. J. & Golovchenko, J. A. Ion-beam sculpting at nanometre length scales. *Nature* **412**, 166–169 (Juli 2001).
16. Storm, A. J., Chen, J. H., Zandbergen, H. W. & Dekker, C. Translocation of double-strand DNA through a silicon oxide nanopore. *Physical Review E* **71** (Mai 2005).

17. Garaj, S., Hubbard, W., Reina, A., Kong, J., Branton, D. & Golovchenko, J. A. Graphene as a subnanometre trans-electrode membrane. *Nature* **467**, 190–193 (Aug. 2010).
18. Liu, K., Feng, J., Kis, A. & Radenovic, A. Atomically Thin Molybdenum Disulfide Nanopores with High Sensitivity for DNA Translocation. *ACS Nano* **8**, 2504–2511 (Feb. 2014).
19. Knust, S., Kreft, D., Hillmann, R., Meyer, A., Viefhues, M., Reimann, P. & Anselmetti, D. Measuring DNA Translocation Forces through MoS<sub>2</sub>-Nanopores with Optical Tweezers. *Materials Today: Proceedings* **4**, S168–S173 (2017).
20. Van den Hout, M., Hall, A. R., Wu, M. Y., Zandbergen, H. W., Dekker, C. & Dekker, N. H. Controlling nanopore size, shape and stability. *Nanotechnology* **21**, 115304 (Feb. 2010).
21. Emmrich, D., Beyer, A., Nadzeyka, A., Bauerdick, S., Meyer, J. C., Kotakoski, J. & Götzhäuser, A. Nanopore fabrication and characterization by helium ion microscopy. *Applied Physics Letters* **108**, 163103 (Apr. 2016).
22. Bezrukov, S. M., Vodyanoy, I. & Parsegian, V. A. Counting polymers moving through a single ion channel. *Nature* **370**, 279–281 (Juli 1994).
23. Oxford Nanopore Technology MinION. *Zuletzt abgerufen am 25. Mai 2019* <<https://nanoporetech.com/products/minion>>.
24. Hayden, E. C. Nanopore genome sequencer makes its debut. *Nature* (Feb. 2012).
25. Hoenen, T. *u. a.* Nanopore Sequencing as a Rapidly Deployable Ebola Outbreak Tool. *Emerging Infectious Diseases* **22** (Feb. 2016).
26. Quick, J. *u. a.* Real-time, portable genome sequencing for Ebola surveillance. *Nature* **530**, 228–232 (Feb. 2016).

27. Kasianowicz, J. J., Robertson, J. W., Chan, E. R., Reiner, J. E. & Stanford, V. M. Nanoscopic Porous Sensors. *Annual Review of Analytical Chemistry* **1**, 737–766 (Juli 2008).
28. Howorka, S. & Siwy, Z. Nanopore analytics: sensing of single molecules. *Chemical Society Reviews* **38**, 2360 (2009).
29. Wanunu, M. Nanopores: A journey towards DNA sequencing. *Physics of Life Reviews* **9**, 125–158 (Juni 2012).
30. Frank-Kamenetskii, M. D. DNA nanopore sequencing within the technology landscape. *Physics of Life Reviews* **9**, 167–169 (Juni 2012).
31. Restrepo-Pérez, L., Joo, C. & Dekker, C. Paving the way to single-molecule protein sequencing. *Nature Nanotechnology* **13**, 786–796 (Sep. 2018).
32. Chinappi, M. & Cecconi, F. Protein sequencing via nanopore based devices: a nanofluidics perspective. *Journal of Physics: Condensed Matter* **30**, 204002 (Apr. 2018).
33. Deamer, D., Akeson, M. & Branton, D. Three decades of nanopore sequencing. *Nature Biotechnology* **34**, 518–524 (Mai 2016).
34. Kasianowicz, J. J. & Bezrukov, S. M. On 'three decades of nanopore sequencing'. *Nature Biotechnology* **34**, 481–482 (Mai 2016).
35. Oxford Nanopore Technology, Types of Nanopores: Solid-State Nanopores. *Zuletzt abgerufen am 24. Mai 2019* <<https://nanoporetech.com/how-it-works/types-of-nanopores>>.
36. Maglia, G., Restrepo, M. R., Mikhailova, E. & Bayley, H. Enhanced translocation of single DNA molecules through  $\alpha$ -hemolysin nanopores by manipulation of internal charge. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **105**, 19720–19725 (Dez. 2008).

37. Manrao, E. A., Derrington, I. M., Laszlo, A. H., Langford, K. W., Hopper, M. K., Gillgren, N., Pavlenok, M., Niederweis, M. & Gundlach, J. H. Reading DNA at single-nucleotide resolution with a mutant MspA nanopore and phi29 DNA polymerase. *Nature Biotechnology* **30**, 349–353 (März 2012).
38. Ying, C., Zhang, Y., Feng, Y., Zhou, D., Wang, D., Xiang, Y., Zhou, W., Chen, Y., Du, C. & Tian, J. 3D nanopore shape control by current-stimulus dielectric breakdown. *Applied Physics Letters* **109**, 063105 (Aug. 2016).
39. Wanunu, M. & Meller, A. Chemically Modified Solid-State Nanopores. *Nano Letters* **7**, 1580–1585 (Juni 2007).
40. Yusko, E. C., Johnson, J. M., Majd, S., Prangkio, P., Rollings, R. C., Li, J., Yang, J. & Mayer, M. Controlling protein translocation through nanopores with bio-inspired fluid walls. *Nature Nanotechnology* **6**, 253–260 (Feb. 2011).
41. Smeets, R. M. M., Keyser, U. F., Krapf, D., Wu, M.-Y., Dekker, N. H. & Dekker, C. Salt Dependence of Ion Transport and DNA Translocation through Solid-State Nanopores. *Nano Letters* **6**, 89–95 (Jan. 2006).
42. Graham, M. The Coulter principle: foundation of an industry. *Journal of the Association for Laboratory Automation* **8**, 72–81 (Dez. 2003).
43. Carson, S., Wilson, J., Aksimentiev, A. & Wanunu, M. Smooth DNA Transport through a Narrowed Pore Geometry. *Biophysical Journal* **107**, 2381–2393 (Nov. 2014).
44. Storm, A. J., Storm, C., Chen, J., Zandbergen, H., Joanny, J.-F. & Dekker, C. Fast DNA Translocation through a Solid-State Nanopore. *Nano Letters* **5**, 1193–1197 (Juli 2005).
45. Galla, L., Meyer, A. J., Spiering, A., Sischka, A., Mayer, M., Hall, A. R., Reimann, P. & Anselmetti, D. Hydrodynamic Slip on DNA Observed by Optical Tweezers-

- Controlled Translocation Experiments with Solid-State and Lipid-Coated Nanopores. *Nano Letters* **14**, 4176–4182 (Juni 2014).
46. Sung, W. & Park, P. J. Polymer Translocation through a Pore in a Membrane. *Physical Review Letters* **77**, 783–786 (Juli 1996).
  47. Lubensky, D. K. & Nelson, D. R. Driven Polymer Translocation Through a Narrow Pore. *Biophysical Journal* **77**, 1824–1838 (Okt. 1999).
  48. Reimann, P., Meyer, A. & Getfert, S. On the Lubensky-Nelson Model of Polymer Translocation through Nanopores. *Biophysical Journal* **103**, 889–897 (Sep. 2012).
  49. Muthukumar, M. & Katkar, H. Reading Nanopore Clocks in Single-Molecule Electrophoresis Experiments. *Biophysical Journal* **108**, 17–19 (Jan. 2015).
  50. Meyer, A. J. *Polymertranslokation durch biologische Membrankanäle* Diplomarbeit (Universität Bielefeld, 2012).
  51. Sakaue, T. Nonequilibrium dynamics of polymer translocation and straightening. *Physical Review E* **76** (Aug. 2007).
  52. Rowghanian, P. & Grosberg, A. Y. Force-Driven Polymer Translocation through a Nanopore: An Old Problem Revisited. *The Journal of Physical Chemistry B* **115**, 14127–14135 (Dez. 2011).
  53. Ikonen, T. *Dynamics of Escape and Translocation of Biopolymers* Diss. (Aalto University, 2012).
  54. Muthukumar, M. Translocation of a Confined Polymer through a Hole. *Physical Review Letters* **86**, 3188–3191 (Apr. 2001).
  55. Muthukumar, M. Polymer escape through a nanopore. *The Journal of Chemical Physics* **118**, 5174–5184 (März 2003).

56. Huopaniemi, I., Luo, K., Ala-Nissila, T. & Ying, S.-C. Langevin dynamics simulations of polymer translocation through nanopores. *The Journal of Chemical Physics* **125**, 124901 (Sep. 2006).
57. Muthukumar, M. & Kong, C. Y. Simulation of polymer translocation through protein channels. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **103**, 5273–5278 (März 2006).
58. Spiering, A., Getfert, S., Sischka, A., Reimann, P. & Anselmetti, D. Nanopore Translocation Dynamics of a Single DNA-Bound Protein. *Nano Letters* **11**, 2978–2982 (Juli 2011).
59. Marko, J. F. & Siggia, E. D. Stretching DNA. *Macromolecules* **28**, 8759–8770 (Dez. 1995).
60. Ghosal, S. Electrophoresis of a polyelectrolyte through a nanopore. *Physical Review E* **74** (Okt. 2006).
61. Ghosal, S. Effect of Salt Concentration on the Electrophoretic Speed of a Polyelectrolyte through a Nanopore. *Physical Review Letters* **98** (Juni 2007).
62. Kesselheim, S., Müller, W. & Holm, C. Origin of Current Blockades in Nanopore Translocation Experiments. *Physical Review Letters* **112** (Jan. 2014).
63. Si, W. & Aksimentiev, A. Nanopore Sensing of Protein Folding. *ACS Nano* **11**, 7091–7100 (Juli 2017).
64. Im, W., Seefeld, S. & Roux, B. A Grand Canonical Monte Carlo–Brownian Dynamics Algorithm for Simulating Ion Channels. *Biophysical Journal* **79**, 788–801 (Aug. 2000).
65. Comer, J. & Aksimentiev, A. Predicting the DNA Sequence Dependence of Nanopore Ion Current Using Atomic-Resolution Brownian Dynamics. *The Journal of Physical Chemistry C* **116**, 3376–3393 (Jan. 2012).

66. Tu, B., Bai, S., Lu, B. & Fang, Q. Conic shapes have higher sensitivity than cylindrical ones in nanopore DNA sequencing. *Scientific Reports* **8** (Juni 2018).
67. Getfert, S., Töws, T. & Reimann, P. Reluctance of a neutral nanoparticle to enter a charged pore. *Physical Review E* **88** (Nov. 2013).
68. Davis, M. E. & McCammon, J. A. Electrostatics in biomolecular structure and dynamics. *Chemical Reviews* **90**, 509–521 (Mai 1990).
69. Barcion, V., Chen, D.-P. & Eisenberg, R. S. Ion Flow through Narrow Membrane Channels: Part II. *SIAM Journal on Applied Mathematics* **52**, 1405–1425 (Okt. 1992).
70. Eisenberg, R. Computing the Field in Proteins and Channels. *Journal of Membrane Biology* **150**, 1–25 (März 1996).
71. Corry, B., Kuyucak, S. & Chung, S.-H. Tests of Continuum Theories as Models of Ion Channels. II. Poisson–Nernst–Planck Theory versus Brownian Dynamics. *Biophysical Journal* **78**, 2364–2381 (Mai 2000).
72. Wilson, J., Sarthak, K., Si, W., Gao, L. & Aksimentiev, A. Rapid and Accurate Determination of Nanopore Ionic Current Using a Steric Exclusion Model. *ACS Sensors* **4**, 634–644 (März 2019).
73. Lee, C., Joly, L., Siria, A., Biance, A.-L., Fulcrand, R. & Bocquet, L. Large Apparent Electric Size of Solid-State Nanopores Due to Spatially Extended Surface Conduction. *Nano Letters* **12**, 4037–4044 (Juli 2012).
74. Sischka, A., Galla, L., Meyer, A. J., Spiering, A., Knust, S., Mayer, M., Hall, A. R., Beyer, A., Reimann, P., Götzhäuser, A. & Anselmetti, D. Controlled translocation of DNA through nanopores in carbon nano-, silicon-nitride- and lipid-coated membranes. *The Analyst* **140**, 4843–4847 (2015).
75. Butt, H.-J., Graf, K. & Kappl, M. *Physics and Chemistry of Interfaces* (Wiley-VCH, 2003).

76. Bruus, H. *Theoretical Microfluidics (Oxford Master Series in Physics)* (Oxford University Press, 2007).
77. Kirby, B. J. *Micro- and Nanoscale Fluid Mechanics: Transport in Microfluidic Devices* (Cambridge University Press, 2010).
78. Kim, Y., Grable, J., Love, R., Greene, P. & Rosenberg, J. Refinement of EcoRI endonuclease crystal structure: a revised protein chain tracing. *Science* **249**, 1307–1309 (Sep. 1990).
79. Luan, B. & Aksimentiev, A. Electro-osmotic screening of the DNA charge in a nanopore. *Physical Review E* **78** (Aug. 2008).
80. He, Y., Tsutsui, M., Fan, C., Taniguchi, M. & Kawai, T. Controlling DNA Translocation through Gate Modulation of Nanopore Wall Surface Charges. *ACS Nano* **5**, 5509–5518 (Juni 2011).
81. Van Dorp, S., Keyser, U. F., Dekker, N. H., Dekker, C. & Lemay, S. G. Origin of the electrophoretic force on DNA in solid-state nanopores. *Nature Physics* **5**, 347–351 (März 2009).
82. Sherwood, J. D., Mao, M. & Ghosal, S. Electroosmosis in a Finite Cylindrical Pore: Simple Models of End Effects. *Langmuir* **30**, 9261–9272 (Juli 2014).
83. Wanunu, M., Morrison, W., Rabin, Y., Grosberg, A. Y. & Meller, A. Electrostatic focusing of unlabelled DNA into nanoscale pores using a salt gradient. *Nature Nanotechnology* **5**, 160–165 (Dez. 2009).
84. Sarabadani, J., Ikonen, T. & Ala-Nissila, T. Iso-flux tension propagation theory of driven polymer translocation: The role of initial configurations. *The Journal of Chemical Physics* **141**, 214907 (Dez. 2014).
85. Lehtola, V. V., Linna, R. P. & Kaski, K. Dynamics of forced biopolymer translocation. *EPL (Europhysics Letters)* **85**, 58006 (März 2009).

86. Luo, K., Ala-Nissila, T., Ying, S.-C. & Metzler, R. Driven polymer translocation through nanopores: Slow-vs.-fast dynamics. *EPL (Europhysics Letters)* **88**, 68006 (Dez. 2009).
87. Vollmer, S. C. & de Haan, H. W. Translocation is a nonequilibrium process at all stages: Simulating the capture and translocation of a polymer by a nanopore. *The Journal of Chemical Physics* **145**, 154902 (Okt. 2016).
88. Florin, E., Moy, V. & Gaub, H. Adhesion forces between individual ligand-receptor pairs. *Science* **264**, 415–417 (Apr. 1994).
89. Wang, M., Yin, H., Landick, R., Gelles, J. & Block, S. Stretching DNA with optical tweezers. *Biophysical Journal* **72**, 1335–1346 (März 1997).
90. Sischka, A., Kleimann, C., Hachmann, W., Schäfer, M. M., Seuffert, I., Tönsing, K. & Anselmetti, D. Single beam optical tweezers setup with backscattered light detection for three-dimensional measurements on DNA and nanopores. *Review of Scientific Instruments* **79**, 063702 (Juni 2008).
91. Sischka, A., Spiering, A., Khaksar, M., Laxa, M., König, J., Dietz, K.-J. & Anselmetti, D. Dynamic translocation of ligand-complexed DNA through solid-state nanopores with optical tweezers. *Journal of Physics: Condensed Matter* **22**, 454121 (Okt. 2010).
92. Sanger, F., Coulson, A., Hong, G., Hill, D. & Petersen, G. Nucleotide sequence of bacteriophage lambda DNA. *Journal of Molecular Biology* **162**, 729–773 (Dez. 1982).
93. Cummings, E. B., Griffiths, S. K., Nilson, R. H. & Paul, P. H. Conditions for Similitude between the Fluid Velocity and Electric Field in Electroosmotic Flow. *Analytical Chemistry* **72**, 2526–2532 (Juni 2000).

94. Keyser, U. F., Koeleman, B. N., van Dorp, S., Krapf, D., Smeets, R. M. M., Lemay, S. G., Dekker, N. H. & Dekker, C. Direct force measurements on DNA in a solid-state nanopore. *Nature Physics* **2**, 473–477 (Juli 2006).
95. Gottschalk, W. *Allgemeine Genetik* (Georg Thieme Verlag, 1994).
96. Bloomfield, V. A., Crothers, D. M., Tinoco, I., Hearst, J. E., Wemmer, D. E., Killman, P. A. & Turner, D. H. *Nucleic Acids: Structures, Properties, and Functions* (University Science Books, 2000).
97. Kuhn, W. Über die Gestalt fadenförmiger Moleküle in Lösungen. *Kolloid-Zeitschrift* **68**, 2–15 (Feb. 1934).
98. Doi, M. & Edwards, S. F. *The Theory of Polymer Dynamics* 408 S. (Oxford University Press, 11. Nov. 1988).
99. Kratky, O. & Porod, G. Röntgenuntersuchung gelöster fadenmoleküle. *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas* **68**, 1106–1122 (1949).
100. Khokhlov, A. R. & Grosberg, A. Y. *Statistical Physics of Macromolecules* 382 S. (AIP Press, 13. März 2002).
101. Bustamante, C., Marko, J., Siggia, E. & Smith, S. Entropic elasticity of lambda-phage DNA. *Science* **265**, 1599–1600 (Sep. 1994).
102. Baumann, C. G., Smith, S. B., Bloomfield, V. A. & Bustamante, C. Ionic effects on the elasticity of single DNA molecules. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **94**, 6185–6190 (1997).
103. Hyeon, C., Dima, R. I. & Thirumalai, D. Size, shape, and flexibility of RNA structures. *The Journal of Chemical Physics* **125**, 194905 (Nov. 2006).
104. Berkovich, R., Garcia-Manyes, S., Urbakh, M., Klafter, J. & Fernandez, J. M. Collapse Dynamics of Single Proteins Extended by Force. *Biophysical Journal* **98**, 2692–2701 (Juni 2010).

105. Ghosal, S. Electrokinetic-flow-induced viscous drag on a tethered DNA inside a nanopore. *Physical Review E* **76** (Dez. 2007).
106. Kloeden, P. E. & Platen, E. *Numerical Solution of Stochastic Differential Equations (Stochastic Modelling and Applied Probability)* (Springer, 1992).
107. Knust, S., Spiering, A., Vieker, H., Beyer, A., Götzhäuser, A., Tönsing, K., Sischka, A. & Anselmetti, D. Video-based and interference-free axial force detection and analysis for optical tweezers. *Review of Scientific Instruments* **83**, 103704 (Okt. 2012).
108. Kienberger, F., Pastushenko, V. P., Kada, G., Gruber, H. J., Riener, C., Schindler, H. & Hinterdorfer, P. Static and Dynamical Properties of Single Poly(Ethylene Glycol) Molecules Investigated by Force Spectroscopy. *Single Molecules* **1**, 123–128 (Juni 2000).
109. Krasilnikov, O., Sabirov, R., Ternovsky, V., Merzliak, P. & Muratkhodjaev, J. A simple method for the determination of the pore radius of ion channels in planar lipid bilayer membranes. *FEMS Microbiology Letters* **105**, 93–100 (Sep. 1992).
110. Tinland, B., Pluen, A., Sturm, J. & Weill, G. Persistence length of single-stranded DNA. *Macromolecules* **30**, 5763–5765 (1997).
111. Mills, J. B., Vacano, E. & Hagerman, P. J. Flexibility of single-stranded DNA: use of gapped duplex helices to determine the persistence lengths of Poly(dT) and Poly(dA). *Journal of Molecular Biology* **285**, 245–257 (Jan. 1999).
112. Chen, H., Meisburger, S. P., Pabit, S. A., Sutton, J. L., Webb, W. W. & Pollack, L. Ionic strength-dependent persistence lengths of single-stranded RNA and DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **109**, 799–804 (Dez. 2011).
113. Bosco, A., Camunas-Soler, J. & Ritort, F. Elastic properties and secondary structure formation of single-stranded DNA at monovalent and divalent salt conditions. *Nucleic Acids Research* **42**, 2064–2074 (Nov. 2013).

114. Wang, Y. *Nanomechanics of DNA-ligand interaction investigated with magnetic tweezers* Diss. (Universität Bielefeld, 2017).
115. Galla, L. *Nanopore modifications with lipid bilayer membranes for optical tweezers DNA force measurements* Diss. (Universität Bielefeld, 2015).
116. Bayerl, T. & Bloom, M. Physical properties of single phospholipid bilayers adsorbed to micro glass beads. A new vesicular model system studied by <sup>2</sup>H-nuclear magnetic resonance. *Biophysical Journal* **58**, 357–362 (Aug. 1990).
117. Miller, C. E., Majewski, J., Gog, T. & Kuhl, T. L. Characterization of Biological Thin Films at the Solid-Liquid Interface by X-Ray Reflectivity. *Physical Review Letters* **94** (Juni 2005).
118. Lu, B., Hoogerheide, D. P., Zhao, Q. & Yu, D. Effective driving force applied on DNA inside a solid-state nanopore. *Physical Review E* **86** (Juli 2012).
119. Parsegian, A. Energy of an Ion crossing a Low Dielectric Membrane: Solutions to Four Relevant Electrostatic Problems. *Nature* **221**, 844–846 (März 1969).
120. Bonthuis, D. J., Zhang, J., Hornblower, B., Mathé, J., Shklovskii, B. I. & Meller, A. Self-Energy-Limited Ion Transport in Subnanometer Channels. *Physical Review Letters* **97** (Sep. 2006).
121. Das, S., Dubsky, P., van den Berg, A. & Eijkel, J. C. T. Concentration Polarization in Translocation of DNA through Nanopores and Nanochannels. *Physical Review Letters* **108** (März 2012).
122. Sader, J. E. & Chan, D. Y. C. Long-Range Electrostatic Attractions between Identically Charged Particles in Confined Geometries and the Poisson-Boltzmann Theory. *Langmuir* **16**, 324–331 (Jan. 2000).
123. Bazant, M. Z. & Squires, T. M. Induced-charge electrokinetic phenomena. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **15**, 203–213 (Juni 2010).

124. Kowalczyk, S. W., Grosberg, A. Y., Rabin, Y. & Dekker, C. Modeling the conductance and DNA blockade of solid-state nanopores. *Nanotechnology* **22**, 315101 (Juli 2011).
125. Wu, M.-Y., Smeets, R. M. M., Zandbergen, M., Ziese, U., Krapf, D., Batson, P. E., Dekker, N. H., Dekker, C. & Zandbergen, H. W. Control of Shape and Material Composition of Solid-State Nanopores. *Nano Letters* **9**, 479–484 (Jan. 2009).
126. *CRC Handbook of Chemistry and Physics, 96th Edition (CRC Handbook of Chemistry & Physics)* (CRC Press, 2015).
127. Jackson, J. D., Witte, C. & Muller, K. *Klassische Elektrodynamik (Überarbeitete Auflage) (German Edition)* (Walter de Gruyter, 2006).
128. Masliyah, J. H. & Bhattacharjee, S. *Electrokinetic and Colloid Transport Phenomena* (Wiley-Interscience, 2006).
129. Fiori, N. D., Squires, A., Bar, D., Gilboa, T., Moustakas, T. D. & Meller, A. Optoelectronic control of surface charge and translocation dynamics in solid-state nanopores. *Nature Nanotechnology* **8**, 946–951 (Nov. 2013).
130. Assad, O. N., Fiori, N. D., Squires, A. H. & Meller, A. Two Color DNA Barcode Detection in Photoluminescence Suppressed Silicon Nitride Nanopores. *Nano Letters* **15**, 745–752 (Dez. 2014).
131. Bocquet, L. & Barrat, J.-L. Flow boundary conditions from nano- to micro-scales. *Soft Matter* **3**, 685 (2007).
132. *COMSOL Multiphysics Reference Manual Version 5.1*. Comsol, Inc. (2015). <[www.comsol.com](http://www.comsol.com)>.
133. Chan, D. Y. C. & Horn, R. G. The drainage of thin liquid films between solid surfaces. *The Journal of Chemical Physics* **83**, 5311–5324 (Nov. 1985).

134. Georges, J. M., Millot, S., Loubet, J. L. & Tonck, A. Drainage of thin liquid films between relatively smooth surfaces. *The Journal of Chemical Physics* **98**, 7345–7360 (Mai 1993).
135. Raviv, U. Fluidity of Bound Hydration Layers. *Science* **297**, 1540–1543 (Aug. 2002).
136. Li, T.-D., Gao, J., Szoszkiewicz, R., Landman, U. & Riedo, E. Structured and viscous water in subnanometer gaps. *Physical Review B* **75** (März 2007).
137. Bocquet, L. & Charlaix, E. Nanofluidics, from bulk to interfaces. *Chem. Soc. Rev.* **39**, 1073–1095 (2010).
138. Stofer, E. & Lavery, R. Measuring the geometry of DNA grooves. *Biopolymers* **34**, 337–346 (März 1994).
139. Behrens & Grier. The Charge of Glass and Silica Surfaces. *Journal of Chemical Physics* **115**, 6716 (2001).
140. Stein, D., Kruithof, M. & Dekker, C. Surface-Charge-Governed Ion Transport in Nanofluidic Channels. *Physical Review Letters* **93** (Juli 2004).
141. Kirby, B. J. & Hasselbrink, E. F. Zeta potential of microfluidic substrates: 1. Theory, experimental techniques, and effects on separations. *ELECTROPHORESIS* **25**, 187–202 (Jan. 2004).
142. Hoogerheide, D. P., Garaj, S. & Golovchenko, J. A. Probing Surface Charge Fluctuations with Solid-State Nanopores. *Physical Review Letters* **102**, 256804 (2009).
143. Andersen, M. B., Frey, J., Pennathur, S. & Bruus, H. Surface-dependent chemical equilibrium constants and capacitances for bare and 3-cyanopropyltrimethylchlorosilane coated silica nanochannels. *Journal of Colloid and Interface Science* **353**, 301–310 (Jan. 2011).

144. Ghislain, L. P., Switz, N. A. & Webb, W. W. Measurement of small forces using an optical trap. *Review of Scientific Instruments* **65**, 2762–2768 (Sep. 1994).
145. Zhang, X. G. *Electrochemistry of Silicon and Its Oxide* (Kluwer Academic Publishers/Plenum Publishers, New York, 2001).
146. Matsuo, T. & Esashi, M. Methods of ISFET Fabrication. *Sensors and Actuators* **1**, 77 (1981).
147. Watson, S., Nie, M., Wang, L. & Stokes, K. Challenges and developments of self-assembled monolayers and polymer brushes as a green lubrication solution for tribological applications. *RSC Advances* **5**, 89698 (2015).
148. Robertson, J. & Powell, M. J. Gap states in silicon nitride. *Applied Physics Letters* **44**, 415–417 (Feb. 1984).
149. Robertson, J., Warren, W. & Kanicki, J. Nature of the Si and N dangling bonds in silicon nitride. *Journal of Non-Crystalline Solids* **187**, 297–300 (Juli 1995).
150. Deshpande, S. V., Gulari, E., Brown, S. W. & Rand, S. C. Optical properties of silicon nitride films deposited by hot filament chemical vapor deposition. *Journal of Applied Physics* **77**, 6534–6541 (Juni 1995).
151. Moustakas, T. D. The role of extended defects on the performance of optoelectronic devices in nitride semiconductors. *physica status solidi (a)* **210**, 169–174 (Nov. 2012).
152. Wells, C. C., Melnikov, D. V. & Gracheva, M. E. Brownian dynamics of a neutral protein moving through a nanopore in an electrically biased membrane. *The Journal of Chemical Physics* **150**, 115103 (März 2019).
153. Jou, I. A., Melnikov, D. V. & Gracheva, M. E. Protein permeation through an electrically tunable membrane. *Nanotechnology* **27**, 205201 (Apr. 2016).

154. Wells, C. C., Jou, I. A., Melnikov, D. V. & Gracheva, M. E. Nanopore gating with an anchored polymer in a switching electrolyte bias. *The Journal of Chemical Physics* **144**, 104901 (März 2016).
155. Van der Heyden, F. H. J., Stein, D. & Dekker, C. Streaming Currents in a Single Nanofluidic Channel. *Physical Review Letters* **95** (Sep. 2005).
156. Brunet, A., Tardin, C., Salomé, L., Rousseau, P., Destainville, N. & Manghi, M. Dependence of DNA Persistence Length on Ionic Strength of Solutions with Monovalent and Divalent Salts: A Joint Theory–Experiment Study. *Macromolecules* **48**, 3641–3652 (Mai 2015).
157. Wanunu, M., Sutin, J., McNally, B., Chow, A. & Meller, A. DNA Translocation Governed by Interactions with Solid-State Nanopores. *Biophysical Journal* **95**, 4716–4725 (Nov. 2008).
158. Chaudhry, J. H., Comer, J., Aksimentiev, A. & Olson, L. N. A Stabilized Finite Element Method for Modified Poisson-Nernst-Planck Equations to Determine Ion Flow Through a Nanopore. *Communications in Computational Physics* **15**, 93–125 (Jan. 2014).
159. Weik, F., Szuttor, K., Landsgesell, J. & Holm, C. Modeling the current modulation of dsDNA in nanopores – from mean-field to atomistic and back. *The European Physical Journal Special Topics* **227**, 1639–1655 (März 2019).
160. Kim, J. M. & Doyle, P. S. A Brownian dynamics-finite element method for simulating DNA electrophoresis in nonhomogeneous electric fields. *The Journal of Chemical Physics* **125**, 074906 (Aug. 2006).