

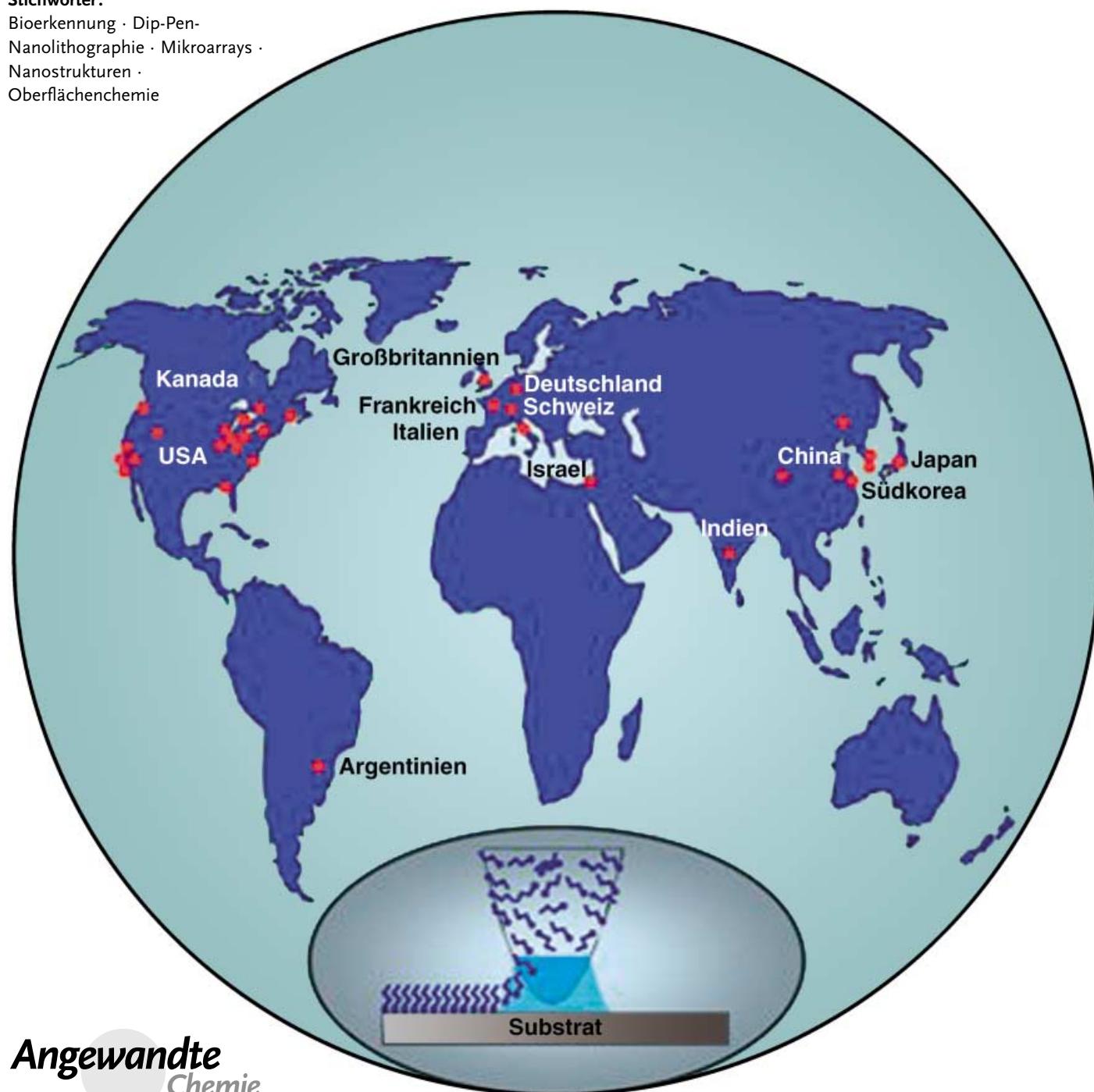
Nanolithographie

# Zur Entwicklung der Dip-Pen-Nanolithographie

David S. Ginger, Hua Zhang und Chad A. Mirkin\*

Stichwörter:

Bioerkennung · Dip-Pen-Nanolithographie · Mikroarrays · Nanostrukturen · Oberflächenchemie



Die Möglichkeit zur gezielten Manipulation der chemischen Zusammensetzung und Struktur einer Oberfläche auf der Längenskala von 1 bis 100 nm ist von zentraler Bedeutung für einen breiten Bereich der nanotechnologischen Forschung, angefangen mit Studien zur elektronischen Leitfähigkeit, über die Katalyse hin zur biologischen Erkennung. Die Dip-Pen-Nanolithographie (DPN) ist eine neue Direktschreibmethode mit einem Kraftfeldmikroskop zur Erzeugung einer strukturierten chemischen Funktionalität auf einer Oberfläche im Sub-100-nm-Bereich. In diesem Aufsatz stellen wir das Prinzip der DPN vor und betrachten die Entwicklungen der letzten Jahre. Die Themen erstrecken sich von der Entwicklung neuer DPN-kompatibler Materialien über experimentelle und theoretische Untersuchungen der Prozesse, die den Spitz-Substrat-Transport der Tinte steuern, bis hin zur Implementierung von mikroelektromechanischen Systemen (MEMs) für DPN-Parallelanwendungen.

## 1. Einleitung

Die Entwicklung von Methoden, die die Steuerung der Oberflächenchemie im Längsbereich von 1 bis 100 nm ermöglichen, ist eine zentrale Aufgabe der Nanowissenschaften. Die Perspektiven, die sich daraus ergeben, sind für eine ganze Reihe von Forschungsgebieten von Bedeutung, von der molekularen Elektronik über die Biomedizin bis hin zur Katalyse. Zahlreiche Forscher haben sich seit der Erfindung des Rastertunnelmikroskops (STM) und dessen Abkömlingen (darunter das Kraftfeldmikroskop, AFM) diesem Thema gewidmet. Serielle STMs unter Ultrahochvakuum- und Tieftemperaturbedingungen wurden zur akribischen, schrittweisen Erzeugung von ausgefeilten Strukturen genutzt. Andere wiederum bedienten sich STM- und AFM-Methoden, um Nanostrukturen auf Oberflächen aufzuxidieren, einzukratzen oder einzutzen. Solche Techniken fanden bedeutende Anwendungen, beschränken sich aber im Allgemeinen auf das Wachstum dünner Oxidfilme auf einigen ausgewählten Metall- und Halbleiteroberflächen oder auf mehrstufige Ätz-Auffüll-Prozeduren, die nicht ohne Weiteres auf die Parallelrasterung von Mehrkomponenten-Nanostrukturen übertragen werden können.

1999 wurde die Dip-Pen-Nanolithographie (DPN) als neue Methode zur Erzeugung von Nanostrukturen auf Oberflächen vorgestellt.<sup>[1]</sup> Die DPN ist eine lithographische Direktschreibtechnik, bei der eine AFM-Spitze chemische Reagenzien direkt an nanoskopische Bereiche auf einem

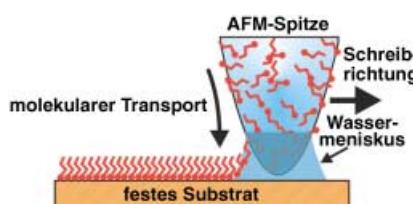


Abbildung 1. Prinzip der DPN: Ein Wassermeniskus bildet sich zwischen der mit Tintenmolekülen überzogenen AFM-Spitze und dem festen Substrat. Wiedergabe nach Lit. [1].

## Aus dem Inhalt

1. Einleitung	31
2. Anwendungen der Dip-Pen-Nanolithographie	33
3. Tintentransport: Experiment und Theorie	40
4. Entwicklung einer Hochdurchsatz-Dip-Pen-Nanolithographie	42
5. Zusammenfassung und Ausblick	44

Zielsubstrat abgibt (Abbildung 1). In ersten Studien wurde DPN genutzt, um Muster aus selbstorganisierten

Monoschichten (self-assembled monolayers, SAMs) aus Alkanthiol auf Goldoberflächen mit hoher Auflösung aufzubringen (Abbildung 2 A, B).<sup>[1-3]</sup> Darüber hinaus konnten mit dieser Technik Muster aus unterschiedlichen chemischen Spezies mit Sub-100-nm-Ausrichtung erzeugt werden. Mit DPN erzeugte SAMs weisen eine hohe Qualität auf (kristallin im Fall von Octadecanthiol (ODT) und Mercaptohexadecansäure (MHA; 16-Sulfanyhexadecansäure)) und können als Ätzresiste eingesetzt werden, sodass sowohl Metall- als auch Halbleiter nanostrukturen mit DPN erzeugt werden können.<sup>[4]</sup> Diese Technik ist inzwischen soweit ausgefeilt, dass sich eine

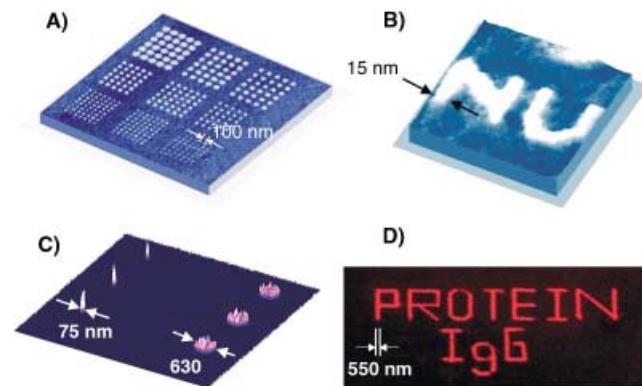


Abbildung 2. A) Punktmuster aus Mercaptohexadecansäure (MHA)-Molekülen (MHA = 16-Sulfanyhexadecansäure), geschrieben mit DPN auf eine polykristalline Au-Oberfläche.<sup>[5]</sup> B) Nanolettern aus MHA-Molekülen, geschrieben mit DPN auf eine Au(111)-Oberfläche.<sup>[2]</sup> C) Transmissions-AFM-Bild von 25 und 13 nm großen Au-Nanopartikeln, die mit DNA-Templaten auf der Oberfläche (erzeugt mit Direktschreib-DPN) hybridisiert wurden; D) Fluoreszenzbild eines fluoreszenzmarkierten IgG-Musters, erzeugt durch Direktschreib-DPN.<sup>[4]</sup>

[\*] Prof. D. S. Ginger, Dr. H. Zhang, Prof. C. A. Mirkin  
Department of Chemistry  
Northwestern University

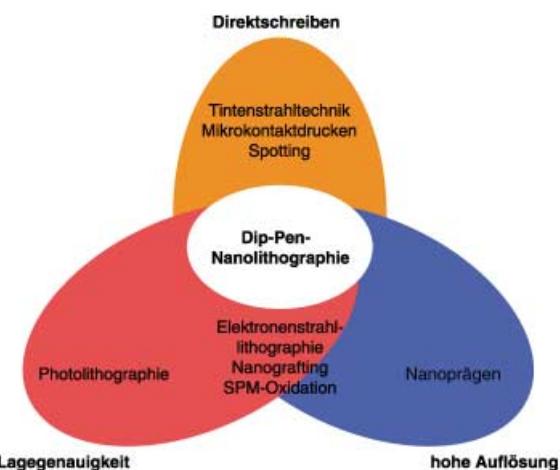
2145 Sheridan Road, Evanston, IL 60208-3113 (USA)  
Fax: (+1) 847-467-5123  
E-mail: camirkin@chem.northwestern.edu

**Tabelle 1:** Überblick über die beschriebenen Tinte-Substrat-Kombinationen für die DPN.

Tinte	Substrat	Bemerkung	Literatur
Alkylthiole (z. B. ODT, MHA)	Au	Auflösung von 15 nm mit scharfen Kontaktspitzen auf Einkristalloberflächen und von <50 nm auf polykristallinen Oberflächen	[1–7, 22, 23, 33, 87, 92, 110, 111]
Ferrocenylthiole	Au	redoxaktive Nanostrukturen	[59]
Silazane	SiO <sub>x</sub> , GaAs	Strukturierung von Oxidoberflächen	[81, 111]
Proteine	Au, SiO <sub>x</sub>	Direktschreibung und indirekte Anbindung	[3b, 10, 11, 30, 34, 46, 47, 67, 77, 111]
konjugierte Polymere	SiO <sub>x</sub>	Polymerabscheidung spektroskopisch und elektrochemisch verifiziert	[8–10]
DNA	Au, SiO <sub>x</sub>	empfindlich gegen Luftfeuchtigkeit und Spitzen-silanisierende Bedingungen	[12, 64]
Fluoreszenzfarbstoffe	SiO <sub>x</sub>	lumineszente Muster	[10, 68]
Sole	SiO <sub>x</sub>	Festphasenmerkmale	[17, 18, 112]
Metallsalze	Si, Ge	elektrochemische und stromlose Abscheidung	[14–16]
kolloidale Partikel	SiO <sub>x</sub>	Abscheidung einer viskosen Lösung von der Kontaktspitze	[13, 31, 65]
Alkine	Si	C-Si-Kupplung	[66]
Alkoxysilane	SiO <sub>x</sub>	Kontrolle der Umgebungsfeuchtigkeit wichtig	[109, 111]
ROMP-Materialien	SiO <sub>x</sub>	Arrays von Polymerbürsten	[108]

Vielfalt an hoch aufgelösten Metall- und Halbleiterstrukturen mit steuerbarer Oberflächenchemie herstellen lässt.<sup>[5,6]</sup> In jüngeren Studien wurde die DPN zur Rasterung unterschiedlicher „Tinte-Substrat-Kombinationen“ weiterentwickelt. Die DPN ist mit vielen Tinten kompatibel, angefangen von kleinen organischen Molekülen<sup>[1–7, 109–111]</sup> bis hin zu organischen<sup>[8–10]</sup> und Biopolymeren<sup>[11, 12]</sup> (Abbildung 2 C, D) und von Kolloid-Partikeln<sup>[13, 31, 65]</sup> über Metallionen<sup>[14–16]</sup> bis hin zu Solen.<sup>[17, 18, 112]</sup> Metalle und Isolatoren lassen sich ebenso strukturieren wie funktionelle Monoschichten auf einer Vielzahl von Oberflächen. Wir konnten sogar zeigen, dass die DPN zur ortsspezifischen Zugabe von Monomeren in einer lebenden Polymerisation eingesetzt werden kann.<sup>[108]</sup> Ein Überblick über die unterschiedlichen Tinten und Substrate findet sich in Tabelle 1; in Abschnitt 2 wird eine Reihe dieser Systeme diskutiert.

Als vielleicht einzige direkte Lithographietechnik mit hoher Auflösung und Lagegenauigkeit (Abbildung 3) bietet sich die DPN als attraktive Methode zur Erzeugung von Mustern aus biologischen und „weichen“ organischen Strukturen auf Oberflächen an. Solche Materialien lassen sich unter Umgebungs- oder Inertbedingungen abscheiden, ohne sie einer ionisierenden UV-Strahlung oder einem Elektronenstrahl auszusetzen. Weiter kann eine Vielzahl unterschiedlicher Reagentien abgeschieden werden, ohne das



**Abbildung 3:** Vergleich der Leistungsfähigkeit von DPN mit anderen lithographischen Methoden. SPM = Rastersondenmikroskopie.

Substrat aggressiven Solventien oder chemischen Ätzungsmitteln auszusetzen und ohne eine Kreuzkontaminierung zu riskieren. Die gewünschte Chemie findet exakt dort statt, wo es beabsichtigt wurde.<sup>[7]</sup>

Aufgrund dieser Vorteile begannen viele Forschungsgruppen, sich an der Entwicklung der DPN zu beteiligen. Dutzende von Laboratorien beschäftigen sich zurzeit mit der



Chad A. Mirkin erwarb 1986 seinen B.S. in Chemie am Dickinson College und promovierte 1989 in Chemie an der Pennsylvania State University. Nach einem Postdoc-Aufenthalt (NSF Fellow) am Massachusetts Institute of Technology wechselte er an die Northwestern University, wo er zurzeit George B. Rathmann Professor of Chemistry und Direktor des Institute of Nanotechnology ist. Er ist Leiter einer multidisziplinären Forschungsgruppe, die sich mit der Chemie und Physik von nanoskaligen Architekturen in Lösung und auf Oberflächen befasst. Zu seinen zahlreichen Auszeichnungen gehören der Feynman Prize und der ACS Award in Pure Chemistry. Er wurde kürzlich zum Fellow der AAAS gewählt.



David S. Ginger erwarb 1997 B.S.-Grade in Chemie und Physik an der Indiana University. Er erhielt ein British Marshall Scholarship und ein NSF Graduate Fellowship und promovierte 2001 in Physik in der Optoelectronics Group an der University of Cambridge, Großbritannien. Danach schloss er sich als Postdoc (NIH und DuPont Fellow) der Arbeitsgruppe von Prof. Mirkin an der Northwestern University an. Zurzeit ist er Assistant Professor für Chemie an der University of Washington in Seattle. Seine Forschungen konzentrieren sich auf die physikalische Chemie von Nanomaterialien.

Untersuchung und Entwicklung der DPN oder setzen DPN als Methode in der Forschung ein.<sup>[8,10,11,13,15,16,19–32]</sup> Die Themen reichen von den Grundlagen des Spitze-Substrat-Transports der Tinte<sup>[21–23,33]</sup> über die direkte Abscheidung metallischer Strukturen und die Entwicklung einer elektrochemischen DPN<sup>[8,15]</sup> bis zur Abscheidung von Biomolekülen<sup>[12,30,34]</sup> und die Organisation von Biopolymeren durch DPN.<sup>[11]</sup>

## 2. Anwendungen der Dip-Pen-Nanolithographie

Es ist oft schwierig, den Entwicklungsweg vorherzusagen, den eine neu aufkommende Technik einschlägt. Betrachtet man die neuere Literatur, so finden sich unterschiedliche Wissenschafts- und Technikbereiche, in denen die DPN wohl einen wichtigen Einfluss ausüben wird (außer diesen gibt es aber gewiss noch viele weitere Anwendungen, die nur auf ein Proof-of-Concept-Experiment warten). In diesem Abschnitt konzentrieren wir uns auf vier Bereiche, die nach unserer Auffassung von den einzigartigen Möglichkeiten der DPN besonders profitieren werden: Erzeugung von strukturierten Mikro- und Nanoarrays aus Biomolekülen (Abschnitt 2.1), der Aufbau maßgeschneiderter chemischer Oberflächen zur Untersuchung und Steuerung von Bioerkennungsprozessen auf molekularem bis hin zum zellulären Niveau (Abschnitt 2.2), die Erzeugung chemischer Template zur orthogonalen Anbindung von Molekülen auf Oberflächen (Abschnitt 2.3) und der schnelle Prototypenbau („rapid prototyping“) zur Erzeugung „harter“ Nanostrukturen durch chemisches Ätzen auf einer ähnlichen oder gar verbesserten Längenskala als mit der Elektronenstrahlolithographie (Abschnitt 2.4). Der Einsatz von DPN bei In-situ-Untersuchungen der Oberflächenreaktivität und der Austauschchemie werden in Abschnitt 3 diskutiert.

### 2.1. Biomolekulare Mikro- und Nanoarrays

Als eine Direktschreibtechnik eignet sich die DPN besonders gut zur Erzeugung von Mustern aus biologischen Molekülen auf einer Oberfläche. Mit einer Auflösungsgrenze, die um Größenordnungen besser ist als die alternativer



Hua Zhang erwarb 1992 seinen B.S. und 1995 seinen M.S. in Chemie an der Universität Nanjing (China) und promovierte 1998 in Physikalischer Chemie an der Universität Peking unter der Anleitung von Prof. Zhong-fan Liu und Prof. Xiaoje Xu. Nach einem Aufenthalt als Research Associate (kraftmikroskopische Studien mit Einzeldendrimeren) in der Arbeitsgruppe von Prof. F. C. De Schryver in Leuven, Belgien, wechselte er 2001 als Postdoc in die Gruppe von Prof. Mirkin an der Northwestern University, wo er sich mit der Dip-Pen-Nanolithographie zur Herstellung von metallischen Nanostrukturen durch nasschemisches Ätzen beschäftigte. Inzwischen arbeitet er als Forscher bei Nanolink, Inc.

Roboter-Spotting- oder photolithographischer Techniken, hat die DPN das Potenzial, die Technologie biomolekularer Oberflächen-Assays zu revolutionieren, z. B. bei der Detektion von auf Arrays aufgebrachter DNA, kleinen Molekülen und Proteinen. Solche Mikroarrays im Chip-Format haben mittlerweile in nahezu alle Bereiche der medizinischen Forschung Eingang gefunden.<sup>[35–41]</sup> Die Leistungsfähigkeit von cDNA- und Oligonucleotid-Arrays bei der Quantifizierung der Genexpression und der Genomstruktur (z. B. durch Bestimmung von Punktmutationen (single nucleotide polymorphisms, SNPs)) führte zu ihrem Einsatz in der Onkologie,<sup>[38]</sup> in der Pathologie von Infektionskrankheiten,<sup>[39]</sup> in der Neurologie<sup>[40]</sup> und in den Pharmacogenomics,<sup>[39,41]</sup> um nur einige Beispiele zu nennen. Protein-Mikroarrays sind zwar gegenwärtig weniger ausgereift und technisch schwieriger umzusetzen als DNA-Arrays, werden aber ebenfalls intensiv erforscht.<sup>[42]</sup>

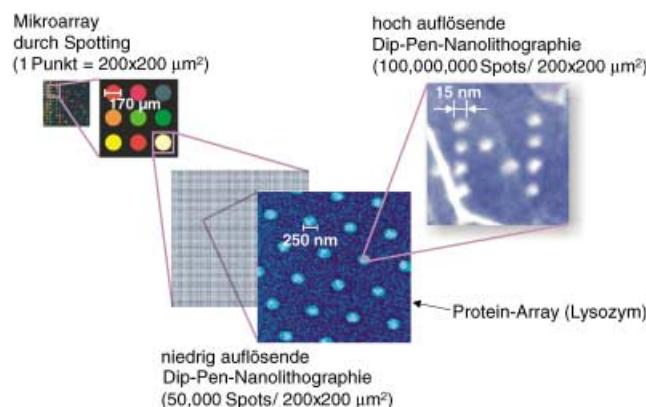


Abbildung 4. Vorteile des Auflösungsvermögens von DPN bei der Fertigung von biomolekularen Nanoarrays.

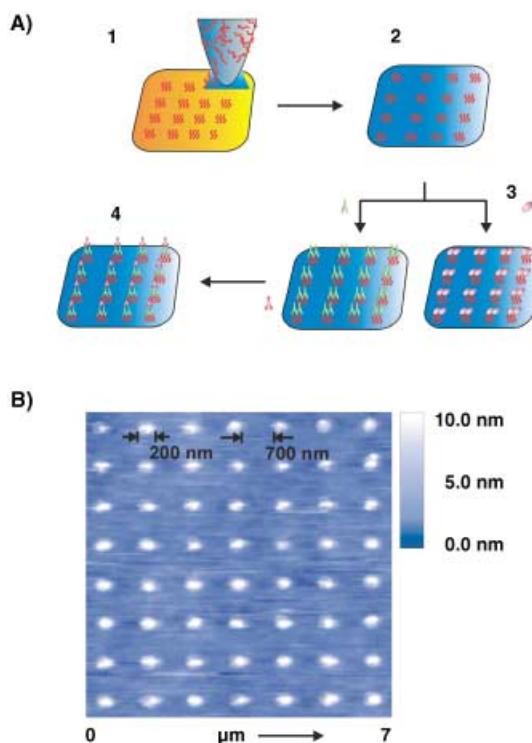
Im Hinblick auf die Array-Fertigung und den Screening-Prozess sind die Vorteile der hohen Auflösung durch DPN vor allem aus zwei Gründen interessant (Abbildung 4): Zunächst ermöglicht der Einsatz der DPN eine 10000- bis 100000fache Vergrößerung der Flächendichte. Mit einem geeigneten Leseschema würden solche Dichten das Screening einer entsprechend größeren Zahl an Zielmolekülen ermöglichen, oder aber – als womöglich noch größerer, unmittelbarer Vorteil – das Screening einer bestimmten Zahl von Zielmolekülen mit einem entsprechend kleineren Probenvolumen in kürzerer Zeit. Es ist vorstellbar, in Zukunft ein gesamtes menschliches Genom auf einem einzigen Chip mithilfe von Tiling-Methoden nach Punktmutationen zu durchsuchen.<sup>[36]</sup> Eine solche Anwendung würde nach dem derzeitigen Stand der Chip-Technik (20-μm-Strukturen) über 10000 konventionelle Genchips erfordern, was bedeuten würde, dass eine Fläche von der Größe eines Autostellplatzes bedruckt und durchmustert werden müsste. Bei einer Spot-Größe von 150 nm jedoch wäre ein solch ehrgeiziges Experiment mit einem einzigen 2 × 2-cm<sup>2</sup>-Chip möglich. Wenngleich zuvor enorme Fortschritte in der Bioinformatik erforderlich wären, um das Design und die Dateninterpretation eines solchen Arrays zu ermöglichen, sei doch hervorgehoben, dass an eine solche Anwendung mit den derzeitigen Mikrotech-

niken wegen der benötigten großen Chip-Flächen und Probevolumina nicht einmal zu denken ist.

Der zweite Vorteil einer hoch auflösenden Strukturierungsmethode besteht darin, dass sie die Entwicklung von hoch auflösenden Hochdurchsatz-Methoden nicht nur notwendig macht, sondern auch erheblich erleichtern würde. Während derzeitige Nachweismethoden für das Screening hochdichter Arrays ungeeignet sind, dürfte der mit DPN erreichbare Miniaturisierungsgrad die Entwicklung von Screening-Methoden für solche Nanomuster ermöglichen. Zahlreiche Lösungsansätze bieten sich hier an: Wenn ein aus Rezeptoren aufgebautes Muster auf den Maßstab des biologischen Analyten oder des daran fixierten Markers reduziert wird, sollte sich jede mechanische, elektrische und chemische Eigenschaft des Rezeptormusters bei einer Reaktion mit dem Analyten ändern. Diese Eigenschaften, wozu auch Größe, Gestalt, elektrische Leitfähigkeit und Hydrophilie gehören, können mit einem AFM oder mit On-Chip-Schaltungen *in situ* überwacht werden. Es könnte sogar möglich werden, Proteine und Viruspartikel in spezifischen Orientierungen anzubinden und damit die Reaktivität als Funktion der strukturellen Konfiguration zu untersuchen.

Auch wenn auf dem Weg hin zu einer Miniaturisierung wohl etliche Hindernisse zu überwinden sind: Die in Aussicht stehenden Erfolge sind der Mühe allemal Wert. Als mögliche Schwierigkeiten kämen Kreuzreaktivitäten und eine unspezifische Bindung (non-specific binding, NSB) des Analyten oder anderer Spezies an die Array-Spots in Frage. NSB ist ein generelles Problem bei Oberflächen-Assays, dürfte aber beim Screening im Nanomaßstab besonders deutlich hervortreten, da bereits einige wenige unspezifisch gebundene Partikel auf einem nanoskaligen Rezeptor-Spot das gewünschte Signal völlig überdecken können. Glücklicherweise ergeben sich durch den Übergang zum Nanomaßstab auch neue Möglichkeiten, das NSB-Problem zu entschärfen. Zum einen lässt sich bei einer nur geringen Einbuße an Informationsdichte eine Redundanz- und Fehlerkontrolle in das Array einbauen, zum anderen bietet sich durch die Kontrolle (und das Screening) der chemischen Umgebung mit nanoskaliger Präzision die Möglichkeit, sowohl die Häufigkeit von NSB-Ereignissen zu verringern als auch ihr Auftreten leichter zu erkennen. Da es sich bei der DPN um eine Direktschreibtechnik handelt, wird jegliche Kreuzkontamination der strukturierten Arrays völlig ausgeschaltet.

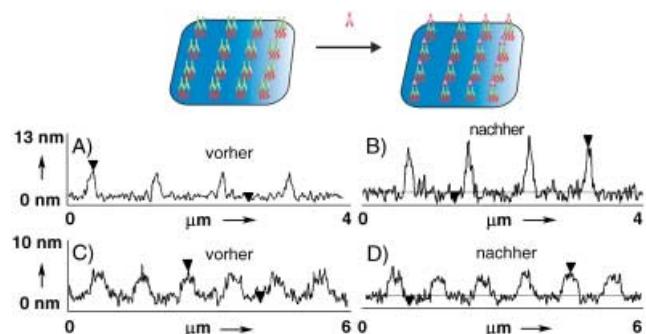
Ehe an eine hoch auflösende Strukturierung von Arrays zu denken ist, müssen zunächst einmal Strukturierungsmethoden für spezielle Klassen von Biomolekülen entwickelt werden. Um die Leistungsfähigkeit von DPN-Methoden bei der Mustererzeugung und beim Screening aufzuzeigen, wurden indirekte Adsorptionstechniken (Abbildung 5) zur Erzeugung von Protein- und Oligonucleotid-Arrays eingesetzt. Es ist zwar schwierig, indirekte Techniken wie diese auf die Fertigung komplexer Mehrkomponenten-Arrays zu übertragen, doch können Einkomponentenstrukturen zum wirkungsvollen Nachweis der Leistungsfähigkeit des Array-Screening dienen (und außerdem in eigenen interessanten Studien eingesetzt werden; siehe Abschnitt 2.2). Die in Abbildung 5 dargestellte Methode der Mustererzeugung beruht auf dem Konzept, die Proteine durch elektrostatische



**Abbildung 5.** A) Proof-of-Concept durch Adsorption von Proteinen auf DPN-erzeugten MHA-Mustern: 1) Abscheidung von MHA von der AFM-Spitze auf die Oberfläche, 2) Passivierung, 3) Protein-Adsorption, 4) Antikörper-Erkennung. Die erhaltenen Protein-Arrays wurden anschließend mit AFM charakterisiert. B) Topographisches Bild (Kontakt-Modus) des Retronectin-Arrays. Wiedergabe mit Genehmigung nach Lit. [34].

Wechselwirkungen auf einer Oberfläche zu immobilisieren; Zauscher und Chilkoti et al. konnten kürzlich zeigen, dass mithilfe eines ähnlichen indirekten Ansatzes Proteine auch durch kovalente Anbindung immobilisiert werden können.<sup>[19]</sup>

Abbildung 6 verdeutlicht, wie ein DPN-erzeugter Protein-Array zum Screening nichtmarkierter Proteine eingesetzt werden könnte. Zunächst wird ein Array von IgG-Protein aus Kaninchen, wie in Abbildung 5 gezeigt, auf die



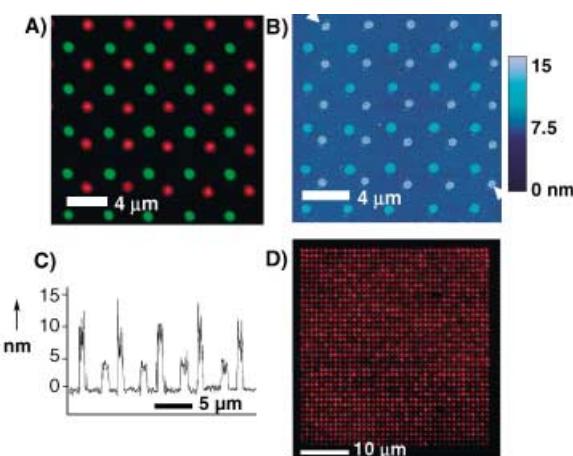
**Abbildung 6.** Höhenprofile von TM-AFM-Bildern: A, B) Kaninchen-IgG auf einem DPN-erzeugten MHA-Punktarray vor (A) und nach (B) Behandlung mit einer Lösung aus Lysozym, anti-IgG (Ziege/Schaf), anti-IgG (Mensch) und anti-IgG (Kaninchen); C, D) Nanoarray von Kaninchen-IgG vor (C) und nach (D) Behandlung mit einer Lösung aus Lysozym, Retronectin, anti-IgG (Ziege/Schaf) und anti-IgG (Mensch). Wiedergabe in Teilen mit Genehmigung nach Lit. [34].

Oberfläche abgeschieden. Die Abmessungen eines einzelnen IgG-Moleküls betragen  $14.5 \times 8.5 \times 4$  nm, und die Höhe der charakteristischen Strukturen auf dem Array nach der Proteinadsorption (gemessen mit AFM) ist mit diesen Werten in Einklang. Die Behandlung des Arrays mit anti-IgG aus Kaninchen führt zu einer 1:1-Bindung von IgG-Antikörper-Antigen-Paaren, was wiederum in einer Verdoppelung der mittleren Strukturhöhe resultiert (Abbildung 6A, B). Noch bedeutungsvoller ist vielleicht, dass ein Kontroll-Array, der einer Lösung aus Lysozym, Retronectin, anti-IgG (Ziege/Schaf) und menschlichem anti-IgG (also ohne Kaninchen-anti-IgG) ausgesetzt wird, keine Änderung der Strukturhöhe zeigt (Abbildung 6C, D), was darauf hinweist, dass die abgeschiedenen und strukturierten Proteine ihre Spezifität behalten. Die Orientierung der oberflächenfixierten IgG-Proteine wurde in diesem Experiment zwar nicht kontrolliert, dennoch präsentieren genügend viele Proteine ihre relevanten Bindungsdomänen den in Lösung befindlichen Antikörpern.

Idealerweise könnte man sich das Direktschreibvermögen mit DPN zur Fertigung von Biomolekül-Arrays mit Spots vieler unterschiedlicher Molekülarten nutzbar machen. Voraussetzung hierfür ist: 1) die Entwicklung von Methoden zur zuverlässigen Beschichtung der Kontaktspitze, 2) die Bedingungen zu identifizieren, die für einen reproduzierbaren Spitz-Substrat-Transport und eine Tinte-Substrat-Kopplung ausschlaggebend sind, und 3) die Implementierung von Parallelfeder- und integrierten Tintenfüllsystemen.

Wir verwendeten die DPN-Direktschreibmethode zur Erzeugung von Oligonukleotid-Mustern auf Metall- und Isolatoroberflächen.<sup>[12]</sup> Eine Reihe von Faktoren erwies sich bei der Steuerung des DNA-Transfers auf eine Oberfläche als essenziell, darunter die Luftfeuchtigkeit der Umgebung und ein sorgfältiges Funktionalisieren und Auffüllen der AFM-Spitzen mit Tinte. DNA-Muster ließen sich mithilfe von Hexanthiol-funktionalisierten Oligonukleotiden auf Goldoberflächen schreiben, und Acrylamid-modifizierte Oligonukleotide konnten mit oxidierten Silicium-Wafern gekuppelt werden, die mit 3'-Sulfanylpropyltrimethoxysilan-Schichten modifiziert waren. Die so erhaltenen Muster konnten an fluorophormarkierte Oligonukleotide und an DNA-funktionalisierte Goldnanopartikel hybridisiert werden (Abbildung 7). Nanopartikelmarker<sup>[43-45]</sup> sind vielversprechend als Sonden für nanoskalige Detektionsverfahren. Sie weisen eine breite Vielfalt von Eigenschaften auf – angefangen von ihren hohen Absorbanzkoefzienten bis hin zu ihrer physikalischen Gestalt –, die zur Codierung von Information genutzt werden können. Abbildung 7B zeigt, wie eine einfache Eigenschaft wie die Nanopartikelgröße als Marker bei einem Screeningverfahren mit AFM eingesetzt werden könnte. Im Prinzip ähnelt dieser Ansatz der Verwendung farbiger Fluorophore beim optischen Screening. Durch Markieren mit Nanopartikeln lassen sich Mikro- und Nanodetektionstechniken verknüpfen, insofern Nanopartikel wegen ihrer einzigartigen optischen Eigenschaften auch für konventionelle optische Screening-Methoden geeignet sind: Abbildung 7D zeigt ein Bild eines DNA-Mikroarrays mit 1600 Spots, die mit optischer Mikroskopie erfasst wurden.

In einer Reihe von Veröffentlichungen wurde auch über die Erzeugung nanoskaliger Protein-Muster mit DPN berichtet.



**Abbildung 7.** Direktmusterung von DNA-Tinten durch DPN: A) kombinierte Rot-grün-Aufnahme zweier fluorophormarkerter Sequenzen (Oregon Green 488-X und Texas Red-X), die mit DPN simultan an ein Zweisequenz-Array auf silanisiertem  $\text{SiO}_2$ -Substrat hybridisiert wurden; B) im Tapping-Modus aufgenommenes AFM-Bild von Goldnanopartikeln mit 5 nm (dunkel) und 13 nm (hell) Durchmesser auf dem gleichen Muster nach Dehybridisierung der fluorophormarkernten DNA; C) Diagonalschnitt zwischen den Pfeilmarkierungen in B); D) die optische Dunkelfeld-Aufnahme zeigt dicht gepackte DNA-funktionalisierte Nanopartikel (Durchmesser 13 nm), die an ein 1600-Punkt-DNA-Array hybridisiert wurden, das durch Direktschreib-DPN auf  $\text{SiO}_2$  erzeugt wurde. Wiedergabe der Abbildungen A–C mit Genehmigung nach Lit. [12].

tet. Im ersten Bericht über die direkte Erzeugung von biomolekularen Mustern wurde die Abscheidung von Thiolat-modifiziertem Kollagen und Kollagen-artigen Peptiden auf Goldoberflächen mithilfe von AFM im Tapping-Modus beschrieben.<sup>[11]</sup> Das Kollagen ordnete sich zu helicalen Strukturen mit einer für native Kollagenfasern charakteristischen Periodizität von 65 nm an. Mit optischer Nahfeld-Rastermikroskopie (NSOM) im Fluoreszenzmodus wurde nachgewiesen, dass die abgeschiedenen Strukturen mit Kollagen-spezifischen Antikörpern reagierten. Aus den beiden Befunden kann geschlossen werden, dass der DPN-Prozess die Bildung nativer Kollagenstrukturen ermöglicht oder sogar erleichtert. Dies ist ein vielversprechendes Ergebnis, denn es liefert den Beweis, dass zumindest einige Proteinarten ihre native oder aktive Struktur beim DPN-Prozess beibehalten können.

Erst kürzlich beschrieben De Yoreo et al. die Verwendung der DPN-Direktschreibmethode zur Erzeugung von nanoskaligen Mustern von Antikörpern für das menschliche Choriongonadotropin auf 3-Glycidoxypipyltrimethoxysilan-modifizierten Glasoberflächen.<sup>[10]</sup> Die Muster wurden mit konfokaler Fluoreszenzmikroskopie untersucht, wobei zur Bildgebung Tetramethylrhodamin-markierte Proteine eingesetzt wurden. Über eine Charakterisierung der biologischen Aktivität der abgeschiedenen Proteinnuster wurde allerdings nicht berichtet, sodass unklar ist, ob der Antikörper bei der Abscheidung und der Anbindung an die Oberfläche seine Struktur beibehält. Zwar ist die DPN eine äußerst behutsame Lithographietechnik, doch können Wechselwirkungen mit der Oberfläche – wenngleich offenbar günstig bei Kollagen – bei anderen Proteinklassen zur Denaturierung führen.

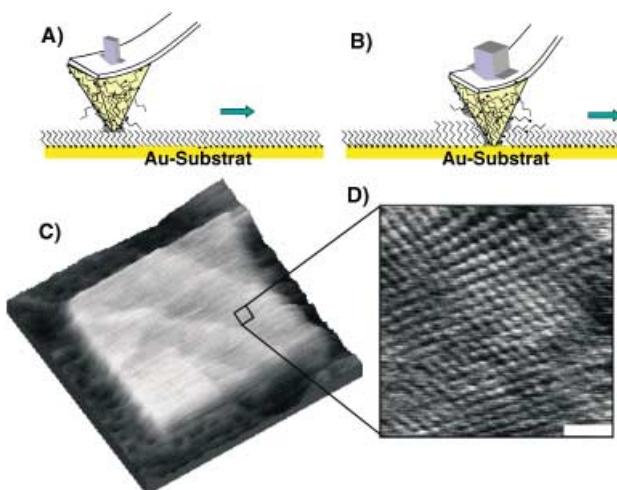
Neuere Studien belegen, dass sich Immunproteine wie IgG mit DPN unter Aufrechterhaltung ihrer Aktivität auf Oberflächen abscheiden lassen, sofern spezifische Bedingungen eingehalten werden.<sup>[46,47]</sup>

## 2.2. Steuerung von Bioerkennungsprozessen auf molekularem bis hin zum zellulären Niveau

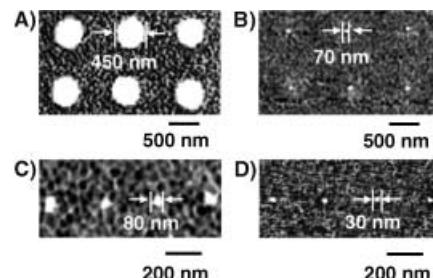
In den vergangenen zwei Jahren ist die Zahl der Verbindungstypen, die mit DPN strukturiert wurden, geradezu explodiert. Besonderes Interesse fand die Musterbildung aus Biomolekülen wie Oligonucleotiden, Peptiden und Proteinen auf Glas- und Metalloberflächen. Diese Fortschritte öffneten den Zugang zu Forschungen im Nanoarray-Screening und ließen die DPN-Technik für eine Reihe von Bereichen relevant erscheinen. Themen wie die Erhaltung der Proteinaktivität und die Verringerung unspezifischer Bindungen wurden bereits diskutiert. Ein weiteres wichtiges Thema für künftige Forschungen wird die Verbesserung der Auflösung der DPN sein. Zwar wurden in den meisten Veröffentlichungen zur Biomolekül-DPN relativ hoch aufgelöste Muster ( $\approx 100$  nm) beschrieben, in keinem der Fälle ging man aber bis an die unterste Grenze, die gegenwärtig für Alkanthiol-Tinten auf Oberflächen von Goldeinkristallen bei 15 nm liegt.<sup>[2]</sup> Solche Abmessungen sind von der Größenordnung einzelner Biomakromoleküle, sodass sich die faszinierende Möglichkeit böte, die DPN zur Positionierung einzelner Strukturen mit molekularer Auflösung einzusetzen. Auf diese Weise ließen sich maßgeschneiderte chemische Oberflächen erzeugen, an denen eine Vielfalt an biologischen Erkennungsprozessen untersucht werden könnten, angefangen von der molekularen bis hin zur zellulären Ebene.

Die Entwicklung von DPN-Techniken mit noch höherer Auflösung dürfte den Einsatz von AFM-Spitzen mit hohem Aspektverhältnis (z.B. Kohlenstoffnanoröhren)<sup>[48]</sup> oder die Kombination der DPN mit Techniken wie dem Nanografting erfordern. Die Kombination der DPN mit Nanografting wurde von Liu et al. in Zusammenhang mit einer als „nanoPen-reader-writer“ (NPRW) bezeichneten Methode beschrieben (Abbildung 8).<sup>[20,49]</sup> Die Funktion eines NPRW beruht auf der Verwendung einer SAM-Sperrsicht, die bewirkt, dass der Schreibprozess ausschließlich unter Bedingungen einer hohen Kontaktlast zustande kommt. Damit wird die Empfindlichkeit der DPN lediglich durch die Versuchsbedingungen und die Tintendiffusionsgeschwindigkeiten begrenzt, während im Gegenzug das Nanografting von den Vorteilen der DPN – Direktschreibmethodik und Kompatibilität mit Umgebungsbedingungen – profitiert.

Die elektrochemische Modifizierungen von SAM-Mustern ist ein weiterer Weg zur Größenreduzierung charakteristischer Strukturen.<sup>[50]</sup> Das elektrochemische Potential eines strukturierten Substrats kann so gesteuert werden, dass unterschiedliche Bereiche eines Musters selektiv auf bestimmte Abscheidungspotentiale ansprechen. Da Thiolmoleküle am Rand einer Oberflächenstruktur weniger stabil sind als im Zentrum, können DPN-Muster elektrochemisch „geschnitten“ werden, sodass die Größe der charakteristischen Strukturen eines gesamten Arrays von Mustern gleichmäßig verkleinert wird (Abbildung 9).<sup>[50]</sup>



**Abbildung 8.** Die DPN kann mit anderen Rastersonden-Lithographie-techniken wie dem Nanografting kombiniert werden, wobei die Vorteile beider Methoden beibehalten werden. A) Beim „nanopen-reader-writer“ (NPRW)-Verfahren wird die Oberfläche mit einer selbstorganisierten Monoschicht passiviert. B) Durch Ausüben einer hohen Kontaktlast „rasiert“ die Kontaktspitze einige der Sperrsichtmoleküle weg, sodass die Tinte aus der Kontaktspitze im Direktschreibmodus auf die Oberfläche gelangt. C) Quadrat von  $200 \times 200 \text{ nm}^2$  mit scharf ausgeprägten Ecken, hergestellt mithilfe der NPRW-Methode durch Abscheidung von  $\text{C}_{18}$ -Thiol in eine  $\text{C}_{10}$ -Monoschicht. D) Hoch aufgelöste topographische Aufnahme eines strukturierten Bereichs (Maßstab 2 nm). Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung von G.-y. Liu.



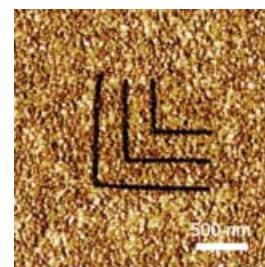
**Abbildung 9.** Elektrochemisches „Schnitzen“ von DPN-Mustern, illustriert durch LFM-Bilder (LFM = Lateralkraftmikroskop) von MHA-Mustern vor und nach der elektrochemischen Desorption: A, C) MHA-Punktmuster; B) dieselbe Probe wie in (A) nach 6 min Abscheidung bei  $-750 \text{ mV}$  ( $\text{Ag}/\text{AgCl}$  als Bezugselektrode); D) dieselbe Probe wie in (C) nach 1 min Abscheidung bei  $-750 \text{ mV}$  ( $\text{Ag}/\text{AgCl}$  als Bezugselektrode). Wiedergabe nach Lit. [50].

Auch ohne spezielle Modifizierungen bieten die durch DPN zugänglichen Längenskalen schon jetzt neue Möglichkeiten für die Untersuchung zellulärer Adhäsionsprozesse. Viele Zelltypen haben ein komplexes System von Ligand-Rezeptor-Wechselwirkungen entwickelt, durch die sie mit der Umgebung wechselwirken und Erkennungsprozesse ausführen.<sup>[51]</sup> Durch die Möglichkeit, Muster dieser Liganden auf Oberflächen im Mikrometer-, Nanometer- und möglicherweise sogar molekularen Maßstab zu erzeugen, sind die Voraussetzungen geschaffen, gänzlich neue Experimente zur Untersuchung von Zell-Rezeptor-Wechselwirkungen durchzuführen. Um das Potenzial dieser Methode zu demonstrieren, wurden mit DPN Retronectin-Nanoarrays hergestellt

(Retronectin ist ein rekombinantes zelluläres Adhäsionsprotein auf der Basis von Fibronectin).<sup>[34]</sup> Zellen heften sich durch Anbindung von Integrin-Rezeptoren an Retronectin.<sup>[51]</sup> Wenn sich eine Zelle an eine Oberfläche heftet und darauf spreitet, assoziieren die Integrin-Rezeptoren unter Bildung eines fokalen Adhäsionskomplexes zu Clustern mit einer Reihe weiterer Proteine. Lithographische Methoden, die bis dato zur Variation von Größe und Abstand von Retronectin-Strukturen auf Oberflächen eingesetzt wurden, sind auf eine Auflösung im Mikrometermaßstab beschränkt, sodass sie auf fokale Adhäsionskomplexe mit einer typischen Größenordnung von 50 bis 500 nm nicht ansprechen.<sup>[51]</sup> Mithilfe von DPN war es nun möglich, 200-nm-Muster von Retronectin-Strukturen zu erzeugen und nachzuweisen, dass sich Zellen an die DPN-Muster heften und dort spreiten (wenngleich nicht im selben Ausmaß wie an nichtstrukturierten Retronectin-beschichteten Oberflächen). Da davon auszugehen ist, dass die Größe der fokalen Adhäsionskomplexe zwischen 50 und 500 nm beträgt, ist die DPN eine besonders aussagekräftige Methode zur Untersuchung der Größenverteilung der Adhäsionskomplexe und der Effekte von Größe und Abstand der Retronectin-Domänen bei der zellulären Adhäsion. Mit DPN sollte es sogar möglich sein, die Wechselwirkungen zwischen Zellen und mit unterschiedlichen Liganden strukturierten Oberflächen auf unterschiedlichen Längenskalen zu untersuchen. Ein solches Experiment wäre mit konventionellen Lithographie- oder Prägeverfahren, bei denen es sich um indirekte oder Eintinten-Verfahren handelt, äußerst schwierig, wenn nicht gar unmöglich.

Im Zuge der Verfeinerung der DPN-Methoden zur Abscheidung von kleinen organischen Molekülen wie auch von großen Biomolekülen, werden sich fast zwangsläufig zusätzliche Möglichkeiten für die Steuerung der Wechselwirkungen zwischen Oberflächen-gebundenen Liganden und einem Rezeptor einstellen. Schließlich könnte es sogar möglich sein, die Bindung *einzelner* Objekte, z.B. großer Proteine oder Viren, an spezifische Oberflächenstellen sowie ihre Orientierung zu steuern. In einem ersten Schritt dorthin wurde die Immobilisierung von nativen und genetisch veränderten Kuherbsen-Mosaikvirus(CPMV)-Partikeln auf DPN-erzeugten Mustern untersucht.<sup>[52,53]</sup> Bei diesen Arbeiten wurden genetisch modifizierte CPMV-Partikel eingesetzt, die an den Scheitelpunkten der ikosaederförmigen Viruskapself Cysteinguppen exprimierten.<sup>[54,55]</sup> Diese Partikel können selektiv auf DPN-strukturierten bifunktionalen Linkern immobilisiert werden.<sup>[54,55]</sup> De Yoreo et al. erzeugten hoch aufgelöste Muster aus bifunktionalen Linkermolekülen mit jeweils endständigen Amino- und Sulfanylgruppen ( $\approx 50$  nm) (Abbildung 10).<sup>[53]</sup> Mithilfe eines heterobifunktionalen Linkers können die exponierten Aminogruppen auf dem Muster mit den exponierten Cysteingruppen auf dem genetisch veränderten CPMV gekuppelt werden.<sup>[53]</sup>

Smith et al. verwendeten DPN zur Abscheidung von gemischten Monoschichten auf einer Oberfläche, wodurch eine Feinabstimmung der CPMV-Immobilisierung möglich war.<sup>[52]</sup> Monoschichten aus 100 % Maleimid binden kovalent genetisch veränderte CPMV-Partikel, können aber unter bestimmten Bedingungen auch Wildtyp-CPMV durch hydrophobe Wechselwirkungen unspezifisch adsorbieren (und



**Abbildung 10.** 50 nm breite Linien aus bifunktionalen Amin-Thiol-Linkermolekülen, die mit DPN auf eine Goldoberfläche abgeschieden wurden. Die Muster dienen dazu, die Adhäsion von Viruspartikeln an die Oberfläche zu vermitteln. Wiedergabe mit Genehmigung nach Lit. [53].

ebenso eine große Zahl an Proteinen). Zur selektiven Immobilisierung gentechnisch veränderter Viruspartikel werden gemischte Monoschichten benötigt. Mit Verbesserungen der DPN-Auflösung oder durch den Einsatz großer Viruspartikel sollte es möglich sein, die Verteilung der Partikel auf der Oberfläche zu steuern oder sogar einzelne Partikel an spezifischen Stellen zu immobilisieren. Eine Reihe von Proteinen und Viren haben Abmessungen in der Größenordnung der mit DPN erzielbaren Auflösung, wodurch sich faszinierende Möglichkeiten ergeben, die Bindung solcher Partikel an Oberflächen sowie ihre Orientierung zu steuern und Bioerkennungsprozesse auf unterschiedlichen Längenskalen zu untersuchen.

### 2.3. Aufbau nanostrukturierter Materialien mit DPN: Template zur orthogonalen Anbindung

Außerhalb der Biologie ist die Anbindung von Partikeln mit Sub- $\mu$ m- bis Sub-100-nm-Abmessungen mithilfe von Oberflächentemplaten für eine Reihe von Forschungsgebieten interessant, angefangen von der Kolloidkristallisation bis zur magnetischen Datenspeicherung, von der Photonik bis zur Nanoelektronik. Die DPN bietet sich hier als schnelle und leistungsfähige Methode zur Strukturierung der Oberflächenchemie einer Vielfalt von Substraten an.

Wir entwickelten eine Reihe von DPN-Methoden, um die Immobilisierung von Partikeln mit Durchmessern zwischen 5 nm und bis zu 1  $\mu$ m auf Oberflächen zu steuern. Über elektrostatische Wechselwirkungen zwischen MHA und Amin- oder Amidin-beschichteten Polystyrolkugelchen kann die Immobilisierung von Partikeln mit Durchmessern zwischen 190 und 930 nm mit Einzelpartikelgenauigkeit gesteuert werden.<sup>[56]</sup> Andere Forschungsgruppen beschrieben den Einsatz von Methoden wie Mikrokontaktdrucken bis hin zu optischen Pinzetten zur Positionierung ähnlich großer Partikel auf Oberflächen.<sup>[57,58]</sup> Der entscheidende Vorteil der DPN gegenüber diesen Techniken liegt in der Flexibilität und dem hohen Durchsatz, der ein kombinatorisches Screening von Templaten hinsichtlich Partikeladsorption ermöglicht. Bei einer großen Zahl von Testtemplaten auf einem einzelnen Substrat konnten mithilfe der DPN schnell die optimalen Bedingungen für die Immobilisierung einzelner Partikel in einem einzigen Experiment bestimmt werden.<sup>[56]</sup> Des Weite-

ren konnten wir zeigen, dass die elektrostatische Partikelaggregation zur Erzeugung von Arrays aus magnetischen Nanostrukturen genutzt werden kann.<sup>[110]</sup>

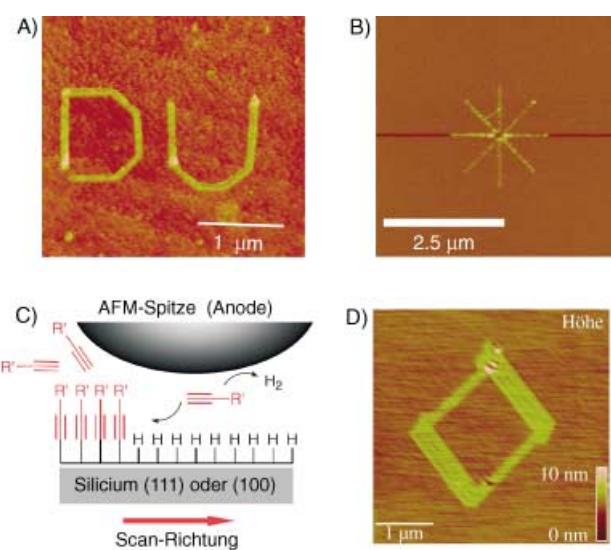
Eine Einschränkung bei der elektrostatisch gelenkten Bindung von Partikeln ergibt sich aus dem binären Charakter der Wechselwirkungspaares, denn Oberflächen können entweder nur mit positiven oder nur mit negativen Ladungen „programmiert“ werden, was den Informationsgehalt eines bestimmten Musters und die Komplexität von aus Partikeln bestehenden Strukturen begrenzt. Um mit elektrostatischen DPN-Templaten zu komplexeren Strukturen zu gelangen, gingen wir zu redoxaktiven Ferrocenylalkylthiol-Tinten über.<sup>[59]</sup> Bei Verwendung von Tinten mit unterschiedlichen Redoxpotentialen lässt sich der Oxidationszustand und die Oberflächenladung von Molekülen durch Steuerung des elektrochemischen Potentials des Substrats einstellen. Dieser Ansatz ermöglicht die Feinabstimmung der elektrostatisch gelenkten Partikelbindung, was wiederum die orthogonale Anbindung von Nanopartikeln unterschiedlicher Größe ermöglicht.

Biomoleküle haben das Potenzial, wesentlich mehr Information zu codieren als synthetische Moleküle – hat doch die Evolution in Milliarden von Jahren ein äußerst effizientes biochemisches Informationsspeichersystem auf der Grundlage von Nucleinsäuren hervorgebracht. In den letzten Jahren wurde folglich intensiv die Verwendung von DNA zur Steuerung des Aufbaus einer Vielzahl von Nanopartikelsystemen untersucht.<sup>[60–63]</sup> Das Potenzial, eine Oberfläche bei außergewöhnlich hoher Auflösung mit einer nahezu unbegrenzten Menge an Information zu bedrucken (bereits ein 15-mer von DNA bietet  $4^{15}$  unterschiedliche Möglichkeiten), gab den Anstoß für die Entwicklung von Techniken zur Erzeugung von DNA-Mustern mit DPN.

Der erste Ansatz zur Steuerung der orthogonalen Anbindung von Nanopartikeln beruhte auf einer indirekten Erzeugung von DNA-Mustern. Zunächst wurde mit DPN ein Muster aus MHA erzeugt, dann wurde Carbodiimid-Chemie angewendet, um Amin-funktionalisierte Oligonucleotide an die Oberfläche zu binden.<sup>[64]</sup> Mit solchen indirekten Methoden lassen sich zwar zahlreiche Sequenzen abscheiden, jede zusätzliche Sequenz erfordert aber individuelle Strukturierungs- und Kupplungsschritte, was letztlich zur Kreuzkontamination von Mustern führen kann – dies ist der entscheidende Nachteil indirekter lithographischer Verfahren. Aus diesen Gründen widmete man sich der Entwicklung von DPN-Direktschreibstrategien, um DNA mithilfe chemisch modifizierter AFM-Spitzen und unter genauer Kontrolle der Umgebungsbedingungen auf Oberflächen abzuscheiden (siehe Abschnitt 2.1).<sup>[12]</sup> Bei einer solchen Strategie können sequenzspezifische Wechselwirkungen genutzt werden, um den Einbau von DNA-funktionalisierten Partikeln in eine Anzahl vordefinierter Nanomuster zu steuern (Abbildung 7). Auch wenn die richtige Präparation der Cantilever und die Bestimmung der geeigneten Bedingungen für eine Direktschreibung von DNA-Mustern einige Mühe gekostet hat: Wegen der praktisch grenzenlosen Zahl an verfügbaren DNA-Sequenzen können nun Muster aus beliebig vielen Ligand-Rezeptor-Paaren unter nahezu identischen experimentellen Bedingungen erzeugt werden.

Hatten wir uns bisher auf die Erzeugung von Templaten zur Anbindung von Partikeln konzentriert, soll nun auf die direkte Platzierung von Nanopartikeln mit DPN an spezifischen Oberflächenstellen eingegangen werden. Ondarçuhu et al. präparierten eine AFM-Spitze mit einer konzentrierten flüssigen Lösung eines Alkanthiol-überdachten Goldkolloids als Tinte. Durch Steuerung der Kontaktlast konnten Partikel mit einem Durchmesser von 5 nm zu Clustern mit Durchmessern von 50 bis 200 nm abgeschieden werden.<sup>[13]</sup> Eine ähnliche Methode wurde kürzlich von G.-y. Liu et al. beschrieben.<sup>[65]</sup>

In einem weiteren Ansatz zur direkten Erzeugung von Mustern aus „harten“ Metallnanostrukturen nutzten J. Liu et al. sowohl elektrochemische als auch stromlose DPN-Varianten („E-DPN“).<sup>[14,15]</sup> Hierbei wird der Wassermeniskus nicht nur als Transportmedium, sondern auch als elektrochemische Nanozelle genutzt. Durch elektrochemische Reduktion konnten Pt, Au, Ge, Ag, Cu und Pd auf eine Si-Oberfläche abgeschieden werden.<sup>[14]</sup> Von Bedeutung war der Befund, dass die erzeugten Strukturen nicht das Ergebnis einer anodischen Oxidation von Si sind, sondern vielmehr durch Reduktion des Metalls entstehen. In einer Folgearbeit wurde gezeigt, dass sich Metalle auch ohne Vorspannung auf die Oberfläche abscheiden lassen. Die DPN wurde hierbei zur Freisetzung von  $\text{HAuCl}_4$  an einer mit HF geätzten Si-Oberfläche eingesetzt. Dort kann  $\text{Au}^{3+}$  stromlos unter Bildung von nanoskaligen Au-Linien zu  $\text{Au}^0$  reduziert werden (Abbildung 11 A).<sup>[15]</sup> Buriak et al. verwendeten ebenfalls DPN in einem ähnlichen stromlosen Reduktionsprozess, um Au- und Pd-Drähte auf  $\text{Ge}(100)$ -Oberflächen zu drucken.<sup>[16]</sup> Buriak et al. beschrieben kürzlich auch die Erzeugung von Nanomustern auf Si durch Anlegen einer Vorspannung und Freisetzung von Alkinmolekülen auf einem H-



**Abbildung 11.** Elektrische und stromlose DPN-Techniken: A)  $\text{HAuCl}_4$  wurde aus einer DPN-Spitze freigesetzt und durch stromlose Abscheidung auf eine Si-Oberfläche metallisiert.<sup>[15]</sup> B) TIPA-8-Proteinfilamente wurden bei einer Vorspannung von  $-2\text{ V}$  auf eine Ni-Oberfläche abgeschieden.<sup>[67]</sup> C) Schema und D) Resultat einer Nanostrukturierung durch Freisetzung von Alkinmolekülen an einer H-terminierten Oberfläche mit DPN bei angelegter Vorspannung.<sup>[66]</sup>

terminierten Si-Wafer durch DPN (Abbildung 11 C,D).<sup>[66]</sup> Elektrisch getriebene DPN-Verfahren wurden sogar zur Erzeugung von Mustern aus Biomolekülen eingesetzt. Stone et al. konnten damit hoch aufgelöste Muster unterschiedlicher Proteine auf Ni herstellen (Abbildung 11 B).<sup>[67]</sup>

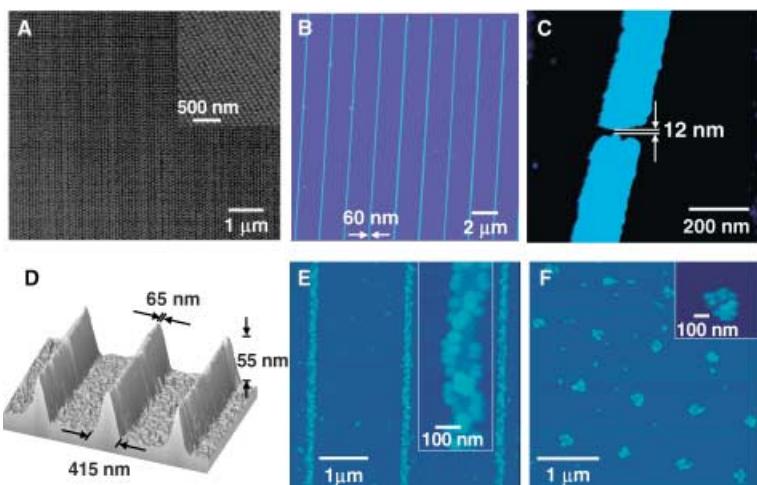
Muster von Solen lassen sich durch Direktschreib-DPN erzeugen, was die Herstellung von Nanostrukturen dielektrischer und magnetischer Festkörper ermöglicht.<sup>[17,18]</sup> Bei Anwendungen, die nicht die chemische Komplexität einer DNA-gelenkten orthogonalen Anbindung erfordern, oder wenn Muster von fluoreszierenden Materialien<sup>[10,68]</sup> oder leitfähigen Polymeren erzeugt werden sollen,<sup>[8-10]</sup> sind solche Ansätze eine sinnvolle Alternative zur Erzeugung von Nanostrukturen mit nützlichen magnetischen und optischen Eigenschaften.

Eine Vielfalt von DPN-Methoden wurde entwickelt, um Template zur Steuerung der Aggregation funktioneller Nanostrukturen zu erzeugen. Es ist abzusehen, dass sich die nächste Generation von Experimenten mit dem Einsatz von DPN als einer Methode zum schnellen Prototyping befassen wird, um Arrays von Nanostrukturen mit nützlichen optischen oder elektrischen Eigenschaften herzustellen. Zugleich werden Techniken weiter optimiert und entwickelt werden, die die Mustererzeugung durch DPN mehr und mehr zu einem Routineverfahren für hohe Auflösungen (< 20 nm) machen.

#### 2.4. Strukturierung von Ätz-Resisten durch DPN

Verschiedene Methoden wie die Elektronenstrahl-Lithographie,<sup>[69]</sup> Photolithographie,<sup>[69]</sup> Mikrokontaktdrucken,<sup>[70,71]</sup> Nanopräge-Lithographie,<sup>[72]</sup> Ionenstrahl-Lithographie<sup>[73,74]</sup> und einige Rastersonden-Lithographiemethoden<sup>[75]</sup> lassen sich zur Erzeugung von Mustern anorganischer Materialien einsetzen. Nur wenige dieser Techniken bieten allerdings die Möglichkeit, im Bereich unter 50 nm routinemäßig mit Steuerung von Strukturgröße und charakteristischem Abstand zu arbeiten, insbesondere wenn solche Strukturen sowohl aus „harten“ als auch aus „weichen“ Materialien aufgebaut sind. Darüber hinaus beruhen die meisten dieser Techniken auf Einzeltintenprozessen und erfordern komplizierte und teure Instrumente. In diesem Abschnitt beschreiben wir, wie sich die Kombination von DPN mit nasschemischem Ätzen<sup>[76]</sup> zur Herstellung von Nanostrukturen aus Metallen und aus Halbleitern einsetzen lässt, wobei als einzige Hardware-Komponente ein geregeltes Kraftfeldmikroskop benötigt wird.

Mit DPN erzeugte SAMs aus MHA oder ODT lassen sich als Resiste zur Erzeugung dreidimensionaler mehrlagiger Festkörperstrukturen durch nasschemische Standard-Ätztechniken einsetzen (Abbildung 12). Eine Rasterelektronenmikroskopie(SEM)-Aufnahme eines Ausschnitts aus einem 40000-Punkt-Array (Abbildung 12 A) verdeutlicht die Regelmäßigkeit der Strukturgröße und des Abstands zwischen den Strukturen. Der Durchmesser der Punkte beträgt ca. 45 nm. Die Gleichförmigkeit der Nanostrukturen belegt das Leistungsvermögen der DPN zur Erzeugung von Sub-nm-Struk-



**Abbildung 12.** Geätzte Nanostrukturen: A) SEM-Bild von 45 nm großen Au-Nanopunkten;<sup>[6]</sup> B, C) TM-AFM-Aufnahmen von 60 nm breiten Au-Nanolinien (B)<sup>[77]</sup> und einem 12 nm breiten Au-Nanospalt (C)<sup>[6]</sup> auf einer Si/SiO<sub>x</sub>-Oberfläche; D) dreidimensionale Si(100)-Nanostrukturen;<sup>[4]</sup> E, F) TM-AFM-Aufnahme von DNA-modifizierten Linien- (E) und Punkt-Strukturen (F) nach Hybridisierung mit Nanopartikeln, die mit komplementärer DNA modifiziert waren.<sup>[5]</sup>

turen. Der kleinste Durchmesser von Punkt-Strukturen, der mit dieser Methode bislang erzielt wurde, beträgt  $25 \pm 5$  nm.<sup>[6]</sup> Mithilfe dieser Methode gelang es uns, komplexe Strukturen wie Linien, Kreise, Dreiecke und Punkte zu erzeugen. Abbildung 12 B zeigt einen typischen Array von geätzten Au-Nanolinien mit einer Linienbreite von 60 nm.<sup>[77]</sup>

Mit DPN kann praktisch jede Art von Struktur ungestört von Größe und Gestalt erzeugt werden (bis hin zur Mikrometerskala), so auch 12–100 nm große Spalte zwischen Nanoelektroden (Abbildung 12 C).<sup>[6]</sup> Mit der Möglichkeit, Au-Strukturen herzustellen, ergibt sich ein Ansatz zur Erzeugung von strukturierten Halbleiteroberflächen. Indem man das Au der geätzten Strukturen als Resist nutzt, lassen sich Nanomuster in ein darunterliegendes Si-Substrat ätzen. Durch Entfernung des verbleibenden Au mit Königswasser werden Nanostrukturen aus Silicium erhalten (Abbildung 12 D).<sup>[4]</sup>

Au-Oberflächenstrukturen können mit anderen anorganischen (z. B. Au-Nanopartikeln) und/oder biologischen Materialien (z. B. DNA, Proteinen, Viren, Peptiden) unter Bildung bioanorganischer Hybrid-Nanoarrays umgesetzt werden. Nach dem Ätzen sind die Nanostrukturen weiterhin mit MHA oder ODT beschichtet, und es ist schwierig, an den Strukturen des Arrays Gold-Thiol-Modifizierungen auszuführen. Durch Bestrahlung des Arrays mit UV-Licht und nachfolgendes Spülen mit Milli-Q-Wasser kann eine oxidierte MHA-Monoschicht aber gut entfernt werden.<sup>[78-80]</sup> Die so präparierten Au-Nanostrukturen lassen sich mit anderen Schwefel-haltigen Molekülen leicht modifizieren, z. B. wurden frisch präparierte Au-Nanomuster mit einem Disulfid-funktionalisierten Oligonukleotid verknüpft.<sup>[5]</sup> Um aufzuzeigen, dass das Oligonukleotid tatsächlich auf den Au-Mustern adsorbiert und nicht auf anderen Bereichen des Arrays, wurden die Hybridisierungseigenschaften mithilfe von 30 nm großen Au-Partikeln untersucht, die über ein Dreistrangsystem mit komplementärer DNA funktionalisiert

waren.<sup>[5]</sup> TM-AFM-Aufnahmen der Arrays belegen, dass die Partikel mit den Oligonucleotid-funktionalisierten Au-Nanostrukturen hybridisieren, jedoch nicht mit den umgebenden Bereichen (Abbildung 12E,F).<sup>[5]</sup> Hoch aufgelöste Aufnahmen der Punkte und Linien lassen die einzelnen Partikel auf den Nanostrukturen erkennen.

Mit DPN erzeugte Ätz-Resists bieten einen einfachen Zugang zu Arrays von anorganischen Nanostrukturen (z. B. aus Au, Ag, Pd) auf einer Halbleiter- oder Isolatoroberfläche. Die einfache Anwendung und gute Verfügbarkeit von AFM (verglichen etwa mit Elektronenstrahl-Lithographie und SEM-Systemen) sind die zentralen Vorteile bei der Verwendung von DPN zur Herstellung „harter“ Nanostrukturen. Darüber hinaus können die erhaltenen Strukturen selektiv mit Adsorbaten modifiziert werden, die zusätzliche Funktionalitäten beisteuern. Eine noch breitere Vielfalt funktioneller Nanostrukturen sollte sich wie erwähnt durch Kombination von Ätzmethoden mit Direktschreibtechniken erzeugen lassen.

### 3. Tintentransport: Experiment und Theorie

Genauen Aufschluss über den Vorgang des Spitze-Substrat-Prozesses zu erhalten, ist zum einen eine fundamentale Aufgabe und zum anderen wichtig für die Weiterentwicklung der DPN als „Arbeitspferd“ in der Nanofabrikationstechnik. Ebenfalls profitieren würden Entwicklung und Optimierung neuer Tinte-Substrat-Kombinationen, Versuche zur Verbesserung der Auflösung von DPN (die gegenwärtig bei optimalen Bedingungen im Bereich von 15 nm liegt)<sup>[2]</sup> sowie Ansätze zur Implementierung maßgeschneiderter Kontaktspitzen, integrierter Tintenfüllsysteme und parallel betriebener Cantilever-Arrays zur Hochdurchsatz-Strukturierung (siehe Abschnitt 4).

Der Spitze-Substrat-Transport von Molekülen ist ein komplexer Vorgang, der von zahlreichen Parametern abhängt, einschließlich der chemischen Zubereitung (und Reinheit) der Tinte und der Substratoberfläche, der Form der Kontaktspitze, der Zusammensetzung und Chemie der Substratoberfläche, der Verteilung und Beweglichkeit der Tinte auf der Kontaktspitze und der Temperatur, bei der das Experiment ausgeführt wird. Außerdem ist zu beachten, dass die Oberfläche, außer unter Ultrahochvakuum, ganz oder teilweise von einer Schicht aus adsorbiertem Wasser bedeckt sein wird. Bei Umgebungsbedingungen kann ein Wassermeniskus zwischen der Kontaktspitze und der Oberfläche kondensieren. Bei den meisten Versuchsbedingungen scheint es darum offensichtlich, dass sich die Umgebungsfeuchtigkeit auf den DPN-Prozess auswirkt – ähnlich wie die Bildauflösung der AFM im Kontaktmodus an der Luft beeinflusst wird. Mit diesen Gegebenheiten ist klar, dass die Luftfeuchtigkeit und die Wasserlöslichkeit der Tinte entscheidende Faktoren beim DPN-Prozess sind. Wegen des Einflusses der Luftfeuchtigkeit auf den Transport der Tinten sollten die zur DPN eingesetzten AFM-Instrumente in einer feuchtigkeitsregulierbaren Glove Box untergebracht werden (Abbildung 13). Damit lässt sich eine regelbare, reproduzierbare Umgebung für die DPN-Experimente erhalten, die es



**Abbildung 13.** Kraftfeldmikroskop (Park Scientific AutoProbe CP Research) in einer feuchtigkeitsregulierbaren Glove Box (PlasLabs) zur Ausführung von DPN-Experimenten.

ermöglicht, Experimente mit unterschiedlichen Proben bei den identischen Umgebungsparametern auszuführen.

Im Laufe der letzten Jahre wurde in einer Reihe von Arbeiten der Einfluss von Luftfeuchtigkeit und Temperatur auf die Mustererzeugung mit DPN mit unterschiedlichen Tinten quantifiziert. De Yoreo et al. untersuchten die Abscheidung von MHA auf Goldsubstraten als Funktion der Kontaktzeit und der Luftfeuchtigkeit,<sup>[22]</sup> wobei sie eine schnellere Abscheidung bei höheren Luftfeuchtigkeiten beobachteten. Sie führten dieses Ergebnis auf das Zusammenwirken zweier Parameter zurück: der Kinetik der Auflösung der Tinte in den Meniskus und der Größe des Meniskus. Demgegenüber fanden Sheehan und Whitman in ähnlichen Untersuchungen mit ODT eine vernachlässigbare Abhängigkeit der Schreibgeschwindigkeit von der Umgebungsfeuchtigkeit.<sup>[23]</sup> Parallel zu diesen Studien untersuchten wir die Abscheidung sowohl von MHA als auch von ODT mit DPN als Funktion von Luftfeuchtigkeit und Temperatur.<sup>[33]</sup> In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von De Yoreo et al. sowie von Sheehan und Whitman zeigte sich, dass MHA bei höherer Luftfeuchtigkeit schneller abgeschieden wird, während bei ODT nur eine geringe bis gar keine Abhängigkeit auftrat. Wie aber eingangs erwähnt, hängt der molekulare Transport von der AFM-Spitze zur Oberfläche von vielen Variablen ab; unsere Ergebnisse zeigen lediglich, dass der Grad der Feuchtigkeitsabhängigkeit wiederum von der Temperatur abhängen könnte (und umgekehrt).<sup>[33]</sup> Solche Ergebnisse unterstreichen die Notwendigkeit, die experimentellen Bedingungen zu überwachen, um reproduzierbare und vergleichbare Resultate zu erhalten.

Das unterschiedliche Verhalten von ODT und MHA lässt sich mit unterschiedlichen Löslichkeiten im Wassermeniskus erklären. Diese Interpretation ist in Einklang mit der beobachteten Temperatur- und Feuchtigkeitsabhängigkeit der Abscheidungsgeschwindigkeiten und stützt außerdem Daten, die belegen, dass die Abscheidung von DNA-Oligomeren (einer der hydrophilsten Tinten, die bisher untersucht wurden) äußerst empfindlich von der Umgebungsfeuchtigkeit abhängt (mit steigenden Feuchtigkeitswerten wird die Abscheidung schneller, bei niedrigen Feuchtigkeitswerten (unter 30 %) erfolgt kein Transport).<sup>[12]</sup>

Ein überraschendes Ergebnis dieser ersten Untersuchungen ist, dass das Wachstum der Strukturgrößen als Funktion

der Kontaktzeit trotz der hochgradig unterschiedlichen Materialien – angefangen bei einfachen Alkanthiolen<sup>[33]</sup> über Oligonucleotide<sup>[12]</sup> und Silazane<sup>[81]</sup> bis hin zu leitfähigen Polymeren<sup>[9]</sup> – durch einen sehr ähnlichen funktionellen Zusammenhang beschrieben wird (obwohl die „Geschwindigkeitskonstanten“ breit variieren). Für die Erzeugung von Punktmustern (wofür man die AFM-Spitze in stationären Kontakt mit der Oberfläche bringt) wurde zunächst eine lineare Abhängigkeit der Punktfläche  $a$  von der Kontaktzeit  $t$  formuliert [Gl. (1)].  $k$  dient als Anpassungsparameter und hängt von der Tintenart, der Temperatur, der Feuchtigkeit usw. ab,  $b$  beschreibt das Verhältnis Größe/Belegung der Kontaktspitze.

$$a = k t + b \quad (1)$$

Diese Funktion ist konsistent mit einer AFM-Spitze mit konstantem Tintenfluss, entsprechend dem von Schatz, Ratner et al. formulierten Modell der zweidimensionalen Diffusion aus einer Quelle.<sup>[82]</sup> Als einen Gegenentwurf zum Modell mit konstantem Tintenfluss schlugen Sheehan und Whitman kürzlich ein Modell mit konstanter Tintenkonzentration vor.<sup>[23]</sup> Sie formulierten einen Ausdruck für die Tintenkonzentration auf der Oberfläche als Funktion der Abscheidungszeit und des Abstandes Oberfläche–AFM-Spitze. Im Bereich der dort untersuchten Kontaktzeiten scheint dieses Modell die Daten leicht besser wiederzugeben als Gleichung (1). Allerdings wurde bis dato keines der Modelle über einen breiten Bereich von Kontaktzeiten (mehrere Größenordnungen) systematisch getestet. Ein solches Experiment würde Aufschluss darüber geben, ob die Kontaktspitze eher als Quelle eines konstanten Flusses oder einer konstanten Konzentration aufzufassen ist. Es ist auch vorstellbar, dass je nach Bedingungen (Molekülart, Abtastgeschwindigkeit, Temperatur, Luftfeuchtigkeit usw.) das eine oder das andere Modell passender ist. Diesbezüglich ist es bemerkenswert, dass De Yoreo et al. die Gleichung (1) an ihre Daten anpassen konnten,<sup>[22]</sup> allerdings mit zwei unterschiedlichen Geschwindigkeitskonstanten bei unterschiedlichen Kontaktzeiten. Die Geschwindigkeiten wurden zwei Zuständen zugeordnet, wobei einmal die Ablösung der Tinte von der Kontaktspitze (kurze Kontaktzeiten, hohe Abtastgeschwindigkeiten) und einmal die Tintendiffusion (lange Kontaktzeiten, kleine Abtastgeschwindigkeiten) als geschwindigkeitsbestimmender Prozess betrachtet wurde. Einige Molekülarten zeigen in DPN-Experimenten auch „anomale“

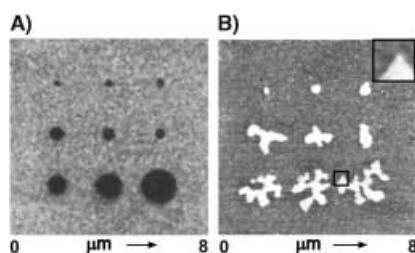


Abbildung 14. „Normale“ Diffusion (A) von ODT auf Gold und „anomale“ Diffusion (B) von 1-Dodecylamin auf Glimmer. Wiedergabe mit Genehmigung nach Lit. [21].

Diffusionseigenschaften und bilden bevorzugt fraktale statt kreisförmige Strukturen (Abbildung 14).<sup>[21]</sup>

Alles weist darauf hin, dass Temperatur- und Feuchtigkeitseffekte von der verwendeten Molekülart abhängen. Es ist sogar denkbar, dass unterschiedliche Moleküle durch grundlegend unterschiedliche Mechanismen zur Oberfläche transportiert werden. Ein Vergleich der Transporteigenschaften eines aliphatischen Thiols wie ODT und von DNA veranschaulicht diesen Aspekt: Verschiedene Arbeitsgruppen konnten zeigen, dass die Geschwindigkeit der ODT-Abscheidung nur wenig von der Luftfeuchtigkeit beeinflusst wird. Demgegenüber wurde gefunden, dass bei Oligonucleotid-Tinten die Fläche der bei konstanter Kontaktzeit erzeugten Spots bei einer Änderung der relativen Luftfeuchtigkeit von weniger als 20% um nahezu eine Größenordnung variierte. Die Erzeugung von DNA-Mustern erwies sich als schwierig sowohl bei niedrigen (keine Abscheidung zu beobachten) als auch bei sehr hohen Feuchtigkeitswerten (hier verhinderte der schnelle DNA-Fluss vom Cantilever zur Oberfläche die Musterbildung). Denkbar ist, dass bei verschiedenen Molekülen ähnliche Phänomene eine Rolle spielen, angefangen von Variationen in der Viskosität hygrokopischer Tintenlösungen bei der Äquilibrierung mit den Umgebungsbedingungen bis hin zur Größe des Wasserminiskus zwischen der Kontaktspitze und Oberfläche.

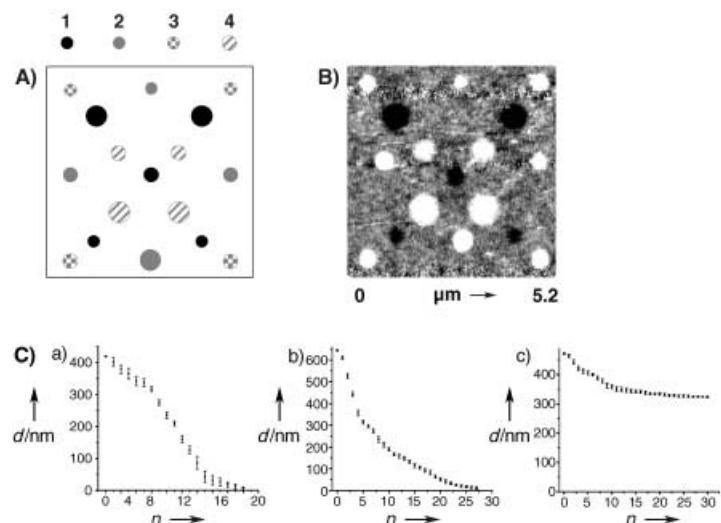
Was die theoretische Seite betrifft, untersuchten Schatz und Ratner et al. die Kondensation des Flüssigkeitsmeniskus zwischen der AFM-Spitze und der Oberfläche durch großkanonische Monte-Carlo-Simulation eines zweidimensionalen Gittergases.<sup>[83]</sup> Das Modell berücksichtigt unterschiedliche Effekte (etwa die Benetzbarkeit und Krümmung der AFM-Spitze), die für das DPN-Verfahren wichtig sein sollten. Diese Untersuchungen liefern wichtige Erkenntnisse und ermöglichen qualitative Vorhersagen zur Größenabhängigkeit DPN-erzeugter Strukturen von der Umgebungsfeuchtigkeit – zumindest unter der Annahme, dass das Aufbringen der Tinte auf die Oberfläche thermodynamisch kontrolliert ist und mit der Größe des Meniskus in Beziehung steht.

Diese Untersuchungen markieren einen vielversprechenden Anfang, vieles bleibt indes noch zu tun. Was die Theorie betrifft, so wird eine vollständige Simulation des DPN-Vorgangs wahrscheinlich Modelle erfordern, die die Thermodynamik der Meniskusbildung mit den dynamischen Effekten der Tintenabscheidung, dem Transport durch den Meniskus und der Selbstorganisation kombiniert. Experimentell ist ein direkter Vergleich der Transporteigenschaften einer Vielfalt von Tinten unter breit gefächerten Versuchsbedingungen erforderlich.

Die Musterbildung auf einer Oberfläche kann mit AFM/LFM *in situ* bildlich dargestellt werden, sodass das DPN-Verfahren die einzigartige Möglichkeit bietet, die Dynamik der Keimbildung der Monoschicht und des Wachstumsprozesses zu untersuchen. Zwar wurden auch schon früher Rastersondentechniken eingesetzt, um die Bildung und das Wachstum von SAM-Strukturen mit molekularer Auflösung abzubilden,<sup>[84–86]</sup> mit der Anwendung von DPN lässt sich jedoch ein völlig neues experimentelles Niveau erreichen. Insbesondere ermöglicht die serielle Natur eines solchen Experiments sowohl die ortsspezifische als auch die zeitliche

Modulation des Monoschichtwachstums, sodass der Prozess der Oberflächenmodifikation schrittweise abgebildet und die Oberflächenstruktur bei einem kontinuierlichen Gradienten der Versuchsbedingungen unmittelbar verglichen werden kann. In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Hong nutzten wir diesen Ansatz zur Untersuchung der Bildung von ODT- und MHA-Monoschichten.<sup>[87]</sup> Statt die AFM-Spitze zur Erzeugung von Nanopunkten an einem Punkt festzuhalten, wurden beschichtete Kontaktspitzen schnell über das Substrat gefahren, wobei eine Serie von Bildern erhalten wurde (man beachte, dass eine vollständige Theorie der Abscheidung einer Substanz auf einer Oberfläche mit DPN letztlich sowohl diesen Rapid-Scan-Modus als auch die Punktbildung bei langen Verweilzeiten erfassen muss). Es zeigte sich, dass bei 30 % relativer Luftfeuchtigkeit die Bildung einer ODT-Monoschicht nach einem Keimbildungs- und Wachstumsprozess verläuft, bei dem selbst bei niedrigen Oberflächenbelegungen kleine kristalline ODT-Domänen erscheinen. Beim Wachstum von MHA-Monoschichten zeigte sich dagegen eine völlig andere Kinetik, nämlich eine gleichförmige Bedeckung von Au-Terrassen bis zur Sättigung. Auch diese Unterschiede wurden mit der Bildung eines Wassermeniskus und der relativen Hydrophilie der Tintenmoleküle erklärt. Eine systematische Untersuchung einer Serie von Adsorbaten wäre aufschlussreich.

In einer anderen Anwendung setzten wir DPN als Methode zur In-situ-Untersuchung von Austauschprozessen in Monoschichten ein.<sup>[7]</sup> Ein DPN-induzierter ortsspezifischer Austausch könnte zur Herstellung einer Vielfalt komplexer Nanostrukturen eingesetzt werden. Ein genaues Verständnis dieser Prozesse ist insbesondere für die Aufbringung von gemischten Monoschichten wichtig (z.B. für die geregelte Adsorption von Viruspartikeln; siehe Abschnitt 2.2). Zur Untersuchung der relativen Austauschgeschwindigkeiten wurde eine Reihe von Adsorbaten, darunter ODT, MHA, (11-Sulfanylundecyl)ferrocen und (11-Sulfanyl-1-oxoundecyl)ferrocen, mit DPN zu einer Serie von „Nano-Bibliotheken“ strukturiert (Abbildung 15 A,B). Diese Anordnung erleichtert den unmittelbaren Vergleich der Austauschenschaften einer Serie von Adsorbaten unter identischen Bedingungen als Funktion der Strukturgröße und Zusammensetzung. Außerdem ergibt sich durch den ortsspezifischen und seriellen Charakter der DPN-induzierten Austauschexperimente eine Möglichkeit, kinetische Daten über eine große Zahl nahezu identischer Nanostrukturen zu erhalten (Abbildung 15 C). Für die Adsorbat-Monoschichten wurde folgende Reihenfolge der relativen Stabilitäten ermittelt: MHD > ODT > (11-Sulfanylundecyl)ferrocen > (11-Sulfanyl-1-oxoundecyl)ferrocen. Außerdem wurde beobachtet, dass der Austausch innerhalb der Nanostrukturen bevorzugt von außen nach innen erfolgt, was zum einen mit dem in Abschnitt 2.2 beschriebenen „elektrochemischen Schnitzen“ in Einklang ist,<sup>[50]</sup> zum anderen auf einen fehlervermittelten Austauschprozess hinweist. Diese Hypothese wurde durch Experimente mit Einkristall-Goldoberflächen bestätigt, die



**Abbildung 15.** Untersuchung des ortsspezifischen Austauschs in Monoschichten mithilfe von DPN. A) Schematische Darstellung einer kombinatorischen Bibliothek von vier molekularen Tinten; B) LFM-Abbildung der Bibliothek aus (A), aufgenommen mit einer sauberen Kontaktspitze bei 4 Hz und einer Kontaktlast von 0.5 nN (24°C, 40 % relative Feuchtigkeit). C) Punkt-Durchmesser ( $d$ ) der Bibliothek in (B) als Funktion der Zahl der Scans ( $n$ ) bei 3 Hz mit einer ODT-beladenen Kontaktspitze: a) 3, b) 4, c) 2. In allen Fällen wurde eine Fläche von  $5.4 \times 5.4 \mu\text{m}$  abgetastet. 1 ODT, 2 MHA, 3 (11-Sulfanyl-1-oxoundecyl)ferrocen, 4 (11-Sulfanylundecyl)ferrocen. Wiedergabe mit Genehmigung nach Lit. [7].

zeigten, dass die Monoschichten gegen den DPN-induzierten Austausch auf Gold-Einkristalloberflächen deutlich stabiler sind als gegen einen Austausch auf polykristallinen Goldoberflächen.

Mit den hier beschriebenen Experimenten wurde nur an der Oberfläche gekratzt, und sicher wird eine ganze Serie von DPN-Studien zum Tintentransport, zur Oberflächenkinetik und zum Molekulaustausch folgen. Zum Beispiel kann DPN genutzt werden, um strukturierte Diffusionsbarrieren von der Dicke einer Monoschicht auf Oberflächen zu erzeugen und innerhalb dieser Strukturen selektiv Tinten abzuscheiden.<sup>[3]</sup> Um den Vorgang der Musterbildung zu verstehen, ist es notwendig, die Thermodynamik der Meniskusbildung in der Umgebung solcher Strukturen zu untersuchen sowie Aufschluss über die Kinetik der Austauschprozesse und der Tintendiffusion auf nativen und modifizierten Oberflächen zu erhalten.

#### 4. Entwicklung einer Hochdurchsatz-Dip-Pen-Nanolithographie

Bislang konzentrierte sich dieser Aufsatz auf Fortschritte in der „Einzelstift“-DPN als leistungsfähige Technik zur Erzeugung und Untersuchung von Strukturen, die mit anderen Techniken wenn überhaupt nur schwer zugänglich sind. Wie alle Rastersonden- und lithographischen Techniken ist die DPN jedoch im Prinzip ein serielles Verfahren. Mit dem Ziel, den Durchsatz und die durch Rastersondenverfahren zugängliche Fläche zu erhöhen, verfolgen zahlreiche

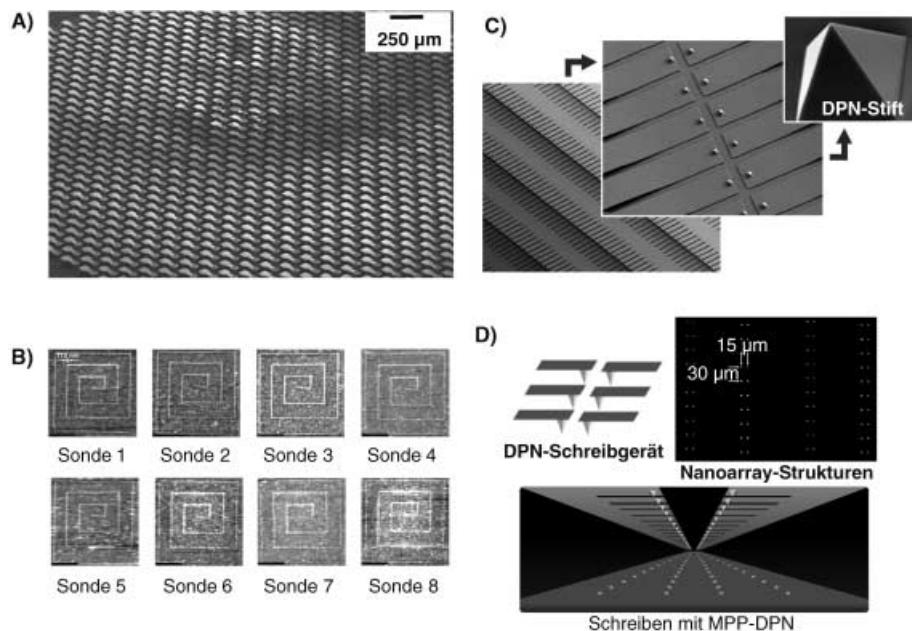
Forschergruppen weltweit die Entwicklung von Cantilever-Arrays mit parallel betriebenen Sonden. In Zusammenarbeit mit unserer Arbeitsgruppe<sup>[3]</sup> entwickelten C. Liu et al. MEM-basierte Strategien mit parallelen Sonden, wobei speziell den Einschränkungen bei DPN-Anwendungen Rechnung getragen wurde.<sup>[92, 94, 95]</sup>

Eine intensive Forschung zu parallelen Sonden wird vor allem bei IBM<sup>[88, 89]</sup> und an der Universität Stanford betrieben.<sup>[90, 91]</sup> Das primäre Ziel bei IBM ist die Entwicklung von Bauelementen mit hoher Speicherdichte. Implementiert wurde bis dato ein unabhängig adressierbarer  $32 \times 32$ -Sondenarray innerhalb des IBM-eigenen Millipede-Projekts. Der 1024-Cantilever-Array hat eine Seitenlänge von etwa 3 mm, wobei jedem Cantilever eine Schreib-Lese-Fläche von ca.  $100 \times 100 \mu\text{m}$  zugewiesen ist. Das eigentliche Speichermedium ist ein dünner Polymerfilm. Um ein Datenbit zu schreiben, wird die Kontaktspitze auf über  $400^\circ\text{C}$  erhitzt, sodass sie in das Polymer einsinken kann. Das Auslesen erfolgt bei etwas niedrigeren Temperaturen. Spitzen, die in Kontakt mit einem geschriebenen Datenbit geraten, kühlen schneller ab als Spitzen, die auf der Polymeroberfläche ruhen. Daneben entwickelten Quate et al. eine Reihe von 1D- und 2D-Sondenarrays für Bildgebungs- und lithographische Anwendungen. Ihr Ansatz zur lithographischen Musterbildung beruht im Prinzip auf einer strominduzierten Lithographietechnik, wobei der von der Kontaktspitze fließende Strom durch die Vorspannung an Kontaktspitze und Substrat reguliert wird.<sup>[90, 91]</sup>

Die Anforderungen für einen thermischen Datentransfer und für strominduzierte lithographische Methoden unterscheiden sich gravierend von den Anforderungen für DPN-Anwendungen. In einem DPN-Experiment wird ein Muster erzeugt, indem eine beschichtete AFM-Spitze in Kontakt mit einer Oberfläche gebracht wird, was die unabhängige Regelung des Ein- und Aus-Zustandes jedes einzelnen Cantilevers innerhalb eines Arrays und damit verbunden eine unabhängige Steuerung der Kontaktlast des Cantilevers auf der Oberfläche (oder seines Abstands von der Oberfläche) erfordert – eine ingenieurtechnische Herausforderung, die mit einer einfachen Temperaturkontrolle oder der Regelung einer Vorspannung nicht vergleichbar ist. Mit der Vorgabe, DPN-Parallelsondenysteme leicht zugänglich zu machen und zu einer weiten Verbreitung zu verhelfen, treten außerdem die Fertigungskosten und die Implementierung in Standard-AFM-Systeme als Designkriterien hinzu.

Die einfachste Implementierung einer Parallelstift-DPN wäre ein passiver Sondenarray. Hierbei werden die einzelnen Kontaktstifte nicht unabhängig voneinander angesteuert, sondern simultan mit der Oberfläche in Kontakt gebracht und gemeinsam über die Oberfläche geführt, was die Vervielfältigung eines einzelnen Muster um einen Faktor

entsprechend der Zahl der Sonden im Array ermöglicht. Bei den ersten Experimenten auf diesem Gebiet wurden kommerzielle Cantilever mit Kontaktspitzenabständen von 1.4 mm eingesetzt.<sup>[3]</sup> C. Liu et al. beschrieben kürzlich die Herstellung von Cantilever-Arrays mit bis zu 10000 Stiften (Abbildung 16 A). In Zusammenarbeit mit C. Liu gelang es uns, einen Schreibprozess mit Arrays von 32 Parallelsonden



**Abbildung 16.** DPN mit Parallelsonden. A) SEM-Aufnahme eines hochdichten 2D-Arrays von DPN-Passivsonden (mit Genehmigung von C. Liu, University of Illinois at Urbana-Champaign); B) topographische AFM-Aufnahmen (Kontakt-Modus) von acht Kopien eines ODT-Musters, erzeugt mit einem Parallelsondenarray von AFM-Cantilevern (Wiedergabe mit Genehmigung nach Lit. [92]); C) SEM-Aufnahmen des kommerziellen „Massively-Parallel Pen“ (MPP)-Arrays; D) Fluoreszenz-Mikroaufnahme von Spots, erzeugt mit dem MPP-Array. C, D) mit Genehmigung von NanoInk, Inc.

zu realisieren. Abbildung 16B zeigt Aufnahmen von acht parallel geschriebenen 60-nm-Strukturen.<sup>[92]</sup> Da nur ein einziger Cantilever im Array eine aktive Rückkopplung eingeht, während die übrigen Cantilever die Topographie nur passiv überfahren, muss die Lagegenauigkeit des Arrays auf dem Substrat und die Flexibilität der Cantilever bestimmten Randbedingungen genügen.<sup>[92]</sup> Bei NanoInk begann man mit der Fertigung eines Prototyps eines Passivarrays mit einer Million Stifte (Abbildung 16C,D).<sup>[93]</sup> Um ohne Abstriche bei der Lagegenauigkeit des DPN-Verfahrens große Bereiche mit hohem Durchsatz zu strukturieren, entwickelten wir in Zusammenarbeit mit C. Liu DPN-Kontaktspitzen aus PDMS. Die Technik wurde von uns als SP-CP (scanning-probe contact printing) bezeichnet.<sup>[94]</sup>

Die nächste Entwicklungsstufe ist die unabhängige Ansteuerung der einzelnen Sondenspitzen, z.B. durch piezoelektrische, kapazitive oder thermoelektrische Aktuatoren. Die erste Generation aktiver DPN-Arrays mit Parallelsonden nutzt einen thermoelektrischen Aktuator. Das Erwärmen eines Mehrschicht-Cantilevers mit einer Widerstandsheizung führt zu einer differentiellen Ausdehnung der Komponenten

und zu einem Biegen der Sonde. Durch diesen Ansatz konnte mit hoher Geschwindigkeit eine Reihe komplexer Muster erzeugt werden, da der Kontakt zwischen jeder Spitze und der Oberfläche unabhängig gesteuert wird. C. Liu et al. entwickelten auch Strategien zur unabhängigen Verifizierung des An- und Aus-Zustandes jeder Sonde in einem Parallelarray (durch elektrische Leitfähigkeit).<sup>[95]</sup>

Das ultimative Ziel einer vollständigen MEMS-Integration der DPN-Technik erfordert die Automatisierung der Kontaktspitzenbeschichtung und der Tintenfreisetzung. Es wurde vorgeschlagen, maßgefertigte Mikrofluidsysteme einzusetzen, um die einzelnen Cantilever in einem Parallelsondenarray zu präparieren. Die Realisierung solcher Systeme hängt von der Entwicklung und Anpassung einer Reihe von Techniken ab. Ein hoher Integrationsgrad von Mikrofluidtechniken ist nach wie vor nicht trivial; nach dem gegenwärtigen Stand der Technik liegt die Grenze bei 1000 individuell adressierbaren Kompartimenten.<sup>[96]</sup> Um den Anforderungen an die Präparation von Parallelsondenarrays zu genügen (das ultimative Ziel ist die Präparation von 10000 Kontaktstiften mit unterschiedlichen Tinten), müssen somit neue Mikrofluidarrays mit adressierbaren Kompartimenten implementiert werden. Solche Systeme befinden sich bereits in der Entwicklung.<sup>[97]</sup> Eine weitere attraktive Möglichkeit, die über die Methodik des Eintauchens der Kontaktspitzen in Mikrofluid-Tintenkompartimente hinausgeht, ist die direkte Integration der Mikrofluidsysteme in die Kontaktspitzen. In einer Erweiterung der DPN-Technik (die zu Vergleichen mit einem Füllfederhalter führte)<sup>[98]</sup> wurden sowohl Mikro- als auch Nanopipetten als Rastersondenspitzen mit Hohlkern genutzt. Als Tinten wurden chemische Ätzmittel,<sup>[98]</sup> Photoresiste<sup>[99]</sup> und sogar Biomoleküle<sup>[26,100]</sup> eingesetzt, die zur ortsspezifischen Lithographie zur Oberfläche gepumpt wurden. Ein Hindernis dieser Forschungen besteht darin, dass man die Glaskapillaren von Hand ziehen muss, allerdings nutzen Espinosa et al. seit kurzem Fortschritte in der Mikrofabrikation, um solche hoch parallelen Fountain-Pen-Arrays herzustellen.<sup>[101]</sup> Es ist geradezu verblüffend, wie die Entwicklung der DPN der Entwicklung der konventionellen Schreib- und Drucktechniken – vom Federkiel über den Füllfederhalter zu den modernen Druckern – gefolgt ist. Tatsächlich lehnte sich diese Entwicklung sehr eng an den Weg an, der schon unmittelbar nach der Erfindung der DPN vorgeschlagen wurde.<sup>[60,102–107]</sup>

## 5. Zusammenfassung und Ausblick

Die Dip-Pen-Nanolithographie ist eine einzigartige lithographische Rastersondennmethode zur Erzeugung hoch aufgelöster Muster chemischer Funktionalitäten auf einer Vielzahl von Oberflächen. Die Kombination von Auflösung, Lagegenauigkeit und Direktschreibvermögen hebt die DPN von jeder anderen lithographischen Technik ab und macht sie zu einer vielversprechenden Methode für die Erzeugung von nanoskopischen Mustern aus „weichen“ organischen und biologischen Molekülen. Viele andere neuere lithographische Methoden wie Mikrokontakteindrucken ( $\mu$ CP) und Nanoimprint-Lithographie (NIL) wurden mit dem Ziel entwickelt,

hinsichtlich der Kosten und, im Fall von NIL, einer höheren Auflösung mit existierenden Techniken im Halbleitersektor konkurrieren zu können. Ein attraktives Merkmal der DPN besteht darin, dass diese Methode sowohl der wissenschaftlichen Grundlagenforschung als auch dem technischen Fortschritt dienlich ist und im Speziellen das Drucken von Mehrkomponentenstrukturen mit einer Auflösung ermöglicht, an die konventionelle lithographische Methoden nicht heranreichen. In einem Zeitalter der Nanotechnologie, wo es darauf ankommt, Nanostrukturen jeder beliebigen Zusammensetzung, Größe und Form herstellen zu können, sollte sich die DPN bereits mit ihrem gegenwärtigen Stand der Technik als ein wertvolles Instrument zur Fortentwicklung der Wissenschaft und Technologie miniaturisierter Strukturen bewähren. Sollten die derzeit intensiven Anstrengungen, die DPN-Methode in einen Parallelprozess zu transformieren, erfolgreich sein, dann wird eine leistungsfähige Fertigungsmethode für die Life Sciences und für die Halbleiterindustrie zur Verfügung stehen.

In diesem Aufsatz wurden viele Bereiche der aktiven DPN-Forschung angesprochen, z.B. die Erzeugung von Nanoarrays aus Biomolekülen für diagnostische Anwendungen oder die Grundlagenforschung zu Ligand-Rezeptor-Wechselwirkungen. Weitere attraktive Gebiete sind die Herstellung von Templayen zur Anbindung (und zur Direktabscheidung) von kolloidalen Partikeln oder die Herstellung von „harten“ Nanostrukturen durch Direktabscheidung und Ätzen. Der Abscheideprozess bei DPN ist noch längst nicht vollständig aufgeklärt, besonders was den Transport und die Diffusion der Tinte von der Kontaktspitze zum Substrat angeht, dank einer Reihe von Untersuchungen der letzten Jahre aber gewinnt man allmählich Aufschluss über die Vorgänge. Der Unterschied in den Transporteigenschaften zweier sehr ähnlicher Moleküle wie ODT und MHA verdeutlicht, wie empfindlich dieser Prozess auf Umgebungsbedingungen reagiert. Eine vollständige Theorie der Abscheidung einer Substanz auf einer Oberfläche mit DPN muss die Effekte der Meniskusbildung und die Kinetik des Tintentransports so kombinieren, dass die spezifische Chemie individueller Tinten erklärbar wird.

Abschließend haben wir die in Gang befindliche Entwicklung von passiven und aktiven DPN-Parallelspitzen-Arrays beschrieben. Die künftige Entwicklung vorherzusagen ist zwar mühsam, gleichwohl aber faszinierend, sodass wir einige Spekulationen anstellen wollen. Eine Anwendung, die unmittelbar in den Sinn kommt, ist die Hochdurchsatz-Abscheidung biomolekularer Arrays. Zurzeit werden Roboter-Spotting-Systeme (mit nur 4–16 parallelen Nadeln) eingesetzt, um maßgeschneiderte DNA- und Protein-Chips herzustellen. Selbst DPN-Systeme mit moderater Parallelität können mit diesen Systemen hinsichtlich Durchsatz konkurrieren, wobei Fertigung und Screening ganzer Chips mit AFM-Technik ausgeführt wird. Vorstellbar wäre auch der Einsatz von DPN-Parallelsystemen in kombinatorischen Katalysestudien und zur Erzeugung von Mustern aus molekularen elektronischen Materialien mit hoher Lagegenauigkeit. Im Bereich Halbleiter schließlich bietet sich die DPN mit ihrer Fähigkeit zur Aufbringung und Entfernung von festem Material auf einem Substrat als ein Werkzeug zur

Fertigung, Überprüfung und Reparatur lithographischer Masken an. Es gibt keinen Zweifel, dass die DPN, sowohl in ihrer Einstift- als auch in ihrer Mehrstift-Variante, eine glänzende Zukunft vor sich hat.

*Wir danken dem Air Force Office of Scientific Research (AFOSR), der Defense Advanced Research Projects Agency (DARPA), dem Army Research Office (ARO) und der National Science Foundation (NSF) für ihre Unterstützung. D.S.G. dankt den National Institutes of Health (NIH) und DuPont für ein Postdoc-Stipendium.*

Eingegangen am 22. Mai 2003 [A608]  
Übersetzt von Dr. Hans Jörg Meier, Konstanz

- [1] R. D. Piner, J. Zhu, F. Xu, S. H. Hong, C. A. Mirkin, *Science* **1999**, 283, 661.
- [2] S. H. Hong, J. Zhu, C. A. Mirkin, *Science* **1999**, 286, 523.
- [3] S. H. Hong, C. A. Mirkin, *Science* **2000**, 288, 1808.
- [4] D. A. Weinberger, S. G. Hong, C. A. Mirkin, B. W. Wessels, T. B. Higgins, *Adv. Mater.* **2000**, 12, 1600.
- [5] H. Zhang, Z. Li, C. A. Mirkin, *Adv. Mater.* **2002**, 14, 1472.
- [6] H. Zhang, S.-W. Chung, C. A. Mirkin, *Nano Lett.* **2003**, 3, 43.
- [7] A. Ivanisevic, K. V. McCumber, C. A. Mirkin, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 11997.
- [8] B. W. Maynor, S. F. Filocamo, M. W. Grinstaff, J. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 522.
- [9] J. H. Lim, C. A. Mirkin, *Adv. Mater.* **2002**, 14, 1474.
- [10] A. Noy, A. E. Miller, J. E. Klare, B. L. Weeks, B. W. Woods, J. J. De Yoreo, *Nano Lett.* **2002**, 2, 109.
- [11] D. L. Wilson, R. Martin, S. Hong, M. Cronin-Golomb, C. A. Mirkin, D. L. Kaplan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, 98, 13660.
- [12] L. M. Demers, D. S. Ginger, S. J. Park, Z. Li, S. W. Chung, C. A. Mirkin, *Science* **2002**, 296, 1836.
- [13] M. Ben Ali, T. Ondarçuhu, M. Brust, C. Joachim, *Langmuir* **2002**, 18, 872.
- [14] Y. Li, B. W. Maynor, J. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 2105.
- [15] B. W. Maynor, Y. Li, J. Liu, *Langmuir* **2001**, 17, 2575.
- [16] L. A. Porter, H. C. Choi, J. M. Schmeltzer, A. E. Ribbe, L. C. C. Elliott, J. M. Buriak, *Nano Lett.* **2002**, 2, 1369.
- [17] L. Fu, X. G. Liu, Y. Zhang, V. P. Dravid, C. A. Mirkin, *Nano Lett.* **2003**, 3, 757.
- [18] M. Su, X. G. Liu, S. Y. Li, V. P. Dravid, C. A. Mirkin, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 1560.
- [19] J. Hyun, S. J. Ahn, W. K. Lee, A. Chilkoti, S. Zauscher, *Nano Lett.* **2002**, 2, 1203.
- [20] N. A. Amro, S. Xu, G.-y. Liu, *Langmuir* **2000**, 16, 3006.
- [21] P. Manandhar, J. Jang, G. C. Schatz, M. A. Ratner, S. Hong, *Phys. Rev. Lett.* **2003**, 90, 115505.
- [22] B. L. Weeks, A. Noy, A. E. Miller, J. J. De Yoreo, *Phys. Rev. Lett.* **2002**, 88, 255505.
- [23] P. E. Sheehan, L. J. Whitman, *Phys. Rev. Lett.* **2002**, 88, 156104.
- [24] G. Agarwal, L. A. Sowards, R. R. Naik, M. O. Stone, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 580.
- [25] R. McKendry, W. T. S. Huck, B. Weeks, M. Florini, C. Abell, T. Rayment, *Nano Lett.* **2002**, 2, 713.
- [26] A. Bruckbauer, L. M. Ying, A. M. Rothery, D. J. Zhou, A. I. Shevchuk, C. Abell, Y. E. Korchev, D. Klenerman, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 8810.
- [27] S. Matsubara, H. Yamamoto, K. Oshima, E. Mouri, H. Matsuoka, *Chem. Lett.* **2002**, 886.
- [28] Y. M. Jung, S. J. Ahn, E. R. Kim, H. Lee, *J. Korean Phys. Soc.* **2002**, 40, 712.
- [29] X. Hong, L. Wei, W. Guo, J. Li, W. L. Song, Y. B. Bai, T. J. Li, *Chem. J. Chin. Univ.* **2002**, 23, 1778.
- [30] L. Wei, X. Hong, W. Guo, Y. B. Bai, T. J. Li, *Chem. J. Chin. Univ.* **2002**, 23, 1386.
- [31] J. H. Liao, L. Huang, N. Gu, *Chin. Phys. Lett.* **2002**, 19, 134.
- [32] H. L. Zhang, Y. Guo, H. L. Li, D. Q. Yang, *Chem. J. Chin. Univ.* **1999**, 20, 1460.
- [33] S. Rozhok, R. Piner, C. A. Mirkin, *J. Phys. Chem. B* **2003**, 107, 751.
- [34] K. B. Lee, S. J. Park, C. A. Mirkin, J. C. Smith, M. Mrksich, *Science* **2002**, 295, 1702.
- [35] S. P. A. Fodor, *Science* **1997**, 277, 393.
- [36] E. S. Lander, *Nat. Genet.* **1999**, 21, 3.
- [37] D. R. Walt, *Science* **2000**, 287, 451.
- [38] A. Schulze, J. Downward, *Nat. Cell Biol.* **2001**, 3, E190.
- [39] M. Kato-Maeda, Q. Gao, P. M. Small, *Cell. Microbiol.* **2001**, 3, 713.
- [40] P. G. Marciano, J. H. Eberwine, R. Raghupathi, T. K. McIntosh, *Restor. Neurosci.* **2001**, 18, 105.
- [41] F. F. Bier, F. Kleinjung, *Fresenius J. Anal. Chem.* **2001**, 371, 151.
- [42] D. S. Wilson, S. Nock, *Angew. Chem.* **2003**, 115, 510; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 494.
- [43] R. C. Jin, Y. W. Cao, C. A. Mirkin, K. L. Kelly, G. C. Schatz, J. G. Zheng, *Science* **2001**, 294, 1901.
- [44] R. Elghanian, J. J. Storhoff, R. C. Mucic, R. L. Letsinger, C. A. Mirkin, *Science* **1997**, 277, 1078.
- [45] T. A. Taton, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, *Science* **2000**, 289, 1757.
- [46] J. H. Lim, D. S. Ginger, K. B. Lee, J. Heo, J. M. Nam, C. A. Mirkin, *Angew. Chem.* **2003**, 115, 2411; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 2309.
- [47] K. B. Lee, J. H. Lim, C. A. Mirkin, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 5588.
- [48] H. J. Dai, N. Franklin, J. Han, *Appl. Phys. Lett.* **1998**, 73, 1508.
- [49] G.-Y. Liu, N. A. Amro, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, 99, 5165.
- [50] Y. Zhang, K. Salaita, J. H. Lim, C. A. Mirkin, *Nano Lett.* **2002**, 2, 1389.
- [51] M. Mrksich, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, 6, 794.
- [52] J. C. Smith, K.-B. Lee, Q. Wang, M. G. Finn, J. E. Johnson, M. Mrksich, C. A. Mirkin, *Nano Lett.* **2003**, 3, 883.
- [53] C. L. Cheung, J. A. Camarero, B. W. Woods, T. Lin, J. E. Johnson, J. J. De Yoreo, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 6848.
- [54] Q. Wang, T. W. Lin, J. E. Johnson, M. G. Finn, *Chem. Biol.* **2002**, 9, 813.
- [55] Q. Wang, E. Kaltgrad, T. W. Lin, J. E. Johnson, M. G. Finn, *Chem. Biol.* **2002**, 9, 805.
- [56] L. M. Demers, C. A. Mirkin, *Angew. Chem.* **2001**, 113, 3159; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 3069.
- [57] J. P. Hoogenboom, D. L. J. Vossen, C. Faivre-Moskalenko, M. Dogterom, A. van Blaaderen, *Appl. Phys. Lett.* **2002**, 80, 4828.
- [58] J. Aizenberg, P. V. Braun, P. Wiltzius, *Phys. Rev. Lett.* **2000**, 84, 2997.
- [59] A. Ivanisevic, J. H. Im, K. B. Lee, S. J. Park, L. M. Demers, K. J. Watson, C. A. Mirkin, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 12424.
- [60] C. A. Mirkin, *MRS Bull.* **2000**, 25, 43.
- [61] N. C. Seeman, A. M. Belcher, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, 99, 6451.
- [62] C. M. Niemeyer, *Angew. Chem.* **2001**, 113, 4254; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 4128.
- [63] A. P. Alivisatos, K. P. Johnsson, X. G. Peng, T. E. Wilson, C. J. Loweth, M. P. Bruchez, P. G. Schultz, *Nature* **1996**, 382, 609.
- [64] L. M. Demers, S. J. Park, T. A. Taton, Z. Li, C. A. Mirkin, *Angew. Chem.* **2001**, 113, 3161; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 3071.
- [65] J. C. Garno, Y. Yang, N. A. Amro, S. Cruchon-Dupeyrat, S. Chen, G.-Y. Liu, *Nano Lett.* **2003**, 3, 389.

- [66] P. T. Hurley, A. E. Ribbe, J. M. Buriak, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11334.
- [67] G. Agarwal, R. R. Naik, M. O. Stone, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 7408.
- [68] M. Su, V. P. Dravid, *Appl. Phys. Lett.* **2002**, *80*, 4434.
- [69] G. M. Wallraff, W. D. Hinsberg, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 1801.
- [70] Y. N. Xia, J. A. Rogers, K. E. Paul, G. M. Whitesides, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 1823.
- [71] Y. Xia, G. M. Whitesides, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 568; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 550.
- [72] S. Y. Chou, *MRS Bull.* **2001**, *26*, 512.
- [73] M. Albrecht, C. T. Rettner, A. Moser, M. E. Best, B. D. Terris, *Appl. Phys. Lett.* **2002**, *81*, 2875.
- [74] Y. S. Kim, W. Hong, H. J. Woo, H. W. Choi, G. D. Kim, J. H. Lee, S. Lee, *Jpn. J. Appl. Phys. Part 1* **2002**, *41*, 4141.
- [75] G.-Y. Liu, S. Xu, Y. L. Qian, *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 457.
- [76] Y. N. Xia, X. M. Zhao, E. Kim, G. M. Whitesides, *Chem. Mater.* **1995**, *7*, 2332.
- [77] H. Zhang, K.-B. Lee, Z. Li, C. A. Mirkin, *Nanotechnology* **2003**, *14*, 1113.
- [78] M. J. Tarlov, D. R. F. Burgess, G. Gillen, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 5305.
- [79] J. Y. Huang, J. C. Hemminger, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 3342.
- [80] J. Y. Huang, D. A. Dahlgren, J. C. Hemminger, *Langmuir* **1994**, *10*, 626.
- [81] A. Ivanisevic, C. A. Mirkin, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7887.
- [82] J. K. Jang, S. H. Hong, G. C. Schatz, M. A. Ratner, *J. Chem. Phys.* **2001**, *115*, 2721.
- [83] J. K. Jang, G. C. Schatz, M. A. Ratner, *J. Chem. Phys.* **2002**, *116*, 3875.
- [84] G. E. Poirier, E. D. Pylant, *Science* **1996**, *272*, 1145.
- [85] G. E. Poirier, M. J. Tarlov, *Langmuir* **1994**, *10*, 2853.
- [86] C. A. Widrig, C. A. Alves, M. D. Porter, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 2805.
- [87] S. H. Hong, J. Zhu, C. A. Mirkin, *Langmuir* **1999**, *15*, 7897.
- [88] P. Vettiger, M. Despont, U. Drechsler, U. Durig, W. Haberle, M. I. Lutwyche, H. E. Rothuizen, R. Stutz, R. Widmer, G. K. Binnig, *IBM J. Res. Dev.* **2000**, *44*, 323.
- [89] W. P. King, T. W. Kenny, K. E. Goodson, G. L. W. Cross, M. Despont, U. T. Durig, H. Rothuizen, G. Binnig, P. Vettiger, *J. Microelectromech. Syst.* **2002**, *11*, 765.
- [90] E. M. Chow, G. G. Yaralioglu, C. F. Quate, T. W. Kenny, *Appl. Phys. Lett.* **2002**, *80*, 664.
- [91] T. Sulchek, R. J. Grow, G. G. Yaralioglu, S. C. Minne, C. F. Quate, S. R. Manalis, A. Kiraz, A. Aydine, A. Atalar, *Appl. Phys. Lett.* **2001**, *78*, 1787.
- [92] M. Zhang, D. Bullen, S. W. Chung, S. Hong, K. S. Ryu, Z. F. Fan, C. A. Mirkin, C. Liu, *Nanotechnology* **2002**, *13*, 212.
- [93] L. M. Demers, G. della Cioppa, *Genet. Eng. News* **2003**, *23*, 32.
- [94] X. Wang, K. S. Ryu, D. A. Bullen, J. Zou, H. Zhang, C. A. Mirkin, C. Liu, *Langmuir* **2003**, *19*, 8951.
- [95] J. Zou, D. Bullen, X. F. Wang, C. Liu, C. A. Mirkin, *Appl. Phys. Lett.* **2003**, *83*, 581.
- [96] T. Thorsen, S. J. Maerkl, S. R. Quake, *Science* **2002**, *298*, 580.
- [97] D. Banerjee, J. Fragala, T. Duenas, R. Shile, B. Rosner in *Proceedings of the Seventh International Symposium on Miniaturized Chemical and Biochemical Analysis (micro-TAS 2003)* (Squaw Valley, 5.–9. Oktober 2003), **2003**, S. 58.
- [98] A. Lewis, Y. Kheifetz, E. Shambrodt, A. Radko, E. Khatchatryan, C. Sukenik, *Appl. Phys. Lett.* **1999**, *75*, 2689.
- [99] M. H. Hong, K. H. Kim, J. Bae, W. Jhe, *Appl. Phys. Lett.* **2000**, *77*, 2604.
- [100] A. Bruckbauer, D. J. Zhou, L. M. Ying, Y. E. Korchev, C. Abell, D. Klenerman, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9834.
- [101] K.-H. Kim, C. Ke, N. Moldovan, H. D. Espinosa in *Proceedings of the Society of Experimental Mechanics Annual Conference* (Charlotte, NC, 2.–4. Juni 2003), **2003**, 235.
- [102] C. A. Mirkin, *Inorg. Chem.* **2000**, *39*, 2258.
- [103] C. A. Mirkin, R. D. Piner, S. Hong, U.S. Patent App. No. 20020063212, May 24, **2001**.
- [104] C. A. Mirkin, S. Hong, V. P. Dravid, U.S. Patent App. No. 20020122873, Jan. 28, **2002**.
- [105] C. A. Mirkin, G. della Cioppa, L. Demers, K.-B. Lee, S.-J. Park, U.S. Patent App. No. 20030068446, Oct. 2, **2002**.
- [106] C. A. Mirkin, V. P. Dravid, M. Su, X. Liu, U.S. Patent App. No. 20030162004, Dec. 17, **2002**.
- [107] C. A. Mirkin, R. Piner, S. Hong, U.S. Patent App. No. 20030157254, Nov. 22, **2002**.
- [108] X. G. Liu, S. W. Liu, C. A. Mirkin, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 4785; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 4933.
- [109] H. Jung, R. Kulkarni, C. P. Collier, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12096.
- [110] X. G. Liu, L. Fu, S. H. Hong, V. P. Dravid, C. A. Mirkin, *Adv. Mater.* **2002**, *14*, 231.
- [111] D. J. Pena, M. P. Raphael, J. M. Byers, *Langmuir* **2003**, *19*, 9028.
- [112] M. Su, S. Y. Li, V. P. Dravid, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9930.