

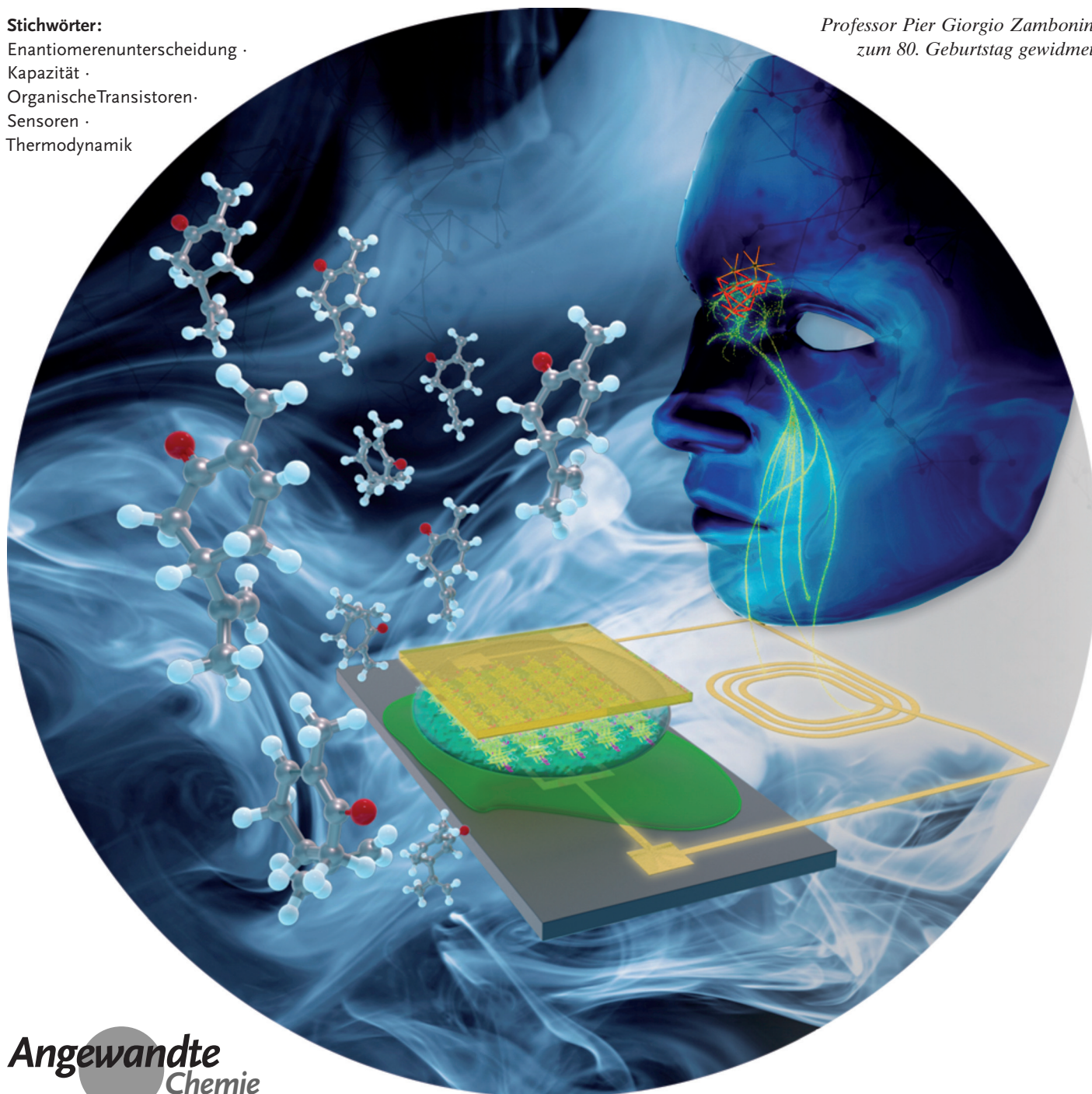
Druckbare Bioelektronik zur Untersuchung funktioneller biologischer Grenzflächen

*Kyriaki Manoli, Maria Magliulo, Mohammad Yusuf Mulla, Mandeep Singh, Luigia Sabbatini, Gerardo Palazzo und Luisa Torsi**

Stichwörter:

Enantiomerenunterscheidung ·
Kapazität ·
Organische Transistoren ·
Sensoren ·
Thermodynamik

*Professor Pier Giorgio Zambonin
zum 80. Geburtstag gewidmet*



Dünnschichttransistoren können als bioelektronische Bauelemente genutzt werden, um solche Aufgaben auszuführen wie Erkennung oder Steuerung der Freisetzung biologischer Spezies sowie Umwandlung der elektrischen Aktivität von Zellen oder sogar Organen wie des Gehirns. Organische Materialien sowie Graphen oder Zinkoxid werden als druckbare Halbleiterschicht eingesetzt, was zu leistungsfähigen kostengünstigen bioelektronischen Sensoreinheiten führen kann, die möglicherweise sehr nützlich für Vor-Ort-Anwendungen sind. Von Interesse sind unter anderem die elektrolytgesteuerten Transistoren, da sie aufgrund der hohen Kapazität der Ladungsdopelschichten als kapazitätsmodulierte Bauelemente betrieben werden können. Speziell die Kapazität der Bioschicht, die in einer Reihe von Kondensatoren geringer ist, beeinflusst den Ausgangsstrom des Bauelementes. Solch ein Phänomen ermöglicht eine äußerst hohe Empfindlichkeit gegen sehr schwache Wechselwirkungen. Sämtliche Aspekte, die diese Vorgänge bestimmen, werden besprochen.

Aus dem Inhalt

1. Einführung	12747
2. An die Oberfläche gebundene biologische Erkennungselemente	12749
3. Druckbare bioelektronische elektrolytgesteuerte Dünnschichttransistoren	12754
4. Zusammenfassung und Ausblick	12760

1. Einführung

Die Bioelektronik ist ein stark interdisziplinäres Forschungsgebiet, das darauf ausgerichtet ist, Schlüsseltechnologien zur Untersuchung von biologischen Grenzflächen zu entwickeln und den neuen Herausforderungen in den Biowissenschaften zu begegnen.^[1] Gegenwärtig umfasst es die Entwicklung von Anwendungen im Bereich der Biosensoren^[2] und in Bereichen, die mit der Entwicklung neuer Instrumente zur Erforschung neuronaler Schnittstellen verbunden sind.^[3] Untersuchungen in der Bioelektronik befassen sich außerdem sowohl mit der Herstellung neuer Gewebe^[4] als auch mit der Ausführung von Systemen zur kontrollierten Wirkstofffreisetzung.^[5]

Die Untersuchung der an den Vorgängen beteiligten Mechanismen wie jener, die die biochemischen Wechselwirkungen zwischen einem Erkennungselement (R), das in ein elektronisches Bauelement integriert ist, und seinem Liganden (L) bestimmen, spielt eine wichtige Rolle in der Bioelektronik.^[6] Insofern ist die Untersuchung dazu, wie sich die Wirksamkeit des Vorgangs der Bindung von L an R verändert, wenn die zunächst in einer Lösung dispergierte biologische Spezies an eine Oberfläche gebunden wird, von entscheidender Bedeutung; entsprechende Studien sind aber sehr selten. Die gewonnenen Erkenntnisse können auch bedeutsam sein für die Entwicklung extrem empfindlicher biologischer und chemischer Sensoren.^[6]

Einige der bisher vorgeschlagenen bioelektronischen Bauelemente werden mit kompatiblen Druckverfahren hergestellt, und ein derartiger Ansatz hat sich als nützlich zur Realisierung von Komponenten für Anwendungen wie Biosensoren^[7a,b] erwiesen, die als Einwegbauelemente oder sogar resorbierbare Bauelemente ausgeführt sein können.^[8] Die bioelektronischen Systeme der letztgenannten Klasse können implantiert werden und müssen schließlich nicht explantiert werden, nachdem sie ihre Aufgabe erfüllt haben. Was die Sensoren anbelangt, werden die digitale Qualität der analy-

tischen elektronischen Reaktion und die zu erwartenden extrem niedrigen Nachweisgrenzen die Möglichkeit eröffnen, zuverlässige quantitative Analysen von Proteinen (und Biomarkern allgemein) in Körperflüssigkeiten wie Speichel oder Tränen durchzuführen. Hierbei sind die Biomarker in femtomolarer (fM) oder geringerer Konzentration vorhanden. Schließlich können markierungsfreie nichtinvasive Streifentests konzipiert werden, die auf kostengünstig gedruckten bioelektronischen Sensoren beruhen. Dazu kann die organische Elektronik oder, ganz allgemein, die Druck-Biotechnologie, die bevorzugte Wahl bei der Herstellung solcher Bauelemente auf Kunststoffsubstraten^[9] oder sogar Papiersubstraten^[10] sein. Interessanterweise kann selbst eine Bioschicht durch Drucken aufgebracht werden.^[11] Es ist deshalb möglich, wenn auch sehr schwierig, allein durch Drucken ein vollständiges bioelektronisches Bauelement herzustellen. Entsprechende elektronische Teststreifen wären bezüglich ihrer Herstellungskosten vergleichbar mit handelsüblichen Einwegtests, die jedoch höchstens halbquantitative Ergebnisse liefern.

Die Verfügbarkeit von kostengünstigen elektronischen Einwegteststreifen, die durch Drucken hergestellt werden und eine Reaktion erbringen, deren analytische Qualität mit der von Tischgeräten für die biochemische Analyse vergleichbar ist, könnte die Vorgehensweise bei der Vor-Ort-Testung grundlegend verändern. So wird geschätzt, dass der Weltmarkt für derartige Biosensoren bis 2020 über 15 Mrd. Dollar erreichen wird, wobei ein Anteil von ca. 50 % auf Vor-Ort-Anwendungen entfallen wird.^[12] Aus diesem Grund

[*] Dr. K. Manoli, Dr. M. Magliulo, Dr. M. Y. Mulla, M. Sc. M. Singh, Prof. L. Sabbatini, Prof. G. Palazzo, Prof. L. Torsi
Dipartimento di Chimica
Università degli Studi di Bari „Aldo Moro“
Via Orabona 4, 70126 Bari (Italien)
E-Mail: luisa.torsi@uniba.it
Homepage: <http://www.luisatorsi.info>

konzentriert sich dieser Aufsatz auf bioelektronische Mikrobauelemente, die auf in Lösung verarbeiteten organischen Halbleitern, aber auch auf druckbaren Metalloxiden (z.B. ZnO),^[13] Kohlenstoff-Nanoröhren^[14] und Graphenen^[15] basieren.

Mehrere Gruppen haben zu den Fortschritten auf dem Gebiet der gedruckten Bioelektronik beigetragen und neue Strukturen vorgeschlagen, in die eine biologische Erkennungsschicht oder funktionelle Elemente, die direkt an eine der elektronischen Schichtstellen des TFT gekoppelt werden, integriert werden. Die bisher vorgeschlagenen bioelektronischen Systeme enthalten Ionenpumpen auf Basis organischer Elektronik, die die elektronische Steuerung des Transports von Ionen und Neurotransmittern,^[16] biomedizinischer Implantate^[17] und auch elektronischer Membranen, die sich in engem Kontakt mit biologischen Geweben befinden, ermöglichen.^[18] Diese Systeme basieren auf organischen oder druckbaren bioelektronischen Transistorstrukturen (hauptsächlich TFTs^[19], aber auch Feldeffekttransistoren, FETs),^[20] wobei sie unterschiedliche Konfigurationen und Funktionsprinzipien aufweisen. Wegen ihrer Bedeutung sollten unter anderem elektrochemische Transistoren,^[21] elektrolytgesteuerte TFTs,^[7a,22] ladungsmodulierte organische FETs^[23] und Strukturen mit Back-Gate^[24] oder Strukturen mit Double-Gate^[25] angeführt werden.

Die angegebenen Bauelemente werden gewöhnlich in zwei Hauptkategorien unterteilt: Transistoren, die einen Ionenleiter enthalten, und Transistoren, bei denen ein Isolator als Dielektrikum genutzt wird. Im Allgemeinen beruhen elektrochemische und elektrolytgesteuerte Transistoren auf einem flüssigen Elektrolyt als Dielektrikum, während alle anderen Strukturen einen festen Isolator enthalten. Die Sensoren, die ein festes Dielektrikum und eine Back-Gate-Konfiguration umfassen, weisen TFT-Strukturen auf. Typischerweise kontaktieren die Source-Elektrode (S) und die Drain-Elektrode (D) den druckbaren Halbleiter (PSC, „printable semiconductor“), während die Gate-Elektrode (G), über das feste Dielektrikum, kapazitiv gekoppelt an den PSC-Elektronenkanal ist. Bei den beiden bioelektronischen Back-Gate-Strukturen werden die biologischen Erkennungselemente entweder oben auf dem PSC integriert, wie in dem in Abbildung 1a dargestellten Doppelschicht-Transistor,^[26] oder unter dem PSC, wie in dem Transistor mit funktioneller biologischer Zwischenschicht (FBI, „functional bio-

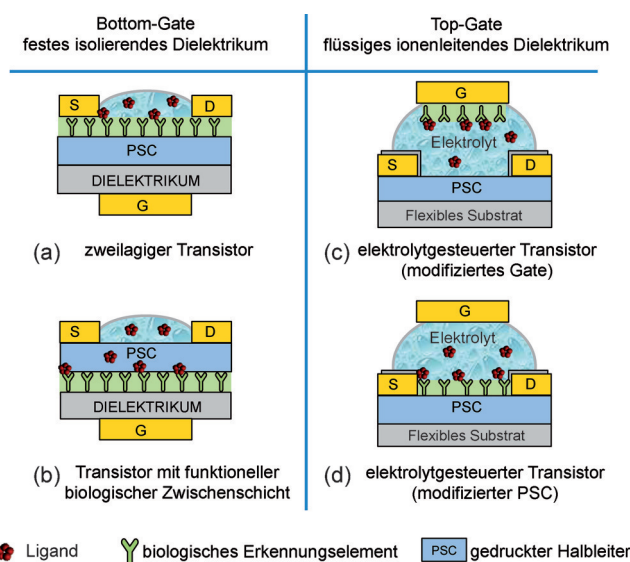


Abbildung 1. Verschiedene Strukturen bioelektronischer Bauelemente mit einer Bottom-Gate- oder Top-Gate-Elektrode sowie einem nichtleitenden oder ionenleitenden Dielektrikum.

interlayer“) in Abbildung 1b.^[27] Es wurde demonstriert, dass sich die Wechselwirkung des Affinitätsliganden (L) mit den integrierten Erkennungselementen (R) empfindlich und selektiv auf die Leistungsmerkmale des Transistors auswirkt. Tatsächlich können mit diesen markierungsfreien Bauelementen Nachweisgrenzen bis hinunter zu Konzentrationen im pM-Bereich erreicht werden, und die Reproduzierbarkeit der Reaktionen zeigt sich bei Bestimmungen, die einige hundertmal wiederholt wurden, durch eine relative Standardabweichung (RSD) von wenigen Prozent.^[28] Die Robustheit und das Potenzial für Anwendungen dieser markierungsfreien Methode in der Praxis wird auch durch Experimente demonstriert, mit denen gezeigt wird, dass in Meerwasser bis zu 10^4 Wiederholungsmessungen mit geringer RSD durchgeführt werden können.^[29] Die ladungsmodulierten organischen FETs, die einige Ähnlichkeiten mit der seit langem bestehenden Klasse der ionenempfindlichen FETs (ISFETs)^[30] aufweisen, haben in letzter Zeit zu einem leistungsfähigen referenzlosen Wandler der elektrischen Aktivität elektrogener Zellen geführt.^[31] Auch elektrochemische Transistoren sind auf besonderes Interesse für Chemosensor- und Bio-



Luisa Torsi erhielt 1989 ihr Diplom in Physik und promovierte 1993 in Chemical Sciences. Von 1994 bis 1996 arbeitete sie als Postdoktorandin bei Bell Laboratories. 2010 wurde ihr als erster Frau der Heinrich-Emanuel-Merck-Preis für Analytik verliehen. Sie ist Autorin von etwa 150 ISI-Artikeln und Mitinhaberin von mehreren Patenten. Ihre wissenschaftlichen Hauptbeiträge stammen aus dem Gebiet der organischen bioelektronischen Bauelemente für Sensoranwendungen. Als eine bedeutende Leistung gilt ihre Realisierung eines Festkörperbauelementes, mit dem der elektronische Nachweis chiraler Spezies in extrem niedrigen Konzentrationen möglich ist.



Gerardo Palazzo erhielt 1988 sein Diplom in Chemie, 2004 promovierte er in Applied Chemistry and Biochemistry. Er war Koordinator von mehreren Forschungsprojekten der Universität Bari und von CSGI. Gegenwärtig ist er Associate Professor für Physical Chemistry und Leiter des BS- und MS-Studiengangs Chemie an der Universität Bari. Er veröffentlichte mehr als 100 Artikel in Peer-Review-Zeitschriften und Büchern. Seine Hauptforschungsaktivitäten befassen sich mit der Charakterisierung weicher Materie mittels physikalisch-chemischer Verfahren, der Biophysik von Proteinen und der Entwicklung neuartiger Biosensoren.

sensoranwendungen gestoßen, weil biokompatible und was-serbeständige organische Halbleiter wie Poly(3,4-ethylendioxythiophen):Poly(styrolsulfonat) (PEDOT:PSS) eingebunden werden können. Der Wirkmechanismus der elektrochemischen Transistoren basiert auf der Dotierung des organischen Halbleiters^[32], und besonders interessant war kürzlich die Demonstration, dass mit dieser Bauelementklasse Hirn-signale in vivo erfasst werden können.^[33]

Es gibt bereits eine Reihe von Übersichtsartikeln zu Doppelschicht-Sensoren mit Back-Gate^[34] und FBI-Sensoren^[7,24b] sowie zu ISFETs^[23a] und elektrochemischen Transistoren als Sensoren,^[22b] während für bioelektronische Anwendungen eingesetzte elektrolytgesteuerte TFTs (EG-TFTs) relativ wenig behandelt werden.^[7a,22a,35] Dieser Aufsatz wird sich weitgehend auf letztere Klasse beschränken, insbesondere wird ein Überblick zu den Bauelementstrukturen gegeben, die in Abbildung 1c und Abbildung 1d skizziert sind. Hierbei ist eine Top-Gate-Elektrode über einen Elektrolyt an einen PSC gekoppelt. Bei den Strukturen wird die biologische Erkennungsschicht so integriert, dass sie entweder auf die Gate-Elektrode oder auf die PSC-Oberfläche aufgebracht wird. In beiden Fällen fungiert ein Ionenleiter als Dielektrikum. Neben der Veranschaulichung des hohen Leistungsniveaus, das beim Nachweis von Proteinen sowie von kleinen und sogar neutralen Molekülen erreicht werden kann, erörtern wir das große Potenzial von EG-TFTs für die Untersuchung einer Proteingrenzfläche, insbesondere wenn ungeladene biologische Spezies beteiligt sind. Bevor auf die Details einer bioelektronischen EG-TFT-Struktur und die Funktionsmechanismen eingegangen wird, werden die Eigenschaften von an die Oberfläche gebundenen funktionellen biologischen Erkennungselementen diskutiert.

2. An die Oberfläche gebundene biologische Erkennungselemente

Je nach ihrer Beschaffenheit können Biomoleküle unterschiedliche biologische Vorgänge ausführen: Antikörper, Trägerproteine und Nukleinsäuren können als Elemente zur molekularen Erkennung fungieren, molekulare Motoren können mechanische Arbeit verrichten, während Enzyme oder Ribozyme an katalytischen Reaktionen beteiligt sind. Bei derartigen Prozessen wird der mit natürlichen Biomolekülen erzielte Leistungsstand mit künstlich hergestellten Biosystemen im Wesentlichen noch nicht erreicht. Bei bioelektronischen Systemen werden die eingebundenen Biomoleküle daher vorzugsweise in lebenden Zellen synthetisiert oder aus biologischen Flüssigkeiten extrahiert. Die Biosysteme werden danach auf eine feste Oberfläche aufgebracht, entweder in ihrer ursprünglichen Form oder nach chemischer Modifizierung ad hoc, um eine biofunktionelle Grenzfläche zu erzeugen, die die Übertragung der biochemischen Information vermitteln kann. Die Bindung von biologischen Spezies an Oberflächen ist auch von Bedeutung für Anwendungen wie jene in der Biokatalyse,^[36] in der biologischen Sanierung^[37] und in molekularen Maschinen.^[38] Die Fälle des enzymgekoppelten Immunadsorptionstests (ELISA)^[39] oder von Verfahren der Oberflächenplasmonenresonanz (SPR)^[40]

können als Beispiele für den Goldstandard beim Bioassay herangezogen werden. Tatsächlich beruhen sie auf Biomolekülen, die auf feste Oberflächen aufgebracht wurden, wie Siliciumdioxid beim ELISA oder Gold bei SPR-Methoden, wobei aufgezeigt wird, wie an der Oberfläche segregierte biologische Spezies ihre Aktivität beibehalten können, was zuverlässige Analysen mit hohem Durchsatz ermöglicht. Es sollte noch erwähnt werden, dass bei ELISA-Assays eine Markierung erforderlich ist und SPR-Methoden durch eine Markierung unterstützt werden müssen, um Nachweisgrenzen unterhalb des nm-Bereiches routinemäßig zu erreichen.

Aus grundlegender Sicht ist es interessant, dass die Prozesse, die mit oberflächengebundenen Biomolekülen in Zusammenhang stehen und auf der Subnanometerskala ablaufen, mit einem Transducer in Mikrometergröße wirkungsvoll aufgezeigt werden können. So kann die Bindung eines Liganden an ein biologisches Erkennungselement solche Effekte hervorrufen wie Oberflächenverdrängung, Änderung des Kontaktwinkels oder elektrostatische Modifikation, die mit markierungsfreien Methoden, wie den auf Mikroauslegern,^[41] Goniometern^[42] oder Dünnschichttransistoren basierenden, untersucht werden können. Da diese Effekte die in Lösung auftretenden Effekte ergänzen können, wird ein besseres Verständnis des gesamten Prozesses erlangt. Bevor die thermodynamischen Instrumente vorgestellt werden, mit denen ein kompletteres Bild eines biologischen Prozesses, wie er in Lösung und an einer Oberfläche stattfindet, erhalten werden kann, wird ein kurzer Überblick über die wesentlichen Vorgänge der Immobilisierung eines Proteins gegeben.

2.1. Verankerung biologischer Erkennungselemente auf einer Oberfläche

Die Einbindung von biologischen Erkennungselementen wie Enzymen, Antikörpern, DNA oder ganzen Zellen in eine Transducer-Grenzfläche ist ein entscheidender Schritt bei der Herstellung vieler Bioelektronik- und Biosensorik-Plattformen. Um hochempfindliche und hochselektive Transducer zu erhalten, ist die wichtigste Voraussetzung, dass die Intaktheit und Aktivität der Biomoleküle nach zweidimensionaler Fixierung erhalten bleiben. Idealerweise müssen Biomoleküle auf festen Oberflächen mit hoher Dichte und kontrollierter Ausrichtung immobilisiert werden, um eine gute Zugänglichkeit der aktiven Bindungsstellen für den Affinitätsliganden zu gewährleisten. Es ist außerdem wichtig, die unspezifische Adsorption einzuschränken und die Stabilität zu erhöhen. Verschiedene Immobilisierungsmethoden, die größtenteils auf physikalischer Adsorption, kovalenter Bindung und bioaffiner Bindung basieren, wurden zur Verankerung von Biomolekülen genutzt, wobei ortsspezifische Verfahren besondere Beachtung fanden.^[43] Außerdem sollte der Einfluss äußerer Parameter wie Temperatur, Ionenstärke und pH-Wert während der Herstellung und des Betriebs des Bauelementes berücksichtigt werden, weil sie die Konformation und die Stabilität der gebundenen biologischen Erkennungselemente direkt beeinflussen. Die am meisten genutzten Immobilisierungsmethoden zur Einbindung von

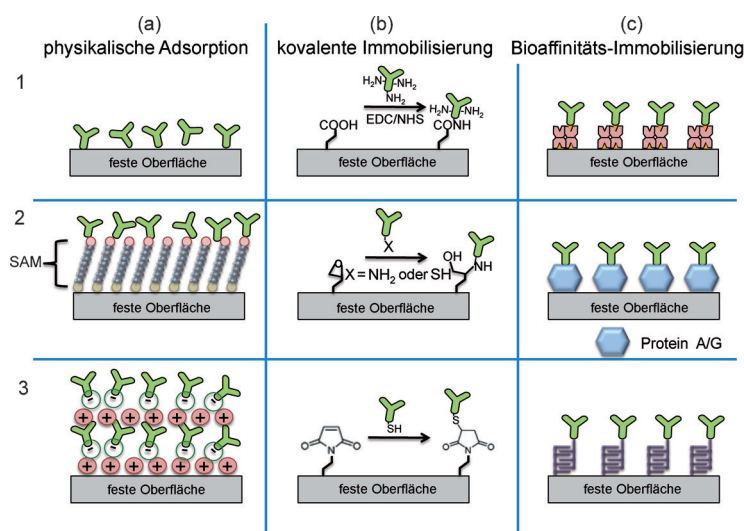


Abbildung 2. Methoden zur Immobilisierung von biologischen Erkennungselementen auf festen Oberflächen. (a) Methoden der physikalischen Immobilisierung. Biomoleküle werden an einer unbehandelten Oberfläche (a1) adsorbiert oder, um eine höhere Dichte zu erzielen, an einer mit einer selbstorganisierenden Monoschicht modifizierten Oberfläche (a2). Die Adsorption Schicht für Schicht (a3) durch schrittweises Aufbringen biologischer Spezies mit entgegengesetzter Ladung ist eine weitere Methode, um die Immobilisierung von Biomolekülen auf der Oberfläche zu steuern. (b) Unselektive kovalente Immobilisierung von Biomolekülen über ihre funktionellen Gruppen. Biomoleküle können kovalent auf einer festen Oberfläche verankert werden mittels: Reaktion zwischen Carboxylgruppen auf der Oberfläche und Aminogruppen der Lysinreste der Biomoleküle nach Aktivierung der Carboxylfunktionen durch Reaktion mit Carbodiimidhydrochlorid (EDC) oder *N*-Hydrosuccinimid (NHS) (b1); Reaktion zwischen Epoxiden auf der Oberfläche und nucleophilen Gruppen wie Amino- oder Thiolgruppen der Biomoleküle (b2); Reaktion zwischen Maleinimidgruppen auf der Oberfläche und Thiolgruppen der Cysteinreste der Biomoleküle (b3). (c) Bioaffinitäts-Immobilisierung zur Ausrichtung von Biomolekülen auf einer festen Oberfläche. Biotinylierte Biomoleküle können durch eine auf die feste Oberfläche aufgebrachte Streptavidin-Schicht leicht eingefangen werden (c1) und umgekehrt. Mit Protein A oder Protein G beschichtete Oberflächen können genutzt werden, um Antikörpermoleküle über die Bindung mit ihrer Region des kristallisierbaren Fragments Fc spezifisch auszurichten (c2). Biomoleküle können mit einer geeigneten Markierung modifiziert werden, die durch spezifische Moleküle auf der Oberfläche selektiv erkannt wird (c3).

Biomolekülen in TFT-Bauelemente sind in Abbildung 2 dargestellt.

Biomoleküle können über hydrophobe, elektrostatische und/oder ionische Wechselwirkungen an einer festen Oberfläche adsorbiert werden.^[44] Dies lässt die physikalische Immobilisierung (Abbildung 2a) zu einer einfachen Methode werden, die besonders geeignet ist für das Aufbringen von Proteinen auf verschiedene Oberflächen, darunter Materialien auf Kohlenstoffbasis, Edelmetalle und Metalloxide. Diese Methode wurde auch für die Immobilisierung von DNA und Proteinen auf der Oberfläche organischer Halbleiter wie Pentacen, Poly(3-hexylthiophen-2,5-diyl) (P3HT) und PEDOT in TFT-Strukturen genutzt.^[45] Der Hauptvorteil der physikalischen Adsorption ist, dass weder zusätzliche Kupplungsreagentien noch eine chemische Modifizierung der Biomoleküle erforderlich sind. Den resultierenden Bioschichten mangelt es jedoch gewöhnlich an Homogenität, und sie sind nur schwach an der Oberfläche verankert. Diese

beiden Probleme haben Auswirkungen auf die Langzeitstabilität des Bauelementes.

Alternativ können Biomoleküle stabil auf einer festen Oberfläche verankert werden durch kovalente Immobilisierung über die Bildung chemischer Bindungen zwischen komplementären funktionellen Gruppen, die an den Biomolekülen und auf der festen Oberfläche vorhanden sind. Geeignete funktionelle Gruppen sind Carboxyl-, Amin- und Thiolgruppen (Abbildung 2b).^[46] Während von Natur aus entsprechende funktionelle Gruppen in der Struktur der Biomoleküle vorhanden sind, müssen chemische Linker in den festen Träger eingeführt werden. Zu diesem Zweck können Polymerfilme oder selbstorganisierte Monoschichten (SAMs, „self-assembled monolayers“) mit funktionellen Gruppen genutzt werden. Die Moleküle in SAMs können Kopfgruppen wie Thiole und Disulfide und verschiedene Schwanzgruppen ($-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{CH}_3$) tragen, die durch Alkylketten unterschiedlicher Länge voneinander getrennt sind. Die Kopfgruppe ermöglicht selbst, oder nach chemischer Modifizierung, eine Feinabstimmung der Oberflächeneigenschaften wie Hydrophilie, Zytophilie, chemische Beständigkeit und selektive Bindung von Biomolekülen in bevorzugter Ausrichtung.^[47] Bei bioelektronischen Anwendungen wurden Carboxylgruppen als Verankerungsstellen auf der Oberfläche der Halbleiter P3HT und Pentacen erzeugt, indem dünne hydrophile Polymerschichten mit COOH -Gruppen durch plasmagestützte chemische Abscheidung aus der Gasphase aufgebracht wurden.^[48] Danach können die Biomoleküle mittels Carbodiimid-Chemie kovalent gebunden werden, wobei die Aminogruppen der Biomoleküle Amidbindungen mit den Carboxylgruppen auf der Polymeroberfläche bilden. Es wurde gezeigt, dass ein fein abgestimmtes Plasmaverfahren vernachlässigbare Auswirkungen auf die elektrische Leistung eines EG-TFT hat.^[49] Ein anderer vorgeschlagener Ansatz beinhaltet das chemische Maßschneidern des organischen Halbleiters durch Anlagerung von Carboxyleinheiten an das Polymergerüst. Ein Halbleiter auf Polythiophenbasis, der Carboxylseitenketten aufwies, wurde zur kovalenten Verankerung von DNA-Molekülen in einer EG-TFT-Struktur verwendet.^[50] Die Anwesenheit polarer Gruppen im gesamten Halbleiter kann jedoch Auswirkungen auf die Ladungsdelokalisierung und letztlich auf die elektrische Leistung des Transistors haben. Mischungssysteme zeigten eine bessere Leistung, wenn sie als elektrochemischer TFT betrieben wurden.^[51]

Die Methoden der bioaffinen Bindung (Abbildung 2c) bieten Vorteile gegenüber anderen Immobilisierungsmethoden, da Biomoleküle präzise auf einer Oberfläche ausgerichtet werden und in hoher Dichte angelagert werden können.^[52] Von diesen ist das Streptavidin-Biotin- oder Avidin-Biotin-System am weitesten verbreitet, um ausgerichtete Biomoleküle auf unterschiedlichsten Oberflächen zu immobilisieren. Speziell die starke nichtkovalente biologische

Die Methoden der bioaffinen Bindung (Abbildung 2c) bieten Vorteile gegenüber anderen Immobilisierungsmethoden, da Biomoleküle präzise auf einer Oberfläche ausgerichtet werden und in hoher Dichte angelagert werden können.^[52] Von diesen ist das Streptavidin-Biotin- oder Avidin-Biotin-System am weitesten verbreitet, um ausgerichtete Biomoleküle auf unterschiedlichsten Oberflächen zu immobilisieren. Speziell die starke nichtkovalente biologische

Wechselwirkung zwischen Avidin oder Streptavidin und Biotin (Dissoziationskonstante $K_D = 10^{-15}$ M, fM) wird genutzt, um biotinylierte Moleküle an mit Avidin oder Streptavidin modifizierte Oberflächen zu binden oder umgekehrt. So wurden beispielsweise biotinylierte Phospholipidschichten, die kovalent an hydrophile Polymerschichten gebunden waren, die mit einem Plasmaverfahren auf die PSC-Oberfläche aus P3HT aufgebracht wurden, kürzlich vorgeschlagen zur Verankerung eines biotinylierten Antikörpers über eine Avidin- oder Streptavidin-Brücke in einem EG-TFT.^[53] Weiterhin wurde auch ein Polythiophen-Copolymer mit biotinylierten Seitenketten, die Avidin- oder Streptavidin-Moleküle einfangen können, in EG-TFTs vorgeschlagen.^[54] Vor kurzem wurden gentechnisch veränderte chimäre Avidin-Moleküle mit C-terminalen Cysteinresten direkt auf einer Goldoberfläche immobilisiert. Die gebildete Bioschicht hat eine höhere Bindungskapazität für biotinylierte Moleküle als auf der gleichen Oberfläche verankertes Wildtyp-Avidin.^[55]

2.2. Bindungsisothermen von oberflächengebundenen Biomolekülen

Die Adsorption einer Spezies A an einer festen Oberfläche kann am einfachsten mit der Langmuir-Isotherme modelliert werden.^[56] Dieses Modell beschreibt die Oberfläche als Ensemble fester und voneinander unabhängiger Adsorptionsstellen, die entweder unbesetzt sein können (S) oder besetzt durch das adsorbierte Molekül (Ad). In Abbildung 3a

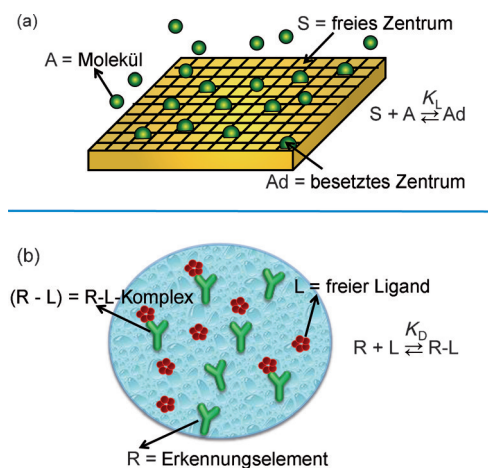


Abbildung 3. (a) Vorgang der Adsorption eines Moleküls an einer Oberfläche. (b) Bindungsvorgang in Lösung.

ist ein derartiges System zusammen mit der Gleichgewichtsreaktion der Adsorption dargestellt. Die Adsorptionisotherme setzt den Anteil θ der Stellen, die durch die adsorbierten Moleküle besetzt sind, wobei $\theta = Ad/(S + Ad)$, in Beziehung zur Konzentration von A im Gleichgewicht, $[A]_e$. K_L ist die Langmuir-Konstante, d.h. die Gleichgewichtskonstante für den Adsorptionsvorgang [Gleichung (1a)].

$$\theta = \frac{[A]_e}{K_L + [A]_e} \quad (1a)$$

Eine sehr einfache Gleichung wird erhalten bei Betrachtung der Bindung eines Liganden L an ein biologisches Erkennungselement R, die dispergiert in Lösung den Komplex R-L bilden, wie in Abbildung 3b dargestellt. Zur Vereinfachung wird nur eine Bindungsstelle pro Erkennungselement angenommen [Gleichung (1b)].

$$\theta = \frac{[L]_e}{K_D + [L]_e} \quad (1b)$$

In diesem Fall ist die Gleichung einer Bindungsisotherme für voneinander unabhängige Stellen, wobei θ der Anteil der besetzten Bindungsstellen ist, d.h. $\theta = R-L/[R + (R-L)]$. $[L]_e$ gibt die Gleichgewichtskonzentration des Liganden L an, während K_D die Dissoziationskonstante ist, d.h. der reziproke Wert der Gleichgewichtskonstante des Bindungsvorgangs. Trotz der formalen Ähnlichkeit von Gleichung (1a) und (1b) stellen K_D und K_L^{-1} unterschiedliche physikalische Größen dar. Die Dissoziationskonstante K_D ist definiert als Verhältnis der Aktivitäten der beteiligten Spezies in Lösung – R, L und Komplex R-L. Bei genügend hoher Verdünnung kann K_D durch $[R][L]/[R-L]$ angenähert werden. Das entspricht der Aussage, dass der Standardzustand aller Spezies in Lösung nach dem Henryschen Gesetz gewählt wird. Die Langmuir-Konstante ist verknüpft mit der Aktivität von Spezies, wie S und Ad, die an eine Oberfläche gebunden sind. Selbst bei sehr geringer Konzentration an A (unendliche Verdünnung) kann K_L nicht angenähert werden, wenn nur die Lösungskonzentrationen einbezogen werden. Deshalb sollte zumindest die Oberflächendichte der Adsorptionsstellen herangezogen werden.

Die Zahlenwerte von K_D oder K_L^{-1} können bestimmt werden durch Messen von θ (oder einer Größe, die proportional zu θ ist) als Funktion der Gleichgewichtskonzentration von A, $[A]_e$, oder von L, $[L]_e$, und Einsetzen der Werte in die Gleichung (1a) bzw. (1b). Die ausgewählte Größenordnung der Konzentrationen legt implizit die Maßeinheiten für K_D oder K_L^{-1} fest. Falls nur die Anfangskonzentration, $[A]_0$ oder $[L]_0$, bekannt ist, muss die Menge der gebundenen Moleküle ausdrücklich berücksichtigt werden. Im Fall einer Ligandenbindung in Lösung entspricht die Gleichgewichtskonzentration des Liganden $[L]_e = [L]_0 - \theta([R-L] + [R])$, was in Gleichung (1b) zu einer quadratischen Lösung für θ führt. Im Fall des Adsorptionsvorgangs muss eine analoge Beziehung formuliert werden, wobei berücksichtigt wird, dass die Oberflächendichte der unbesetzten Bindungsstellen (S) und der besetzten Bindungsstellen (Ad) den Vorgang steuert. Ein interessantes Beispiel für diesen Ansatz ist in Lit. [27b] angeführt.

Ein reales Ensemble biologischer Erkennungselemente kann im Allgemeinen als homogenes System beschrieben werden, weil die Unterschiede der Affinitätskonstanten der Moleküle R gewöhnlich vernachlässigbar sind. Insofern liefert Gleichung (1b) normalerweise eine geeignete Beschreibung des Bindungsvorgangs bei einzelnen sowie voneinander unabhängigen Bindungsstellen. Die Adsorptionsstellen einer

realen festen Oberfläche sind hingegen in der Regel durch unterschiedliche Adsorptionsenergien und somit unterschiedliche Langmuir-Konstanten gekennzeichnet.

Für solch ein inhomogenes System wird die Isotherme der Gesamtadsorption durch Integrieren der Gleichung (1b) über alle K_L -Werte erhalten.^[57] Wenn mehrere Bindungsstellen am selben Erkennungselement vorliegen, kann ein anderes mit Inhomogenität verbundenes Phänomen auftreten. Die Affinität des Liganden zu einer Bindungsstelle, die durch einen bestimmten K_D -Wert gekennzeichnet ist, kann abhängig sein von der Besetzung der anderen Bindungsstellen, die am selben biologischen Erkennungselement vorliegen. In solch einem Fall wird die Bindung als kooperative Bindung bezeichnet. Bei positiver Kooperativität begünstigt das Vorhandensein besetzter Bindungsstellen die weitere Ligandenbindung. Bei negativer Kooperativität verringert die Bindung an eine Stelle die Affinität der Liganden zu anderen Stellen. Der Fall einer starken Kooperativität wird durch das Modell von Hill für einen Rezeptor mit m Bindungsstellen wiedergegeben.^[58] Wenn eine stark kooperative Bindung vorliegt, wird R jeweils genau m Liganden entsprechend dem folgenden Dissoziationsgleichgewicht binden oder freisetzen [Gleichung (2a)]. Der Anteil der besetzten Bindungsstellen kann durch Gleichung (2b) wiedergegeben werden:



$$\theta = \frac{([L]_c)^m}{K_D + ([L]_c)^m} \quad (2b)$$

Das ist die Bindungsisotherme nach Hill, die breite Anwendung zur Beschreibung der kooperativen Ligandenbindung an biologische Makromoleküle findet. Bei $m=1$ wird Gleichung (2b) zu Gleichung (1b), mit $m>1$ wird der Fall einer positiven Kooperativität modelliert, während $m<1$ auf eine negative Kooperativität hindeutet. Da laterale Wechselwirkungen einen nicht vernachlässigbaren Einfluss auf die Adsorption an festen Oberflächen haben können (positive oder negative Rolle der adsorbierten Moleküle bei der Adsorption weiterer Moleküle), sind auch Fälle einer kooperativen Adsorption an festen Oberflächen zu finden.^[59]

2.3. Thermodynamische Umwandlungen, um Biomoleküle aus der Lösung zur Oberfläche zu bringen

Üblicherweise sind keine thermodynamischen Studien zu finden, mit denen die Eigenschaften eines Bindungsvorgangs, der in Lösung und auf einer Oberfläche stattfindet, korreliert werden können. Solch ein Ansatz ermöglicht die Modellierung der in einem bioelektronischen Bauelement ablaufenden Vorgänge und die Gewinnung eines vollständigeren Bildes eines bestimmten Bindungsvorgangs. Der Vergleich zwischen den Bindungsgleichgewichten, die entweder mit an eine Fest-flüssig-Grenzfläche gebundenen Spezies verbunden sind oder in der gesamten Lösung auftreten, kann unter Berücksichtigung des in Abbildung 4 angegebenen thermodynamischen Weges durchgeführt werden.

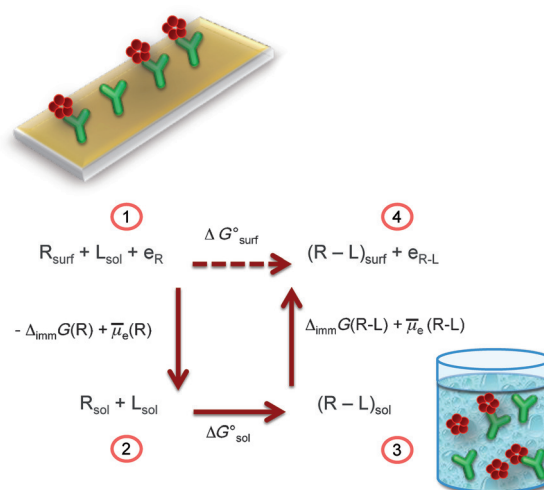


Abbildung 4. Thermodynamische Beschreibung der Bindungsgleichgewichte für Spezies, die entweder an eine Fest-flüssig-Grenzfläche gebunden sind oder frei in Lösung vorliegen.

Der Gesamtprozess beginnt mit einem in einer Lösung gelösten Liganden L , der an ein oberflächenimmobilisiertes Erkennungselement R bindet (Stadium 1), wodurch sich ein immobilisierter Komplex $R-L$ bildet (Stadium 4). Die entsprechende Änderung der freien Enthalpie $\Delta G_{\text{surf}}^\circ$ kann bezüglich einer scheinbaren Dissoziationskonstante $K_{D,\text{surf}}$ dargestellt werden als $\Delta G_{\text{surf}}^\circ = RT \ln(K_{D,\text{surf}})$. Es ist zu beachten, dass $K_{D,\text{surf}}$ genau die Bedeutung von K_L^{-1} in Gleichung (1a) hat. Der Prozess (1→4) kann in drei mögliche Schritte gegliedert werden, wobei jeder Schritt durch eine Änderung der molaren freien Standardenthalpie gekennzeichnet ist. Der erste Schritt (1→2) beinhaltet die Freisetzung des an die Oberfläche gebundenen Erkennungselementes R in die Lösung. Die mit diesem Stadium verbundene Änderung der freien Enthalpie umfasst die zur Freisetzung von R benötigte Arbeit, die der Oberflächenarbeit $\Delta_{\text{imm}}G(R)$, die zur Immobilisierung von R erforderlich ist, entgegengesetzt ist. Solch eine Arbeit wird von der zur Immobilisierung der Spezies R angewendeten Methode abhängen, die Aspekte wie die Oberflächendichte oder die Ausrichtung von R bestimmen wird. Daher werden im Folgenden Erkennungselemente, die auf einer metallischen Gate-Elektrode (Abbildung 1c) oder auf der Oberfläche eines druckbaren Halbleiters (Abbildung 1d) verankert sind, von Interesse sein. Außerdem soll die Änderung des Gate-Potentials oder des elektrochemischen Potentials der PSC-Elektronen, $\bar{\mu}_e(R)$, betrachtet werden. Damit können die Auswirkungen des Aufbringens oder Entfernens der R -Schicht auf die Elektrostatik einer gegebenen Oberfläche gebührend berücksichtigt werden. Der zweite Schritt (2→3) ist die Bindung von L an R in Lösung mit einer Änderung der freien Enthalpie $\Delta G_{\text{sol}}^\circ = RT \ln(K_{D,\text{sol}})$, die eine Funktion der Dissoziationskonstante in Lösung ist. Den letzten Schritt (3→4) bildet die Immobilisierung des Komplexes $R-L$ auf der Oberfläche der Gate-Elektrode oder des PSC mit einer Änderung der freien Enthalpie, unter Einbeziehung der für die Immobilisierung des Komplexes aufgewendeten Oberflächenarbeit $\Delta_{\text{imm}}G(R-L)$.

und der Änderung des Potentials der metallischen Gate-Elektrode oder des elektrochemischen Potentials der PSC-Elektronen, $\bar{\mu}_e(R-L)$.

Dem Schema in Abbildung 4 folgend, kann die molare freie Standardenthalpie für die Oberflächenbindung der biologischen Erkennungselemente, die auf einer Oberfläche verankert sind, durch Gleichung (3) dargestellt werden.

$$\Delta G_{\text{surf}}^0 = \Delta G_{\text{sol}}^0 + \bar{W} = \Delta G_{\text{sol}}^0 + \Delta E_F + W \quad (3)$$

Dabei setzt sich die zur Bindung aufgewendete Oberflächenarbeit \bar{W} zusammen aus einem nichtelektrostatischen Term, $W = \Delta_{\text{imm}}G(R-L) - \Delta_{\text{imm}}G(R)$, und einem elektrostatischen Term, $\Delta E_F = \bar{\mu}_e(R-L) - \bar{\mu}_e(R)$. Der letztere entspricht der Änderung des Potentials der Gate-Elektrode oder des elektrochemischen Potentials der PSC-Elektronen, $\bar{\mu}_e$, wenn die Oberflächenbeschichtung mit dem Komplex R-L in die Oberflächenbeschichtung nur mit der R-Schicht übergeht. Dieser ΔE_F -Wert kann als Gegenstück der molaren freien Enthalpie berechnet werden und steht in Zusammenhang mit der Verschiebung der Schwellenspannung (V_T) des TFT, sodass $\Delta E_F = -nF\Delta V_T$. Zu beachten ist, dass die letztgenannte Gleichung gilt, wenn keine Nettoladungen an der R-L-Wechselwirkung beteiligt sind, und wenn ein fallerfreier TFT vorliegt. V_T (genau definiert im nächsten Abschnitt) ist verantwortlich für das aufgebaute elektrostatische Potential an der biologischen Grenzfläche. ΔV_T wird als Differenz der V_T -Werte interpretiert, die gemessen werden bei einer Ligandenkonzentration Null (keine besetzten Bindungsstellen) und bei Sättigung (alle Bindungsstellen besetzt), F ist eine molare Größe, somit ist ΔE_F der elektrostatische Beitrag zur molaren freien Enthalpie der Bildung des Komplexes R-L.

Interessant ist auch die Anwendung der Kelvin-Sonden-Kraftmikroskopie ohne physikalischen Kontakt zwischen der Sondenspitze und dem zu untersuchenden System mit einer Auflösung im Nanobereich. Bei diesen Messungen werden weitreichende elektrostatische Wechselwirkungen zwischen der Rastersonde und der Probe ausgenutzt,^[60a] und die Messungen wurden vor allem zur Untersuchung von geladenen Spezies erfolgreich angewendet.^[60b,c]

Die Bindungsenthalpie in Lösung $\Delta G_{\text{sol}}^0 = RT \ln(K_{\text{D,sol}})$ ist definiert als Differenz der freien Standardenthalpien des Komplexes R-L und der Reaktionspartner R und L. Der Term ΔG_{surf}^0 entspricht der Änderung der freien Enthalpie zwischen Stadium 4 und 1 und stellt eine elektrochemische Energie dar, da er auch eine elektrostatische Komponente enthält. Die mit der Bindung von R-L verbundene Gesamtoberflächenarbeit \bar{W} umfasst die Änderung der physikalisch-chemischen Oberflächeneigenschaften wie der Grenzflächenspannung, dargestellt mit dem Term W , und des elektrochemischen Potentials der Elektronen, wiedergegeben mit ΔE_F .

Gemäß Gleichung (3) kann die Oberflächenbindungsenergie ΔG_{surf}^0 in den Term ΔG_{sol}^0 , der die molekulare Wechselwirkungsenergie berücksichtigt, und den Term \bar{W} , der den Beitrag der Oberflächenarbeit berücksichtigt, aufgeteilt werden. Wichtig ist, dass der Term der molekularen Wechselwirkungsenergie die Energie zur Erkennung von R-L in Lösung ist. Der Beitrag der Oberflächenarbeit stellt die

Arbeit dar, die zum Aufnehmen des Liganden in das Erkennungselement, das an eine Oberfläche gebunden ist, aufgewendet wird. Dieser Term umfasst sowohl die Konformationsänderungen als auch die Änderung der Energie der Gate-Elektrode oder der elektrochemischen Energie des PSC, und Gleichung (3) kann auch als Gleichung (4) geschrieben werden.

$$\frac{K_{\text{D,surf}}}{K_{\text{D,sol}}} = e^{\frac{\bar{W}}{RT}} \quad (4)$$

Diese Gleichung zeigt, dass die in Lösung beobachtete Affinität nur dann der bei immobilisierten Rezeptoren festgestellten Affinität entspricht, wenn die Oberflächenarbeit \bar{W} Null ist, d.h. wenn die mit der Immobilisierung des freien Erkennungselementes R bzw. des Komplexes R-L verbundene Arbeit jeweils den gleichen Wert besitzt. Im allgemeineren Fall einer nicht vernachlässigbaren Netto-Oberflächenarbeit wird dieser Term die Affinität des Liganden zum immobilisierten biologischen Erkennungselement exponentiell beeinflussen.

Ein ziemlich eindrucksvolles Beispiel, das die entscheidende Rolle veranschaulicht, die die Oberflächenarbeit spielen kann, wird für die Hybridisierung von auf einer festen Oberfläche verankerten DNA-Einzelsträngen angeführt. Dazu sind viele Daten verfügbar, da das eine häufig genutzte Erkennungsreaktion in vielen Biosensor-Mikroarrays ist, darunter ELISA- und SPR-Mikroarrays. Die Gleichgewichtskonstanten der in Lösung und auf einer Oberfläche stattfindenden DNA-Hybridisierung (bei gleichen DNA-Sequenzen und unter den gleichen Versuchsbedingungen) wurden systematisch verglichen, wie in Abbildung 5 wieder-

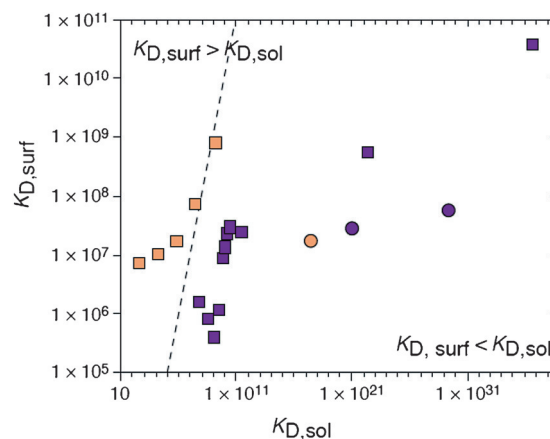


Abbildung 5. Vergleich der Gleichgewichtskonstanten für die DNA-Hybridisierung auf einer festen Oberfläche ($K_{\text{D,surf}}$) und in Lösung ($K_{\text{D,sol}}$). Nach Lit. [60], Abdruck mit Genehmigung. Copyright 2005 Elsevier Ltd.

gegeben. Die gestrichelte Linie zeigt die Voraussage für $K_{\text{D,sol}} = K_{\text{D,surf}}$. Diese Bedingung wird offensichtlich nie erfüllt, stattdessen sind die Messwerte weit gestreut. Die Gleichgewichtskonstante der Hybridisierung auf der Oberfläche ändert sich um fünf Zehnerpotenzen, während sich die Gleichgewichtskonstante der Hybridisierung in Lösung über mehr als 30 Zehnerpotenzen erstreckt. Die Versuchsdaten wurden unter systematischer Veränderung des Salzgehaltes

der Elektrolytlösung und der DNA-Sequenz erfasst. Letztendlich wird ersichtlich, dass sich das Verhältnis $K_{D,surf}/K_{D,sol}$ über einen großen Bereich von ca. 27 Zehnerpotenzen erstreckt.^[61] Gemäß Gleichung (4) sollte die Oberflächenarbeit \bar{W} die Erklärung für solch ein Phänomen liefern. Diese Hypothese wurde später durch eine Messung des mechanischen Beitrags zur mit der DNA-Hybridisierung verbundenen Oberflächenarbeit mittels einer Mikroauslegeranordnung überprüft.^[62] Es wurde gefunden, dass sich \bar{W} wirklich zwischen -90 kJ mol^{-1} und $+75 \text{ kJ mol}^{-1}$ bewegen kann. Nach Einsetzen dieser Werte in Gleichung (4) (unter Vernachlässigung des elektrostatischen Beitrags, der mit einem Ausleger nicht beurteilt werden kann) ergibt sich ein Verhältnis $K_{D,surf}/K_{D,sol}$, das von 10^{-16} bis 10^{+13} reicht. Damit erstreckt sich dieses Verhältnis über 29 Zehnerpotenzen, was sehr nahe an den Messwerten liegt, die durch direkten Vergleich der Dissoziationskonstanten ermittelt wurden.

3. Druckbare bioelektronische elektrolytgesteuerte Dünnschichttransistoren

Die erste Demonstration, dass ein Elektrolyt eingesetzt werden konnte, um das Oberflächenpotential eines Halbleiters einzustellen, kann bis zu den Anfängen der Transistoren bei Bell Laboratories zurückverfolgt werden.^[63] Heute arbeiten viele Gruppen an EG-TFTs, bei denen druckbare Halbleiter als aktive Schicht genutzt werden.^[7a,64] Wie bereits einführend erläutert, umfasst die Struktur eines EG-TFT einen Source- und einen Drain-Anschluss, die auf ein Substrat begrenzt sind und mit einem Halbleiter, der gewöhnlich mit kompatiblen Druckverfahren aufgebracht wird, bedeckt sind. Ein Tropfen reinen Wassers oder eines Elektrolyten wird auf die Oberfläche des Halbleiters aufgegeben. Die PSC-Oberfläche kann durch geeignete Behandlungen hydrophobiert werden, wenn der Oberflächenkontaktwinkel zu klein ist und/oder der Halbleiter wasserlöslich ist, wie ZnO. In diesem Fall wurde eine Behandlung mit Hexamethyldisilazan vorgeschlagen.^[65] Der elektrische Kontakt zur Gate-Elektrode wird durch ein Metallplättchen (meistens aus Gold), das sich oben auf dem Elektrolyt befindet, hergestellt. Ein TFT vom p-Typ wird durch Anlegen einer negativen Vorspannung an den Drain-Anschluss (V_{DS}) bzw. den Gate-Anschluss (V_G) betrieben, während der Source-Anschluss geerdet wird (Abbildung 6a). Nach Anlegen von V_G verteilen sich die Ionen des Elektrolyten um, sodass die Kationen das unter einer negativen Vorspannung stehende Gate-Plättchen belegen, während sich die Anionen auf der Halbleiteroberfläche anordnen. Aufgrund der Selbstdissoziation kann auch reines Wasser als Ionenleiter fungieren. Schließlich bilden sich Ladungsdoppelschichten (CDLs, „charge double layers“) an der Gate-Elektrolyt-Grenzfläche und der Elektrolyt-Halbleiter-Grenzfläche, die in Abbildung 6a mit C_{CDL-1} bzw. C_{CDL-2} bezeichnet sind und Kapazitäten bis zu $14.6 \mu\text{F cm}^{-2}$ in 0.1M Kochsalzlösung aufweisen.^[66] Kapazitätswerte bis zu einigen hundert $\mu\text{F cm}^{-2}$ können mit ionischen Flüssigkeiten und polymeren Elektrolyten wegen der viel höheren Ionenkonzentrationen erzielt werden.^[67] Die beiden CDL-Kondensatoren in Reihe, die in Abbildung 6a angegeben sind, bilden

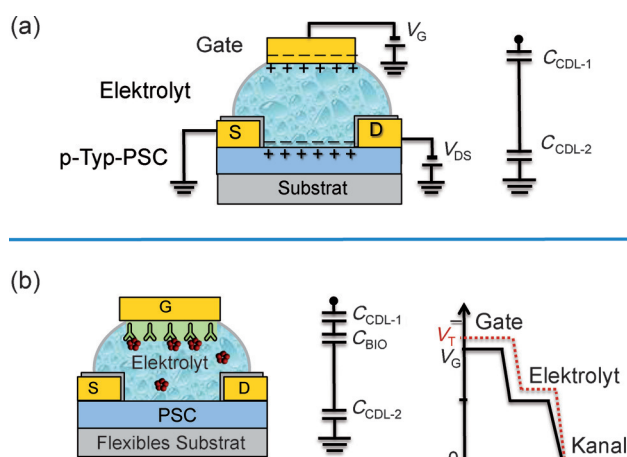


Abbildung 6. (a) Elektrolytgesteuerter TFT und Schaubild der Kapazitäten der elektrischen Doppelschichten, die das leitende Dielektrikum bilden. (b) Bioelektronischer EG-TFT und Schaubilder der Kapazitäten, die das Ansteuerungssystem des Bauelementes bilden, sowie der über den Elektrolyt auftretenden Spannungsabfälle.

das EG-TFT-Ansteuerungssystem, da die Kapazitätskopplung zwischen den CDLs und dem Halbleiter einen zweidimensionalen (2D) Kanal freier Ladungen im Halbleiter erzeugt.^[68] Diese Ladungen werden injiziert und können unter der angelegten Vorspannung V_{DS} driften. Wird jedoch V_G angelegt, werden die Bedingungen der zweidimensionalen Anreicherung freier Ladungen an der Halbleiter-Elektrolyt-Grenzfläche eingestellt, aber der jeweilige Drain-Source-Strom (I_{DS}) im Halbleiterstrom beginnt nicht zu fließen (unter einer bestimmten angelegten Vorspannung V_{DS}), bis V_G gleich der Schwellenspannung V_T des TFT ist. In einem fallfreien TFT ist V_T die Vorspannung, die benötigt wird, um das aufgebaute Potential zu kompensieren, das durch das vorliegende Ungleichgewicht zwischen den freien Elektronen des Metalls der Gate-Elektrode und des Halbleiters ($\bar{\mu}_e$) erzeugt wird. Wenn V_G gleich V_T ist, wird die Energiebarriere gesenkt und, über V_T hinaus, können die weiter injizierten Ladungen unter der angelegten Vorspannung V_{DS} driften, durch den Kanal mit einer bestimmten Feldeffektmobilität (μ_{FET}), und die Ausgangskennlinien des Transistors (I_{DS} gegen V_{DS}) können gemessen werden. Die jeweils an den Gate-Anschluss angelegte Vorspannung (abzüglich der Komponente V_T) legt die Dichte der Ladungen fest, die im 2D-Kanal des Transistors induziert werden, und somit auch die maximale Stromstärke I_{DS} .^[20] Wegen der sehr hohen Kapazität des Elektrolyten im EG-TFT können die Strom-Spannung-Ausgangskennlinien des Transistors, die den erwarteten linearen Verlauf (bei geringerer Vorspannung V_{DS}) oder Sättigungsverlauf zeigen, gemessen werden, indem an das Bauelement eine Vorspannung unter 1 V angelegt wird.

In Abbildung 6b ist eine bioelektronische Version des EG-TFT dargestellt, neben der Reihe von Widerständen, die mit dem Ansteuerungssystem verbunden sind, und den Spannungsabfällen über den Elektrolyt. Bei dieser Konfiguration wird die Kapazität pro Flächeneinheit der an die Gate-Elektrode gebundenen Bioschicht (C_{BIO}) hinzugefügt. C_{BIO} wird als planarer Kondensator modelliert mit $C = \epsilon_0 \epsilon_r d^{-1}$,

wobei ϵ_0 die Permittivität des Vakuums und ϵ_r die relative Permittivität ist, während d der Abstand zwischen den Kondensatorplatten ist. Unter der Annahme, dass $\epsilon_r = 3$, was typisch für ein Proteinsystem ist,^[69] und dass d die Höhe einer Monoschicht aus Proteinen ist (ca. 4 nm für den Fall luftstoffbindender Proteine, die später erörtert werden), wird für C_{BIO} ein Wert von $0.6 \mu\text{F cm}^{-2}$ errechnet.

Der im Sättigungsverlauf im 2D-Kanal fließende Strom I_{DS} ergibt sich aus Gleichung (5), wobei C_i die Kapazität pro Flächeneinheit des EG-TFT-Ansteuerungssystems ist, während w die Breite des TFT-Kanals und l die Länge des TFT-Kanals ist.^[20]

$$I_{\text{DS}} = \frac{w}{2l} C_i \mu_{\text{FET}} (V_{\text{G}} - V_{\text{T}})^2 \quad (5)$$

Gleichung (5) beschreibt gut die experimentellen I - V -Kurven, die mit einem EG-TFT gemessen werden. Ein typisches Beispiel ist in Abbildung 7 angegeben.^[70] Hier werden die I - V -Kurven des organischen Halbleiters α -Sexithiophen ge-

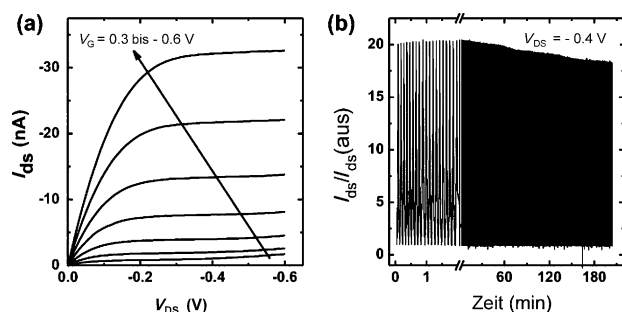


Abbildung 7. (a) Ausgangskennlinien eines EG-TFT mit α -Hexylthiophen, der gesteuert wird durch einen wässrigen Elektrolyt mit phosphatgepufferter Kaliumsalzlösung. Die Gate-Spannung V_{G} wurde zwischen einer Ag/AgCl-Bezugselektrode und dem Source-Anschluss des Transistors angelegt. (b) Erfassung des Drain-Stroms während des kontinuierlichen Wechsels zwischen dem An-Zustand ($V_{\text{G}} = -0.6$ V) und dem Aus-Zustand ($V_{\text{G}} = 0.3$ V). Nach Lit. [70], Abdruck mit Genehmigung. Copyright 2011 AIP Publishing LLC.

zeigt, der gekoppelt ist mit einem wässrigen Elektrolyt (10 mM phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) auf Kaliumbasis, mit KCl auf eine Ionenstärke von 50 mM eingestellt). Solch ein EG-TFT-Bauelement wird von den Autoren als pH-Sensor vorgeschlagen. Abbildung 7a verdeutlicht, dass die I - V -Kurven von EG-TFTs durch Durchlaufen von V_{DS} zwischen 0 V und -0.6 V aufgrund der hohen Kapazität der CDLs, die zu einer hohen Transkonduktanz der TFTs führen, gemessen werden können. Darüber hinaus zeigen die Kennlinien des Bauelementes das typische Verhalten eines Feldeffektbauelementes, mit Sättigungsverlauf bei höheren Drain-Source-Spannungen, wie durch Gleichung (5) wiedergegeben. Weiterhin veranschaulicht Abbildung 7b, dass I_{DS} während des kontinuierlichen Wechsels von V_{DS} über mehr als 3 h um weniger als 10% zurückging. Das ist ein überzeugender Beweis, dass EG-TFT-Bauelemente auch ziemlich stabil sein können. Es ist abzusehen, dass eine noch bessere Stabilität

erreicht werden kann, wenn anstelle einer kontinuierlichen Vorspannung ein Pulsbetrieb genutzt wird.^[71]

Außerdem wurde kürzlich demonstriert, dass druckbare EG-TFTs auch auf einem mehrlagig beschichteten Papier-substrat realisiert und mit einem Elektrolyt auf Ionogelbasis betrieben werden können. Derartige Ionogele wurden durch Gelierung von Mikrocellulose-Dünnschichten mit der ionischen Flüssigkeit 1-Ethyl-3-methylimidazoliummethylphosphonat hergestellt und erreichten Kapazitäten von 5 – $15 \mu\text{F cm}^{-2}$.^[10] Interessanterweise wurden mit der TFT-Struktur, die eine Spritzschicht aus ZnO enthielt (Abbildung 8a), für μ_{FET} Werte bis $75 \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ erzielt. Zudem ermöglichten in Lösung verarbeitete kolloidale ZnO-Nanostäbe, die mit Cellulose-Ionogel-Schichten verbunden waren, die Herstellung der ersten flexiblen Schaltkreise auf Papier, die bei Biegeradien bis herab zu 1.1 mm funktionieren. Überdies ist ein ziemlich stabiler Betrieb nach 100-maligem Biegen ersichtlich. Abbildung 8b und 8c zeigen Aufnahmen des Bauelementes, auch unter Biegen, während die Übertragungskennlinien und Leistungsmerkmale des Bauelementes in Abbildung 8d–f wiedergegeben sind.

3.1. Die Auswirkungen des Vorgangs der biologischen Erkennung auf die Leistungsmerkmale von TFTs

Das Ansprechverhalten eines bioelektronischen TFT kann durch Messung der Übertragungskennlinie, d. h. der I_{DS} - V_{G} -Kurve bei konstanter Spannung V_{DS} im Sättigungsbereich, bewertet werden. Gemäß Gleichung (5) ist $\sqrt{I_{\text{DS}}}$ linear bezüglich $(V_{\text{G}} - V_{\text{T}})$, wie in Abbildung 9 unten für verschiedene bioelektronische TFT-Strukturen gezeigt.

Eine lineare Interpolation ermöglicht die einfache Ableitung der Leistungsmerkmale: $(C_i \cdot \mu_{\text{FET}})$ ist proportional dem Anstieg der Kurve von $\sqrt{I_{\text{DS}}}$ gegen V_{G} , während V_{T} der Schnittpunkt mit der Abszisse (V_{G}) ist. In der Regel wird sich μ_{FET} verändern, wenn der Transport im Halbleiter durch die Bildung des Komplexes R-L beeinflusst wird, und wenn die Komplexbildung Auswirkungen auf die Ansteuerungskapazität hat, wird C_i beeinflusst. Bei Auswirkungen auf die freien Elektronen ($\bar{\mu}_e$) des Halbleiters oder des Metalls der Gate-Elektrode verschiebt sich V_{T} . Diese drei Vorgänge können gleichzeitig stattfinden, interessant ist jedoch die Untersuchung der Fälle, wo diese Effekte entkoppelt werden können, wie aufgezeigt bei den in Abbildung 9 angegebenen Bauelementstrukturen. Im Folgenden werden wir uns ausdrücklich auf den Fall eines Biosensors zur Untersuchung der Bindung eines Liganden an ein immobilisiertes Biomolekül beziehen, die gleichen Argumente gelten jedoch für ein Bauelement zur Untersuchung der unspezifischen Adsorption eines Liganden an einer festen Oberfläche (eines PSC oder einer Gate-Elektrode).

Bei bioelektronischen TFTs ist C_i das Resultat von mindestens drei Kapazitäten in Reihe, wie in Abbildung 6b dargestellt, deshalb kann geschrieben werden: $1/C_i = (1/C_{\text{CDL-1}} + 1/C_{\text{BIO}} + 1/C_{\text{CDL-2}})$. Wenn eine der beitragenden Kapazitäten viel geringer als die anderen ist, kann C_i mit diesem Wert angenähert werden. In dieser Hinsicht stellen die EG-TFTs (Abbildung 9a) einen besonderen Fall dar. So ist die höchste

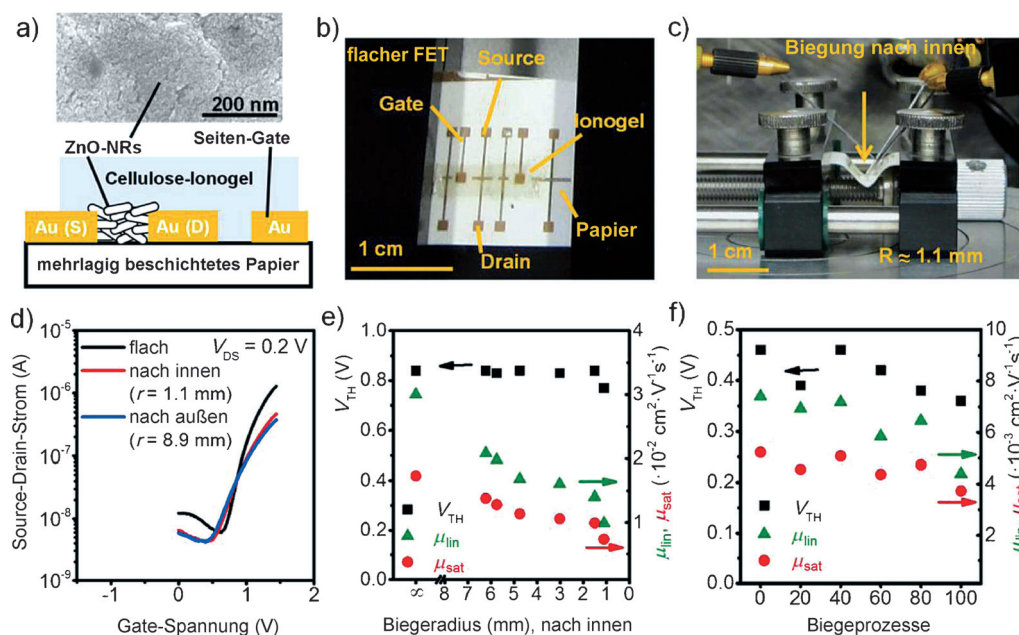


Abbildung 8. (a) Schematische Darstellung eines elektrolytgesteuerten TFT mit ZnO-Nanostäben und einer seitlichen Gate-Elektrode auf mehrlagig beschichtetem Papier mit Cellulose-Ionogel-Schichten. Einschub: SEM-Aufnahme von 14 nm langen ZnO-Nanostäben auf Papier. (b) Aufnahme eines TFT mit ZnO-Nanostäben auf mehrlagig beschichtetem Papier mit Ionogel-Schichten vor dem Biegen und (c) während des Biegens nach innen mit einem Biegeradius von 1.1 mm. (d) Übertragungskennlinien vor dem Biegen und während des Biegens nach innen (1.1 mm Radius) bzw. nach außen (8.9 mm Radius) bei $V_{DS} = 0.2$ V. (e) Schwellenspannung und Elektronen-Feldeffektmobilität im linearen Bereich und im Sättigungsbereich gegen den Biegeradius. (f) Schwellenspannung und Elektronen-Feldeffektmobilität im linearen Bereich und im Sättigungsbereich gegen die Zahl der Biegeprozesse (Biegen von der ebenen Fläche bis zu einem Biegeradius von 1.1 mm – jeweils für einen ionogelgesteuerten TFT mit ZnO-Nanostäben auf mehrlagig beschichtetem Papiersubstrat in einer Stickstoffatmosphäre). Nach Lit. [10], Abdruck mit Genehmigung. Copyright 2013 Wiley-VCH, Weinheim.

steuerungssystem. Letztendlich wird der Ausgangsstrom des EG-TFT durch C_{BIO} gesteuert oder moduliert. Da sich die dielektrischen Eigenschaften der R-Schicht nach Bindung von L ändern werden, kann der EG-TFT sehr empfindlich für feine Veränderungen sein, die mit Konformationsänderungen verknüpft sind, selbst wenn keine Nettoladungen beteiligt sind. Gleichzeitig wird die Mobilität des Halbleiters unverändert bleiben (insbesondere für den Fall, dass die Bioschicht auf die Gate-Elektrode aufgebracht wird), während V_T die elektrostatische Komponente der R-L-Wechselwirkung wirksam übertragen kann.

Interessant ist der Vergleich mit einem FBI-Transistor mit Bottom-Gate-Elektrode und mit einem ISFET. In einem FBI-Transistor

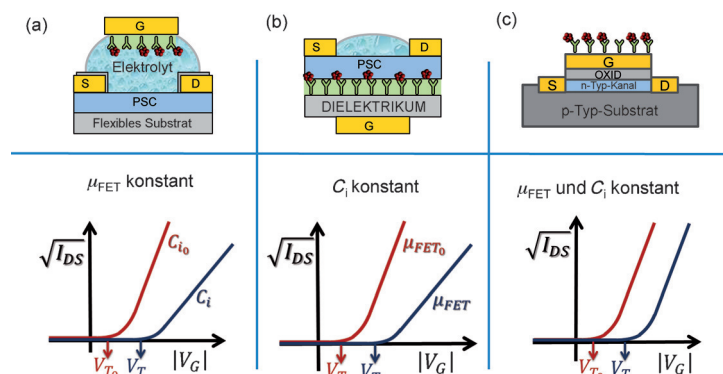


Abbildung 9. Übertragungskennlinien unterschiedlicher bioelektronischer TFTs vor und nach einem Bindungsvorgang. (a) Bei einem EG-TFT wird das Bauelement durch die Kapazität der Bioschicht moduliert. (b) Bei einem FBI-Transistor ist die Ansteuerungskapazität konstant, während sich sowohl μ_{FET} als auch V_T verändern. (c) Bei einem ISFET verändert sich nur V_T .

Kapazität der Reihe die Kapazität der Helmholtz-Doppelschicht an der Gate-Elektrolyt-Grenzfläche (C_{CDL-1}), die etliche $\mu F cm^{-2}$ erreichen kann, während C_{BIO} ca. 0.5 – $0.6 \mu F cm^{-2}$ betragen kann und die Kapazität der Doppelschicht an der Elektrolyt-PSC-Grenzfläche (C_{CDL-2}) wenige $\mu F cm^{-2}$ beträgt.^[64b] Somit kommt von der Schicht der Biomoleküle der geringste kapazitive Beitrag zum TFT-An-

(Abbildung 9b) liefert das typischerweise vorhandene, mehrere hundert nm dicke, nichtleitende Dielektrikum aus SiO_2 (Kapazität in der Größenordnung von $nF cm^{-2}$) den mit Abstand geringsten Beitrag zu der Kapazitätsreihe. Deshalb wird in diesem Fall das Bauelement durch die Kapazität des nichtleitenden Dielektrikums, die sich nach Bindung nicht verändern wird, angesteuert. Demzufolge wird in FBI-Transistoren, aufgrund der unmittelbaren Nähe der Bioschicht und des 2D-Halbleiterkanals, μ_{FET} durch den Bindungsvorgang beeinflusst, während die Kapazität unverändert bleibt. Diese Anordnung ist ideal, um zu untersuchen, wie sich die Veränderungen der Bioschicht auf den Transport im Halbleiter auswirken, während die Spannung V_T , gemäß ihrem Charakter, die elektrostatische Komponente der Wechselwirkung übertragen wird. Auch in einem ISFET (Abbildung 9c) dominiert die geringe Kapazität des als Dielektrikum eingesetzten Oxids in der Kapazitätsreihe.

In diesem MOSFET wird die Gate-Elektrode mit der Bioschicht modifiziert, und nach Wechselwirkung mit einem Liganden wird sich weder μ_{FET} noch C_i verändern – Ersteres wegen des fehlenden Kontaktes zwischen der Bioschicht und dem Halbleiter, Letzteres aufgrund der geringen Kapazität der inerten Oxidschicht. In diesem Fall wird nur eine Verschiebung von V_T gemessen als Auswirkung der Veränderung

der Gate-Elektronen $\bar{\mu}_e$. Das ist der Grund dafür, warum ISFETs, aber auch ladungsmodulierte Transistoren in der Regel nur für den Nachweis von geladenen Spezies eingesetzt werden.

Die relative Schwankung des Stroms I_{DS} im Sättigungsbereich ($\Delta I/I$) ist ein stabiler Parameter, der als Reaktion bioelektronischer TFTs genommen werden kann, weil sie Schwankungen von Bauelement zu Bauelement normalisiert, was dazu beiträgt, eine höhere Reproduzierbarkeit des Ansprechverhaltens zu erreichen. Mit $\Delta I/I$ können die von verschiedenen Leistungsmerkmalen stammenden Beiträge getrennt werden, wenn Terme zweiter Ordnung vernachlässigt werden. Unter dieser Voraussetzung gilt $\Delta I/I \approx [\Delta \mu_{FET}/\mu_{FET} - 2V_T/(V_G - V_T)]$ für das FBI-Bauelement, während $\Delta I/I \approx [\Delta C_i/C_i - 2\Delta V_T/(V_G - V_T)]$ bei einem EG-TFT gilt, wobei C_i durch die Kapazität der Bioschicht bestimmt wird. Die vollständige Formulierung für den EG-TFT zeigt Gleichung (6).

$$\frac{\Delta I}{I} = \frac{\Delta C_{OBP}}{C_{OBP}} - 2 \frac{\Delta V_T}{(V_G - V_T)} - 2 \frac{\Delta C_{OBP}}{C_{OBP}} \frac{\Delta V_T}{(V_G - V_T)} \quad (6)$$

Wenn $V_T \ll V_G$ und $\Delta V_T \ll V_G$, dann wird Gleichung (6) zu: $\Delta I/I \approx \Delta C_i/C_i$. Damit wird aufgezeigt, dass ein EG-TFT tatsächlich als kapazitätsmodulierter Transistor betrieben werden kann, der besonders geeignet sein kann für die Untersuchung der Wechselwirkungen zwischen biologischen Spezies, die keine Nettoladung tragen. Außerdem kann der Ausgangsstrom des EG-TFT durch die Änderung der Kapazität der Bioschicht moduliert werden, und erstaunlicherweise würde der EG-TFT besser funktionieren, wenn die Kapazitätsänderungen gering sind. Deshalb verringern sich in einem über die Kapazität der Bioschicht modulierten TFT alle Kapazitäten, die in Reihe mit der Kapazität der Bioschicht sind, und werden immer weniger wirksam, da die Kapazität der Bioschicht und ihre Änderungen immer kleiner werden. Dies gilt unter der Voraussetzung, dass parallele parasitäre Kapazitäten gering gehalten werden. Das kann als „umgekehrter“ Ansatz in der Biodetektion betrachtet werden, der für eine Erfassung extrem niedriger Konzentrationen ideal sein kann. Gleichzeitig wird eine thermodynamische Untersuchung die Änderungen der freien Enthalpie zugänglich machen, was eine ganzheitliche Herangehensweise bei der Untersuchung der Bindungseigenschaften von Grenzflächenproteinen ermöglicht. Der Fall von an die Gate-Elektrode gebundenen duftstoffbindenden Proteinen, die mit den Enantiomeren der Carvon-Duftmoleküle wechselwirken, ist ein interessantes Beispiel, das im folgenden Abschnitt erörtert wird.

3.2. Die Rolle der Kapazität bei den Mechanismen in bioelektronischen elektrolytgesteuerten Transistoren

Die Gesamtreaktion in einem bioelektronischen Bauelement spiegelt die besonderen energetischen Aspekte wider, die mit einem Prozess verbunden sind, an dem an einer Oberfläche adsorbierte Erkennungselemente beteiligt sind, die einen Komplex mit einem Affinitätsliganden bilden. Ein

kürzlich veröffentlichtes Beispiel^[6] mit Geruchsstoffe bindenden Proteinen könnte die Komplexität dieses Zusammenspiels verdeutlichen. pOBPs („porcine odorant binding proteins“) sind kleine Proteinmoleküle, die im Nasenschleim von Wirbeltieren oder in Sensillen-Lymphe in den Antennen von Insekten zu finden sind; sie besitzen eine einzige Bindungsstelle, um nichthydrophile Liganden aufzunehmen. Ihre Bindungseigenschaften zeichnen sich durch eine breite Selektivität gegenüber einer Reihe von Geruchsstoffliganden mit Dissoziationskonstanten im μM -Bereich aus. Die pOBP-Mutante F88W ergab in einem in Lösung durchgeführten Fluoreszenzassay mit konkurrierender Bindung Dissoziationskonstanten $K_{D,\text{sol}}^+ = 0.5 \mu\text{M}$ und $K_{D,\text{sol}}^- = 1.2 \mu\text{M}$ für die pOBP-Komplexe von (S)-(+)-Carvon bzw. (R)-(-)-Carvon; es wurde außerdem eingeschätzt, dass die Nachweisgrenzen unterhalb des μM -Bereiches liegen. Die Modellierung der Daten konnte mittels Gleichung (1a) vorgenommen werden, wodurch ein nichtkooperativer Bindungsvorgang in Lösung für beide Enantiomere von Carvon nachgewiesen wurde. Der gleiche Assay wurde unter Verwendung einer EG-TFT-Konfiguration durchgeführt. Während pOBPs in reinem Wasser schwach negativ geladen sind, weisen die Duftmoleküle (S)-(+)-Carvon und (R)-(-)-Carvon statt einer Nettoladung ein Dipolmoment auf. Dadurch kommen sie nicht in die bevorzugte Auswahl für die Transistor-Detektion, da geladene Spezies zu einer größeren Ausgangsantwort führen. Wie im Folgenden gezeigt, bewirken jedoch in diesem Fall die Kapazitätsänderungen eine größere Signalveränderung, die den differenziellen Nachweis chiraler Spezies im pM-Bereich ermöglicht.

In Abbildung 10a ist eine EG-TFT-Struktur unter Einbindung der pOBP-Moleküle schematisch dargestellt. Als PSC dient eine Schicht aus Poly[2,5-bis(3-tetradecylthiophen-2-yl)thieno[3,2-b]thiophen] (PBTTT-C14) vom p-Typ, die auf ein flexibles Substrat aufgebracht wird, während der Elektrolyt Wasser ist. Das als Gate-Elektrode dienende Goldplättchen wurde mit einer sehr kompakten pOBP-SAM funktionalisiert. Speziell wurden die Carboxylgruppen mit einer Lösung von 3-Mercaptopropionsäure auf die Elektrodenoberfläche gepfropft. Anschließend wurden die pOBPs mittels Carbodiimid-Chemie kovalent an die Oberfläche gebunden. Diese Gate-Elektrode wurde danach auf den Wassertropfen gelegt, der sich schon in Kontakt mit der Oberfläche der Schicht aus PBTTT-C14 befand, und die in Abbildung 10b gezeigten I - V -Kennlinien wurden aufgenommen. Bei einem Spannungsdurchlauf von 0 V bis -0.5 V wurden für μ_{FET} Werte bis $1 \cdot 10^{-1} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ erhalten.

Zur Untersuchung der pOBP-Carvon-Bindung wurde die Abnahme des Ausgangsstroms des EG-TFT mit pOBP nach Bindung von Carvon bewertet. Dazu wurden die Übertragungskennlinien (I_{DS} gegen V_G) in Abwesenheit der Carvon-Moleküle (Basislinie) und in Gegenwart der Carvon-Moleküle (Signallinie) gemessen. $\Delta I/I = [(I - I_0)/I_0]$ wird bewertet, indem I und I_0 als I_{DS} -Werte (bei $V_G = -0.5$ V) als Signalwert bzw. Basislinienwert herangezogen werden. Die Kurven der Bindung der Liganden (S)-(+)-Carvon und (R)-(-)-Carvon an die pOBP-SAM in Form von $\Delta I/I$ gegen die Ligandenkonzentration sind in Abbildung 10c dargestellt. Die Wechselwirkung mit 2-Phenylethanol diente als negative Kontrolle.

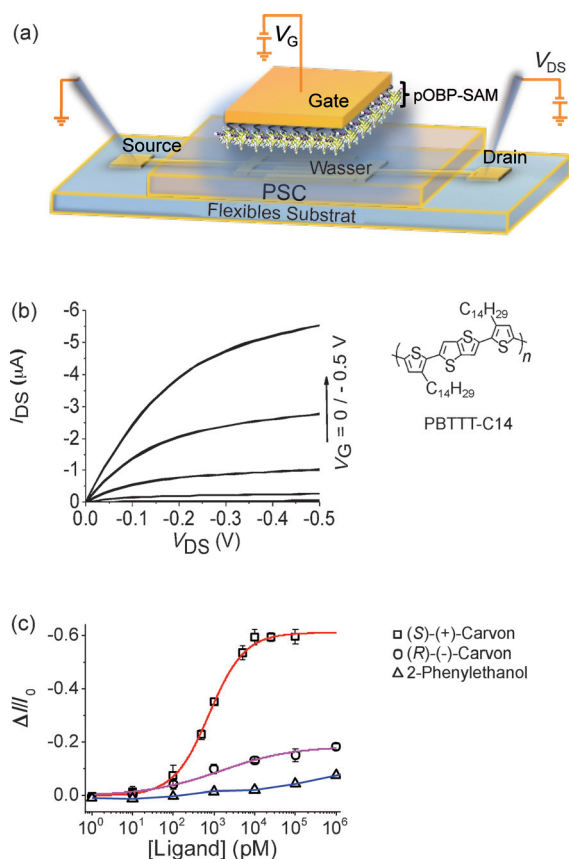


Abbildung 10. (a) EG-TFT auf Basis von PBTTT-C14 vom p-Typ. Ein biofunktionalisiertes Goldplättchen liegt auf dem Wassertropfen, wodurch ein Kontakt mit diesem hergestellt wird, und fungiert als Gate-Elektrode. (b) Die I - V -Kurven werden im Source-Modus gemessen, wobei V_{DS} von 0 und -0.5 V verändert wird. Die Gate-Vorspannung V_G ändert sich im gleichen Bereich in Schritten von -0.1 V. Die Messungen wurden durch Durchlaufen der Drain-Spannung vor und zurück durchgeführt, um das Auftreten von Hysterese zu beurteilen. (c) Veränderungen der Kapazität, abgeleitet aus dem gemessenen Source-Drain-Strom nach Einwirkung der Liganden (R)-(-)-Carvon und (S)-(+)-Carvon sowie 2-Phenylethanol in Konzentrationen von 1 bis 10^6 pM. $\Delta I/I_0$ ist die elektronische Reaktion bei einer vorgegebenen Konzentration, und die relevante Dosis-Reaktion-Kurve wird durch Auftragen dieser Messwertpunkte bei allen untersuchten Konzentrationen als Mittelwerte von drei Wiederholungen an unterschiedlichen Bauelementen erhalten, wobei der relative Fehler als Standardabweichung genommen wird. Für weitere Informationen siehe Lit. [6].

Die Kurven des Ansprechens auf die Enantiomere von Carvon unterscheiden sich bis herab zu Konzentrationen von einigen pM, was zeigt, dass der differenzielle Nachweis chiraler Spezies mit einem EG-TFT bei extrem niedrigen Konzentrationen gelingen kann. Die Anpassung der Kurve der Bindung von (S)-(+)-Carvon (rote durchgezogene Linie in Abbildung 10c) wird mittels Langmuir-Isotherme [Gleichung (1a)] vorgenommen, während die Kurve der Bindung von (R)-(-)-Carvon (violette durchgezogene Linie in Abbildung 10c) nur mit dem Bindungsmodell von Hill [Gleichung (1b)] modelliert werden konnte, das auch verwendet wurde, um die entsprechenden Messwerte von 2-Phenylethanol (blaue Linie) zu modellieren. Die Anpassung der für (S)-(+)-Carvon erhaltenen Messwerte an eine Langmuir-

Isotherme der nichtkooperativen Bindung führt zu einer Dissoziationskonstante $K_{D,surf}^+ = 0.8$ nM bei einer Nachweisgrenze von 50 pM, während die Bestimmungsgrenze 150 pM beträgt. Die Parameter der besten Anpassung sind für (R)-(-)-Carvon $K_{D,surf}^- = 20$ nM und $m = 0.5$ ($m < 1$), die darauf hindeuten, dass in diesem Fall eine antikooperative Bindung erfolgt. Die Gleichung von Hill stimmt auch damit überein, dass die Bindung von 2-Phenylethanol ebenfalls ein antikooperatives Verhalten zeigt ($m = 0.3$). Wenn die pOBPs auf einer festen Oberfläche verankert sind, kann somit abgeleitet werden, dass die Bindung des Liganden (S)-(+)-Carvon, wie im Fall der in Lösung erfolgenden Bindung beider Enantiomere von Carvon an die pOBPs, nichtkooperativ ist. Bei (R)-(-)-Carvon ist ein antikooperatives Bindungsverhalten erkennbar, das darauf hinweist, dass die dichte Packung der Proteine zu einer zweidimensionalen Anordnung laterale Wechselwirkungen zwischen den Proteinen ermöglicht, was sich auf die Kooperativität auswirkt. Derartige laterale Wechselwirkungen fehlen in Lösung (wie erwartet) und treten nicht auf, wenn die gebundenen pOBPs mit (S)-(+)-Carvon wechselwirken. Dieses Phänomen kann erklärt werden mit einem Modell der pOBP-Schicht unter Vorhersage einer hochdielektrischen Dünnschicht, die möglicherweise durch wenige adsorbierte Wassermoleküle gebildet wird und die angrenzendes Protein durch Wechselwirkung mit (R)-(-)-Carvon verknüpft. Interessanterweise sagt das Modell vorher, dass solch ein Weg entfällt, wenn das Protein mit (S)-(+)-Carvon wechselwirkt.^[6] Solche deutlichen Unterschiede in den Wechselwirkungsmechanismen sind höchstwahrscheinlich der Grund für den gemessenen sehr hohen Enantioselektivitätsfaktor. Dieser ergibt sich aus dem Verhältnis der Steigungen im linearen Bereich der Bindungskurven. Tatsächlich ist er größer als 6 und gehört damit zu den höchsten gemessenen Werten, insbesondere bei solch einer extrem niedrigen Ligandenkonzentration. Somit belegt die Bindung der beiden Enantiomere von Carvon an die pOBP-SAM, die gekennzeichnet ist durch einen sehr unterschiedlichen Grad der Kooperativität und einen außergewöhnlich hohen Enantioselektivitätsfaktor, dass tatsächlich deutlich unterschiedliche Wechselwirkungen bei an der Oberfläche segregierten biologischen Erkennungselementen auftreten.

Neben der Bewertung der Unterschiede der Bindungseigenschaften wird in der am EG-TFT mit pOBPs durchgeführten Bindungsstudie festgestellt, dass die mit dem TFT gemessenen Dissoziationskonstanten ($K_{D,surf}$) mindestens drei Zehnerpotenzen kleiner sind als die in Lösung gemessenen Dissoziationskonstanten ($K_{D,sol}$), während das Ausmaß der Affinität erhalten bleibt. Das entspricht genau dem, was mit Gleichung (3) vorhergesagt wird, und es ist sehr interessant, die W -Werte für beide Enantiomere von Carvon unter Verwendung der in Lösung und am TFT gemessenen Werte der freien Bindungsenthalpien sowie der Verschiebung der Schwellenspannung des Bauelementes zu errechnen. In Lit. [6] wird gezeigt, dass sich die W -Werte beider Enantiomere nicht unterscheiden, während ein erheblicher Unterschied bei der elektrochemischen Arbeit \bar{W} ersichtlich ist. Das bedeutet, dass die Arbeit der Komplex-Immobilisierung unabhängig von der Chiralität ist, was belegt, dass sie haupt-

sächlich mit dem inneren Hohlraum der pOBPs verbunden ist. Die Messwerte weisen somit deutlich darauf hin, dass in den Term $\Delta G^{\circ}_{\text{sol}}$ die Vorgänge im inneren Hohlraum eingehen, während die elektrochemische Oberflächenarbeit mit der Übertragung des Transistors verbunden ist. Das sind sehr wichtige Schlussfolgerungen, die nur abgeleitet werden können dank der umfassenden Einblicke in die Vorgänge der Bildung der pOBP-Carvon-Komplexe, die durch Verknüpfung der in Lösung und mit einem bioelektronischen TFT erhaltenen Daten gewonnen wurden.

Dass elektrolytgesteuerte Transistoren winzige Veränderungen in einer Proteinschicht nachweisen können, wird auch durch die Arbeit anderer Gruppen gestützt. In diesem Zusammenhang interessant ist das Beispiel eines EG-TFT auf Graphenbasis, in den auf die Graphenoberfläche aufgebrachte Geruchsrezeptoren integriert sind. Die Struktur des Bauelementes ist in Abbildung 11a dargestellt.^[72] Der EG-

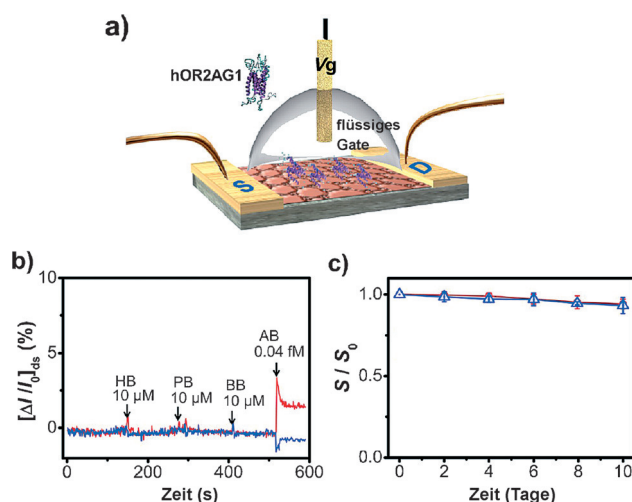


Abbildung 11. (a) Ein EG-TFT auf der Basis von zweischichtigem Graphen, das einer Plasmabehandlung unterzogen und mit einem olfaktorischen Rezeptor konjugiert wurde. (b) Selektive Reaktionen des EG-TFT nach Zugabe von Hexylbutyrat (HB), Propylbutyrat (PB) und Butylbutyrat (BB), die keine Zielgeruchsstoffe sind, und von Amylbutyrat (AB) als Zielgeruchsstoff. (c) Lagertest des EG-TFT. Nach Lit. [72], Abdruck mit Genehmigung. Copyright 2012 American Chemical Society.

TFT beruht auf einer elektronischen Graphenschicht, deren Oberfläche durch Aufpfropfen des humanen olfaktorischen Rezeptors 2AG1 (hOR2AG1) modifiziert wird. Zweischichtiges Graphen wurde einer Plasmabehandlung in einer kontrollierten Sauerstoff- oder Ammoniakatmosphäre unterzogen, um eine stabile p- bzw. n-Leitung zu induzieren. Danach wurde 1,5-Diaminonaphthalin auf das im Plasma behandelte Graphen aufgeschichtet und durch eine Reaktion mit Glutaraldehyd mit dem Geruchsrezeptor verknüpft.

Der olfaktorische Rezeptor hOR2AG1 gehört zur Klasse der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren und liegt in zwei eindeutig erkennbaren Konformationszuständen vor: In dem einen Zustand sind die Cysteinreste neutral, während sie in dem anderen Zustand negativ geladen sind. Die spezifische Wechselwirkung mit Geruchsstoffen löst eine strukturelle Umlagerung des Geruchsrezeptors aus, die zu einem Wechsel

in den negativ geladenen Zustand führt.^[73] In Abbildung 11b sind die Kurven des transienten Stroms I_{DS} des EG-TFT mit hOR2AG1, der verschiedenen Geruchsstoffen ausgesetzt wurde, wiedergegeben. Die blaue Kurve stammt von Graphen vom n-Typ, die rote Kurve von Graphen vom p-Typ. Der Transistor wird extrem niedrigen Konzentrationen (0,05 fM) des Esters Amylbutyrat (AB) als Geruchsstoff ausgesetzt, wodurch eine perfekt messbare relative Stromänderung von wenigen Prozent erzeugt wird. Die Stromänderung bei den unterschiedlich dotierten Graphenoberflächen in entgegengesetzte Richtungen ist ein Beleg dafür, dass das System auf die negative Nettoladung reagiert, die am Geruchsrezeptor entsteht, während er selektiv mit dem Geruchsstoff wechselwirkt. Keine Reaktion kann gemessen werden, wenn Geruchsstoffe wie Hexylbutyrat (HB), Propylbutyrat (PB) und Butylbutyrat (BB) in viel höheren Konzentrationen (10 μM) injiziert werden. In diesem Fall erfolgt keine Konformationsänderung der Geruchsrezeptoren, die sie in den geladenen Zustand überführen kann. Es wird eine Nachweisgrenze für AB bis herab zu 0,04 fM bei einem Signal/Rauschen-Verhältnis von 4,2 angegeben, während sich die Gleichgewichtskonstanten in der Größenordnung 10^{-14} M bewegen. Solch eine erstaunlich niedrige Nachweisgrenze bestätigt erneut das Potenzial von EG-TFTs, das sogar noch gesteigert werden kann, wenn nach der Bindung eine Nettoladung erzeugt wird. In diesem Fall nutzt das System, obwohl es noch durch die Kapazitätsänderungen in der Bioschicht moduliert ist, die großen elektrostatischen Veränderungen, die sich höchstwahrscheinlich summieren und zu einer großen relativen Stromänderung führen. Das Bauelement war sehr stabil über einen Zeitraum von 10 Tagen, wie mit den in Abbildung 11c angegebenen Werten dokumentiert.

Ein anderes Beispiel, das die Stärke des Nachweises mit kapazitätsmodulierten EG-TFTs belegt, liefert der Vergleich von zwei unterschiedlichen bioelektronischen TFTs, die beide Dopamin (DA) nachweisen. In Abbildung 12a ist ein EG-TFT dargestellt, dessen Gate-Elektrode aus Gold mit einer SAM aus Cysteamin und 4-Formylphenylboronsäure modifiziert ist.^[74] Diese SAM ermöglicht die selektive kovalente Bindung von Dopamin durch Veresterung mit 4-Formylphenylboronsäure. Eine derartige Reaktion geht nicht mit einer Ladungsübertragung auf die Elektrode einher. Stattdessen baut sich beim Vorgang der Dopaminadsorption aufgrund der Zwitterionenstruktur der Boronsäure und der Aminogruppe ein großer Oberflächendipol auf. Die Übertragungskennlinien, die aufgenommen wurden, nachdem die Gate-Elektrode unterschiedlichen Dopaminkonzentrationen ausgesetzt wurde, zeigen deutlich, dass das Bauelement eine große Stromänderung erzeugen kann, selbst wenn eine Dopaminkonzentration bis herab zu 1 pM nachgewiesen wird (Abbildung 12b). Das ist auf Veränderungen der dielektrischen und elektrostatischen Eigenschaften zurückzuführen, die in der SAM nach der Bindung von Dopamin auftreten, während keine elektrochemische Oxidation von Dopamin stattfindet. Interessanterweise wurde eine Empfindlichkeit im nM-Bereich bestenfalls mit einem organischen elektrochemischen Transistor erreicht, unter Ausnutzung der Oxidation von Dopamin, die einen Anstieg des mit dem TFT gemessenen Faraday-Stroms zur Folge hat.^[75] Ein ähnlicher Prozess ist

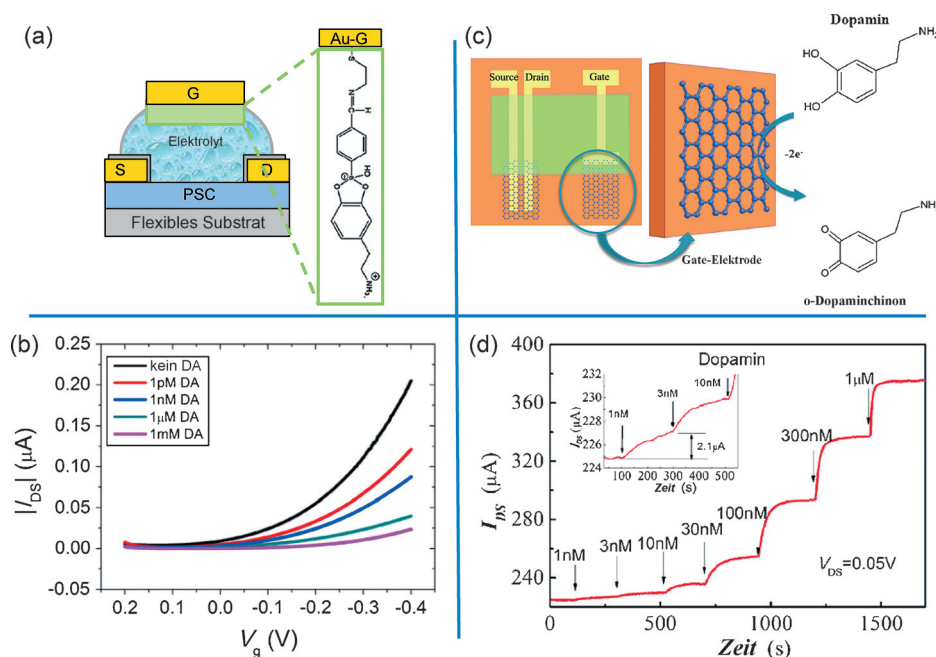


Abbildung 12. (a) Schematische Darstellung des Bauelementes, die die Gate-Elektrode als die aktive Erkennungsoberfläche sowie die chemische Struktur des Erkennungselementes der SAM auf der Goldoberfläche zeigt. (b) Übertragungskurven für unterschiedliche Dopaminkonzentrationen. (c) Schematische Darstellung eines Graphenkanals und eines elektrolytgesteuerten Transistors mit einer Gate-Elektrode aus Graphen. Die elektrochemische Reaktion von Dopamin an der Gate-Elektrode aus Graphen wird ebenfalls beschrieben. (d) Ansprechen des Transistors in Form des transienten Stroms im Kanal auf Zugabe unterschiedlicher Dopaminkonzentrationen. $V_{DS}=0.05$ V, $V_G=0.7$ V. (a,b) nach Lit. [73], Abdruck mit Genehmigung. Copyright 2013 Elsevier B.V.; (c,d) nach Lit. [75], Abdruck mit Genehmigung. Copyright 2013 Wiley-VCH, Weinheim.

bei dem in Abbildung 12c wiedergegebenen bioelektronischen TFT ersichtlich. In einer derartigen Struktur fungieren die Graphenschichten sowohl als Kanal als auch als Gate-Elektrode.^[76] Die Gate-Elektrode aus Graphen dient außerdem als Arbeitselektrode im elektrochemischen Prozess, der zur Oxidation von Dopamin und zur Übertragung eines Elektrons auf die Gate-Elektrode führt. Der transiente Strom I_{DS} in Gegenwart unterschiedlicher Dopaminkonzentrationen ist in Abbildung 12d dargestellt. Das Bauelement zeigt eine stabile Leistung, aber es konnte höchstens eine Konzentration an Dopamin von 1 nM erfasst werden. Eine mögliche Erklärung zu den offensichtlich systematisch geringeren Nachweisen, die erreicht werden, wenn eine elektrochemische Reaktion beteiligt ist, kann gegeben werden unter Berücksichtigung dessen, dass während des Nachweises der kapazitive Strom, der die Aufladung der Doppelschicht bewirkt, mit dem Faraday-Strom konkurriert, was für einen potentiometrischen elektrochemischen Prozess typisch ist. Diese kapazitive Komponente, die normalerweise höchstens $20 \mu\text{F cm}^{-2}$ beträgt, führt zu einem transienten Untergrundstrom, der sich auf die Nachweisgrenzen elektrochemischer TFTs auswirken kann. Demgegenüber ist das eine sehr hohe Kapazität, die nicht die resultierende Kapazität des Ansteuerungssystems eines EG-TFT beeinträchtigt.

4. Zusammenfassung und Ausblick

Elektrolytgesteuerte Dünnschichttransistoren können als leistungsstarke sowie druckbare bioelektronische Bauelemente genutzt werden. Beispiele von TFTs, die organische Halbleiter, aber auch in Lösung verarbeitete Zinkoxid- und Graphenschichten enthalten, werden erörtert. In die Bauelemente ist eine Bioschicht integriert, die an eine der elektronischen Schnittstellen des Transistors gekoppelt ist. Der entscheidende Aspekt ihres Funktionsmechanismus ist das Vorliegen von Ladungsdoppelschichten mit hoher Kapazität, die die Untersuchung feiner Veränderungen in der Bioschicht ermöglichen, da die an eine Oberfläche gebundenen Erkennungselemente selektiv mit ihrem Affinitätsliganden wechselwirken. Der differenzielle Nachweis chiraler Spezies mit einem hohen Grad der Enantiomerenunterscheidung und die präzise Erfassung von Wechselwirkungsenergien bis herab zu wenigen kJ mol^{-1} werden gezeigt. Diese Bauelemente haben sich außerdem als besondere Hilfsmittel mit breiter Anwendbarkeit erwiesen, mit denen ein Ligandennachweis unterhalb des femtomolaren Konzentrationsbereiches möglich ist. Eine derartige Technologie könnte den derzeitigen Vor-Ort-Ansatz grundlegend verändern. Zugleich ermöglicht eine thermodynamische Studie zu den in Lösung und an der Elektrode gemessenen Änderungen der freien Enthalpie eine ganzheitliche Herangehensweise an die Untersuchung der Bindungseigenschaften von Grenzflächenproteinen.

Danksagung

Unser Dank gilt Krishna Persaud, Gianluca Lattanzi und Paolo Bergese für nützliche Diskussionen. Die in diesem Aufsatz erörterten Arbeiten wurden dank der finanziellen Unterstützung der folgenden Vorhaben erbracht: PON project „Laboratorio per lo Sviluppo Integrato delle Scienze e delle Tecnologie dei Materiali Avanzati e per dispositivi innovativi – LABORATORIO SISTEMA“, Sense of care – OFET biosensors for point-of-care applications – PITN-GA-2012-316845, OrgBIO – Organic Bioelectronics – PITN-GA-2013-607896.

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, 54, 12562–12576
Angew. Chem. **2015**, 127, 12746–12762

- [1] a) I. R. Mineev, P. Musienko, A. Hirsch, Q. Barraud, N. Wenger, E. M. Moraud, J. Gandar, M. Capogrosso, T. Milekovic, L. Asboth, *Science* **2015**, *347*, 159–163; b) J. Rivnay, R. M. Owens, G. G. Malliaras, *Chem. Mater.* **2014**, *26*, 679–685; c) M. Berggren, A. Richter-Dahlfors, *Adv. Mater.* **2007**, *19*, 3201–3213.
- [2] I. Willner, R. Baron, B. Willner, *Biosens. Bioelectron.* **2007**, *22*, 1841–1852.
- [3] D. Khodagholy, J. N. Gelinas, T. Thesen, W. Doyle, O. Devinsky, G. G. Malliaras, G. Buzsáki, *Nat. Neurosci.* **2014**, *18*, 310–315.
- [4] a) P. J. Molino, G. G. Wallace, *Appl. Phys. Lett. Mater.* **2015**, *3*, 014913; b) A. Chortos, Z. Bao, *Mater. Today* **2014**, *17*, 321–331; c) M. Drack, I. Graz, T. Sekitani, T. Someya, M. Kaltenbrunner, S. Bauer, *Adv. Mater.* **2015**, *27*, 34–40.
- [5] K. Svennersten, K. C. Larsson, M. Berggren, A. Richter-Dahlfors, *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.* **2011**, *1810*, 276–285.
- [6] M. Y. Mulla, E. Tuccori, M. Magliulo, G. Lattanzi, G. Palazzo, K. Persaud, L. Torsi, *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 6010.
- [7] a) S. H. Kim, K. Hong, W. Xie, K. H. Lee, S. Zhang, T. P. Lodge, C. D. Frisbie, *Adv. Mater.* **2013**, *25*, 1822–1846; b) L. Torsi, M. Magliulo, K. Manoli, G. Palazzo, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 8612–8628.
- [8] a) M. Irimia-Vladu, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 588–610; b) A. Campana, T. Cramer, D. T. Simon, M. Berggren, F. Biscarini, *Adv. Mater.* **2014**, *26*, 3874–3878.
- [9] F. Werkmeister, B. Nickel, *J. Mater. Chem. B* **2013**, *1*, 3830–3835.
- [10] a) D. Töbjork, R. Österbacka, *Adv. Mater.* **2011**, *23*, 1935–1961; b) P. J. Wojcik, L. Santos, L. Pereira, R. Martins, E. Fortunato, *Nanoscale* **2015**, *7*, 1696–1708; c) S. Thiemann, S. J. Sachnov, F. Pettersson, R. Bollström, R. Österbacka, P. Wasserscheid, J. Zaumseil, *Adv. Funct. Mater.* **2014**, *24*, 625–634.
- [11] C. P. Tan, B. R. Cipriany, D. M. Lin, H. G. Craighead, *Nano Lett.* **2010**, *10*, 719–725.
- [12] <http://www.researchandmarkets.com/reports/2090646/>.
- [13] E. Fortunato, P. Barquinha, R. Martins, *Adv. Mater.* **2012**, *24*, 2945–2986.
- [14] a) K. Balasubramanian, K. Kern, *Adv. Mater.* **2014**, *26*, 1154–1175; b) S. Liu, X. Guo, *NPG Asia Mater.* **2012**, *4*, e23; c) M. D. Angione, R. Pilolli, S. Cotrone, M. Magliulo, A. Mallardi, G. Palazzo, L. Sabbatini, D. Fine, A. Dodabalapur, N. Cioffi, L. Torsi, *Mater. Today* **2011**, *14*, 424–433.
- [15] F. Chen, Q. Qing, J. Xia, N. Tao, *Chem. Asian J.* **2010**, *5*, 2144–2153.
- [16] D. T. Simon, S. Kurup, K. C. Larsson, R. Hori, K. Tybrandt, M. Gojny, E. W. Jager, M. Berggren, B. Canlon, A. Richter-Dahlfors, *Nat. Mater.* **2009**, *8*, 742–746.
- [17] P. Leleux, J. Rivnay, T. Lonjaret, J. M. Badier, C. Bénar, T. Hervé, P. Chauvel, G. G. Malliaras, *Adv. Healthcare Mater.* **2015**, *4*, 142–147.
- [18] S. A. Tria, M. Ramuz, M. Huerta, P. Leleux, J. Rivnay, L. H. Jimison, A. Hama, G. G. Malliaras, R. M. Owens, *Adv. Healthcare Mater.* **2014**, *3*, 1053–1060.
- [19] C. R. Kagan, P. Andry, *Thin-Film Transistors* (Hrsg.: C. R. Kagan, P. Andry), Marcel Dekker, New York, **2003**.
- [20] S. M. Sze, K. K. Ng, *Physics of Semiconductor Devices*, 3. Aufl., Wiley, Hoboken, **2006**.
- [21] a) R. M. Owens, G. G. Malliaras, *MRS Bull.* **2010**, *35*, 449–456; b) G. Tarabella, G. Nanda, M. Villani, N. Coppédè, R. Mosca, G. G. Malliaras, C. Santato, S. Iannotta, F. Ciccoira, *Chem. Sci.* **2012**, *3*, 3432–3435.
- [22] a) L. Kergoat, B. Piro, M. Berggren, G. Horowitz, M.-C. Pham, *Anal. Bioanal. Chem.* **2012**, *402*, 1813–1826; b) C. Liao, M. Zhang, M. Y. Yao, T. Hua, L. Li, F. Yan, *Adv. Mater.* **2015**, *27*, 676–681; c) R. Porrazzo, S. Bellani, A. Luzio, C. Bertarelli, G. Lanzani, M. Caironi, M. Antognazza, *Appl. Phys. Lett. Mater.* **2015**, *3*, 0149051–0149058.
- [23] a) M. Demelas, S. Lai, A. Spanu, S. Martinoia, P. Cosseddu, M. Barbaro, A. Bonfiglio, *J. Mater. Chem. B* **2013**, *1*, 3811–3819; b) T. Minamiki, T. Minami, R. Kurita, O. Niwa, S.-i. Wakida, K. Fukuda, D. Kumaki, S. Tokito, *Appl. Phys. Lett.* **2014**, *104*, 243703; c) M. Kamahori, Y. Ishige, M. Shimoda, *Biosens. Bioelectron.* **2008**, *23*, 1046–1054.
- [24] a) O. Knopfmacher, M. L. Hammock, A. L. Appleton, G. Schwartz, J. Mei, T. Lei, J. Pei, Z. Bao, *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 2954; b) M. Magliulo, K. Manoli, E. Macchia, G. Palazzo, L. Torsi, *Adv. Mater.* **2014**, DOI: 10.1002/adma.201403477; c) V. Benfenati, S. Toffanin, S. Bonetti, G. Turatti, A. Pistone, M. Chiappalone, A. Sagnella, A. Stefani, G. Generali, G. Ruani, D. Saguatti, R. Zamboni, M. Muccini, *Nat. Mater.* **2013**, *12*, 672–680.
- [25] M. J. Spijkman, J. J. Brondijk, T. C. Geuns, E. C. Smits, T. Cramer, F. Zerbetto, P. Stolar, F. Biscarini, P. W. Blom, D. M. de Leeuw, *Adv. Funct. Mater.* **2010**, *20*, 898–905.
- [26] M. L. Hammock, O. Knopfmacher, B. D. Naab, J. B.-H. Tok, Z. Bao, *ACS Nano* **2013**, *7*, 3970–3980.
- [27] a) M. D. Angione, S. Cotrone, M. Magliulo, A. Mallardi, D. Altamura, C. Giannini, N. Cioffi, L. Sabbatini, E. Fratini, P. Baglioni, G. Scamarcio, G. Palazzo, L. Torsi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2012**, *109*, 6429–6434; b) M. Magliulo, A. Mallardi, R. Gristina, F. Ridi, L. Sabbatini, N. Cioffi, G. Palazzo, L. Torsi, *Anal. Chem.* **2013**, *85*, 3849–3857.
- [28] B. Crone, A. Dodabalapur, A. Gelperin, L. Torsi, H. Katz, A. Lovinger, Z. Bao, *Appl. Phys. Lett.* **2001**, *78*, 2229–2231.
- [29] M. E. Roberts, S. C. Mannsfeld, N. Queraltó, C. Reese, J. Locklin, W. Knoll, Z. Bao, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 12134–12139.
- [30] P. Bergveld, *Sens. Actuators B* **2003**, *88*, 1–20.
- [31] A. Spanu, S. Lai, P. Cosseddu, M. Tedesco, S. Martinoia, A. Bonfiglio, *Sci. Rep.* **2015**, *5*, 8807.
- [32] X. Strakosas, M. Bongo, R. M. Owens, *J. Appl. Polym. Sci.* **2015**, *132*, 41735–41735.
- [33] D. Khodagholy, T. Doublet, P. Quilichini, M. Gurfinkel, P. Leleux, A. Ghestem, E. Ismailova, T. Hervé, S. Sanaur, C. Bernard, G. G. Malliaras, *Nat. Commun.* **2013**, *4*, 1–7.
- [34] a) H. E. Katz, *Electroanalysis* **2004**, *16*, 1837–1842; b) D. Duarte, A. Dodabalapur, *J. Appl. Phys.* **2012**, *111*, 0445091–0445097.
- [35] T. Cramer, A. Campana, F. Leonardi, S. Casalini, A. Kyndiah, M. Murgia, F. Biscarini, *J. Mater. Chem. B* **2013**, *1*, 3728–3741.
- [36] R. DiCosimo, J. McAuliffe, A. J. Poulouse, G. Bohlmann, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 6437–6474.
- [37] N. Durán, M. A. Rosa, A. D'Annibale, L. Gianfreda, *Enzyme Microb. Technol.* **2002**, *31*, 907–931.
- [38] S. Federici, G. Oliviero, K. Hamad-Schifferli, P. Bergese, *Nanoscale* **2010**, *2*, 2570–2574.
- [39] a) R. Grange, J. Thompson, D. Lambert, *Br. J. Anaesth.* **2014**, *112*, 213–216; b) S. D. Gan, K. R. Patel, *J. Invest. Dermatol.* **2013**, *133*, e12; c) J. Hu, S. Wang, L. Wang, F. Li, B. Pingguan-Murphy, T. J. Lu, F. Xu, *Biosens. Bioelectron.* **2014**, *54*, 585–597.
- [40] J. Homola, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 462–493.
- [41] H.-F. Ji, H. Gao, K. R. Buchapudi, X. Yang, X. Xu, M. K. Schulte, *Analyst* **2008**, *133*, 434–443.
- [42] D. Maiolo, S. Federici, L. Ravelli, L. E. Depero, K. Hamad-Schifferli, P. Bergese, *J. Colloid Interface Sci.* **2013**, *402*, 334–339.
- [43] a) P. Jonkheijm, D. Weinrich, H. Schröder, C. M. Niemeyer, H. Waldmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 9618–9647; *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 9762–9792; b) F. Rusmini, Z. Zhong, J. Feijen, *Biomacromolecules* **2007**, *8*, 1775–1789.
- [44] M. Rabe, D. Verdes, S. Seeger, *Adv. Colloid Interface Sci.* **2011**, *162*, 87–106.
- [45] a) P. Stolar, E. Bystrenova, S. Quiroga, P. Annibale, M. Facchini, M. Spijkman, S. Setayesh, D. De Leeuw, F. Biscarini, *Biosens.*

- Bioelectron.* **2009**, *24*, 2935–2938; b) P. Lin, F. Yan, *Adv. Mater.* **2012**, *24*, 34–51.
- [46] L. S. Wong, F. Khan, J. Micklefield, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 4025–4053.
- [47] a) R. G. Nuzzo, D. L. Allara, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 4481–4483; b) Z. Matharu, A. J. Bandodkar, V. Gupta, B. D. Malhotra, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 1363–1402; c) N. K. Chaki, K. Vijayamohan, *Biosens. Bioelectron.* **2002**, *17*, 1–12; d) C. D. Bain, E. B. Troughton, Y. T. Tao, J. Evall, G. M. Whitesides, R. G. Nuzzo, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 321–335.
- [48] a) H. U. Khan, M. E. Roberts, O. Johnson, R. Förch, W. Knoll, Z. Bao, *Adv. Mater.* **2010**, *22*, 4452–4456; b) M. Magliulo, A. Mallardi, M. Y. Mulla, S. Cotrone, B. R. Pistillo, P. Favia, I. Vikholm-Lundin, G. Palazzo, L. Torsi, *Adv. Mater.* **2013**, *25*, 2090–2094.
- [49] M. Magliulo, B. R. Pistillo, M. Y. Mulla, S. Cotrone, N. Ditaranto, N. Cioffi, P. Favia, L. Torsi, *Plasma Processes Polym.* **2013**, *10*, 102–109.
- [50] L. Kergoat, B. Piro, M. Berggren, M.-C. Pham, A. Yassar, G. Horowitz, *Org. Electron.* **2012**, *13*, 1–6.
- [51] L. Kergoat, B. Piro, D. T. Simon, M. C. Pham, V. Noël, M. Berggren, *Adv. Mater.* **2014**, *26*, 5658–5664.
- [52] J. Turková, *J. Chromatogr. B* **1999**, *722*, 11–31.
- [53] G. Palazzo, D. De Tullio, M. Magliulo, A. Mallardi, F. Intramuro, M. Y. Mulla, P. Favia, I. Vikholm-Lundin, L. Torsi, *Adv. Mater.* **2015**, *27*, 911–916.
- [54] C. Suspène, B. Piro, S. Reisberg, M.-C. Pham, H. Toss, M. Berggren, A. Yassar, G. Horowitz, *J. Mater. Chem. B* **2013**, *1*, 2090–2097.
- [55] I. Vikholm-Lundin, S. Auer, M. Paakkunainen, J. A. Määttä, T. Munter, J. Leppiniemi, V. P. Hytönen, K. Tappura, *Sens. Actuators B* **2012**, *171*, 440–448.
- [56] A. W. Adamson, A. P. Gast, *Physical Chemistry of Surfaces*, 6. Aufl., Wiley, New York, **1997**.
- [57] R. Sips, *J. Chem. Phys.* **1948**, *16*, 490–495.
- [58] J. N. Weiss, *FASEB J.* **1997**, *11*, 835–841.
- [59] a) Y. Liu, Y.-J. Liu, *Sep. Purif. Technol.* **2008**, *61*, 229–242; b) S. Cazalbou, G. Bertrand, C. Drouet, *J. Phys. Chem. B* **2015**, *119*, 3014–3024.
- [60] A. Liscio, V. Palermo, P. Samori, *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43*, 541–550.
- [61] R. Levicky, A. Horgan, *Trends Biotechnol.* **2005**, *23*, 143–149.
- [62] G. Oliviero, S. Federici, P. Colombi, P. Bergese, *J. Mol. Recognit.* **2011**, *24*, 182–187.
- [63] W. Brattain, C. Garrett, *Publ. Monograph* **1955**, 2372, 1.
- [64] a) M. J. Panzer, C. R. Newman, C. D. Frisbie, *Appl. Phys. Lett.* **2005**, *86*, 103503; b) L. Kergoat, L. Herlogsson, D. Braga, B. Piro, M. C. Pham, X. Crispin, M. Berggren, G. Horowitz, *Adv. Mater.* **2010**, *22*, 2565–2569.
- [65] A. Al Naim, M. Grell, *Appl. Phys. Lett.* **2012**, *101*, 141603.
- [66] T. Cramer, A. Kyndiah, M. Murgia, F. Leonardi, S. Casalini, F. Biscarini, *Appl. Phys. Lett.* **2012**, *100*, 143302.
- [67] M. J. Panzer, C. D. Frisbie, *Adv. Funct. Mater.* **2006**, *16*, 1051–1056.
- [68] a) A. Dodabalapur, L. Torsi, H. Katz, *Science* **1995**, *268*, 270–271; b) A. Laiho, L. Herlogsson, R. Forchheimer, X. Crispin, M. Berggren, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2011**, *108*, 15069–15073.
- [69] P. Kukic, D. Farrell, L. P. McIntosh, B. García-Moreno, E. K. S. Jensen, Z. Toleikis, K. Teilum, J. E. Nielsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 16968–16976.
- [70] F. Buth, D. Kumar, M. Stutzmann, J. Garrido, *Appl. Phys. Lett.* **2011**, *98*, 153302–153303.
- [71] K. Manoli, M. M. Patrikoussakis, M. Magliulo, L. M. Dumitru, M. Y. Mulla, L. Sabbatini, L. Torsi, *Org. Electron.* **2014**, *15*, 2372–2380.
- [72] S. J. Park, O. S. Kwon, S. H. Lee, H. S. Song, T. H. Park, J. Jang, *Nano Lett.* **2012**, *12*, 5082–5090.
- [73] a) T. H. Kim, S. H. Lee, J. Lee, H. S. Song, E. H. Oh, T. H. Park, S. Hong, *Adv. Mater.* **2009**, *21*, 91–94; b) H. Yoon, S. H. Lee, O. S. Kwon, H. S. Song, E. H. Oh, T. H. Park, J. Jang, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 2755–2758; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 2793–2796.
- [74] S. Casalini, F. Leonardi, T. Cramer, F. Biscarini, *Org. Electron.* **2013**, *14*, 156–163.
- [75] H. Tang, P. Lin, H. L. Chan, F. Yan, *Biosens. Bioelectron.* **2011**, *26*, 4559–4563.
- [76] M. Zhang, C. Liao, Y. Yao, Z. Liu, F. Gong, F. Yan, *Adv. Funct. Mater.* **2014**, *24*, 978–985.

Eingegangen am 21. März 2015
Online veröffentlicht am 30. September 2015
Übersetzt von Kerstin Mühle, Chemnitz