

Abschlußbericht

Machbarkeitsstudie im Rahmen der BMBF Fördermaßnahme
„Nanobiotechnologie“

Berichtszeitraum 01.07.2007 – 30.06.2010

Nanobiotechnologie-Verbundprojekt:
Gerichteter Transport nanoskopischer Ladungen über
molekulare Fließbänder;
Teilprojekt 4

Inhalt

1	Übersichtsangaben	4
2	Kurzdarstellung	4
2.1	Aufgabenstellung	4
2.1.1	Thema und Gesamtziel	4
2.1.2	Aufgaben und Ziele des Teilvorhabens	4
2.2	Voraussetzungen	5
2.3	Planung und Ablauf	5
2.4	Zusammenarbeit mit den Projektpartnern	5
3	Eingehende Darstellung	6
3.1	Gegenüberstellung der Ziele und Ergebnisse	6
3.1.1	Arbeitspaket 1: Spezifikationen und Strukturierungsdesigns	7
3.1.2	Arbeitspaket 2: Anlagen- und Materialvorbereitung	7
3.1.3	Arbeitspaket 3: Planung Chargen	7
3.1.4	Arbeitspaket 4: Erprobung der Prozessfolge zur Strukturierung von dünnen Goldschichten	8
3.1.5	Arbeitspaket 5: Ermittlung Prozessfenster	8
3.1.6	Arbeitspaket 6: Realisierung von Testmustern	8
3.1.7	Arbeitspakete 7, 8, 10, 17, 18, 19: Komplexeren Strukturen	8
3.1.8	Arbeitspaket 9: Verfeinerung und Etablierung der Prozessfolge mit Testchargen	8
3.1.9	Arbeitspaket 11: Planung alternativer Strukturierungsmethode	8
3.1.10	Arbeitspaket 12: Vorbereitung von Hilfsmitteln	8
3.1.11	Arbeitspakete 13 und 16: Planung Chargen bis einschließlich Herstellung weiterer Testmuster	8
3.1.12	Arbeitspaket 14: Erprobung der Prozessfolge zur Strukturierung von dünnen Goldschichten	8
3.1.13	Arbeitspaket 15: Ermittlung des Prozessfensters	9
3.1.14	Arbeitspaket 20: Evaluierung weiterer Strukturierungsmöglichkeiten	9
3.1.15	Arbeitspaket 21: Definition von Konzepten der Mikrofluidikfunktionen	9
3.1.16	Arbeitspaket 22: Festlegung von Anforderungen und Spezifikationen der Komponenten	9
3.1.17	Arbeitspaket 23: Versuchsplanerstellung	9
3.1.18	Arbeitspaket 24: Planung „Anbindung an Außenwelt“	9
3.1.19	Arbeitspaket 25: Designanpassungen und Layouterstellung für Glasträger	9
3.1.20	Arbeitspaket 26: Maskenfertigung und Chargenplanung	10
3.1.21	Arbeitspaket 27: Beschaffung von Komponenten und Vorbereitungen für vereinfachte Aufbauten	10
3.1.22	Arbeitspaket 28: Aufbau von Anbindungskomponenten	10
3.1.23	Arbeitspaket 29: Erprobung der Prozessfolge zur Integration	10
3.1.24	Arbeitspaket 30: Etablierung der Prozessfolgen	10
3.1.25	Arbeitspaket 31: Aufbau von Testmustern mit integrierten Mikrofluidikfunktionen	10
3.1.26	Arbeitspakete 32-35:	10
3.1.27	Arbeitspaket 36 Dokumentation Designregeln und Prozessfolgen:.....	10

3.2	Details der technologischen Arbeit.....	10
3.2.1	Abscheiden von Goldschichten auf Glassubstraten	10
3.2.2	Strukturierung von Goldschichten auf Glassubstraten	12
3.2.3	Mikrostrukturierung von Goldschichten auf Glassubstraten	14
3.3	Mikrostrukturierte Maske	16
3.4	Herstellung des mikrofluidischen Systems.....	20
3.4.1	Direkte Strukturierung des mikrofluidischen Kanals	21
3.4.2	Abformung des mikrofluidischen Kanals	21
3.4.3	Definition des Mikrofluidischen Kanals.....	24
3.5	Positionen des zahlenmäßigen Nachweises	25
3.6	Notwendigkeit der geleisteten Arbeit.....	25
3.7	Voraussichtlicher Nutzen, Verwertbarkeit im Sinne des Verwertungsplanes	25
3.8	Fortschritt auf dem Gebiet bei anderen Stellen	25
3.9	Veröffentlichungen	25
4	Erfolgskontrollbericht.....	26
4.2	Beitrag zu den förderpolitischen Zielen	26
4.3	Ergebnis des Vorhabens.....	26
4.4	Fortschreibung des Verwertungsplanes.....	26
4.5	Arbeiten die zu keiner Lösung führten.....	26
4.6	Präsentationsmöglichkeiten	26
4.7	Einhaltung von Kosten und Zeitplanung.....	26
5	Referenzen.....	27

1 Übersichtsangaben

Projektleitung	Dr. Lütke Notarp
Zuwendungsempfänger	NB Technologies GmbH
Förderkennzeichen	615 40003 0312034D
Thema	Gerichteter Transport nanoskopischer Ladungen über molekulare Fließbänder
Bewilligungszeitraum	01.07.2007 bis 30.06.2010

2 Kurzdarstellung

2.1 Aufgabenstellung

2.1.1 Thema und Gesamtziel

Die Manipulation, Organisation und Analytik von biologischen Nanopartikeln und Makromolekülen in kleinsten Mengen und Dimensionen kommt in verschiedenen Bereichen der Nanotechnologie und Nanomedizin wachsende Bedeutung zu. Insbesondere für die Einzelzell-Analytik und Diagnostik werden daher automotiv nanoskopische Strukturen benötigt, um Aufschluss, Separation und Analytik von Zellen unter physiologischen Bedingungen durchzuführen. Ziel des Projekts war es, durch nanostrukturierte Immobilisierung molekulare Fließbänder für einen gerichteten Transport auf Oberflächen zu generieren. Dazu sollten verschiedene Techniken zur kontrollierten und gerichteten Polymerisation von Mikrotubuli an Oberflächen in vordefinierbare Strukturen entwickelt werden. Ausgehend von kurzen, asymmetrisch funktionalisierten Mikrotubuli-Keimen sollten durch spatio-temporale Kontrolle der Polymerisationspartner Mikrotubuli auf Bahnen von immobilisierten Tubulin-Antikörpern polymerisiert werden. In dieser Machbarkeitsstudie sollte zunächst verschiedene optische und AFM-basierte Verfahren zur spatio-temporalen Kontrolle der Mikrotubuli-Polymerisation entwickelt werden. Durch Integration dieser nanostrukturierten Transportsysteme in mikrofluidische Strukturen sollten biologische Substanzen gezielt eingebracht und prozessiert werden können.

2.1.2 Aufgaben und Ziele des Teilvorhabens

Zur nanostrukturierten Immobilisierung mit optischen Methoden wurden entsprechende nanostrukturierte Substrate benötigt, die orthogonal funktionalisiert werden können. Dazu musste Gold mit einer Dicke von 15-20 nm auf Glassubstraten in strukturierten Bahnen aufgebracht werden. Hierfür kamen einerseits bereits erprobte Verfahren aus Kombination von Elektronstrahlolithographie und Lift-off zum Einsatz, es wurden aber auch Ätzverfahren untersucht. Hauptaufgabe war, die Herstellungsmethoden von Goldbahnen für variable und komplexere Designs zu etablieren und reproduzierbar zur Verfügung stellen zu können.

Sowohl für die Herstellung der Mikrotubuli-Strukturen als auch für deren anschließende Beladung sollten unabhängige Möglichkeiten zur Probenhandhabung geschaffen werden. Dazu wurden mikrofluidische Strukturen entwickelt. Deren Aufgabe ist, Flüssigkeiten auf dem Glaträger gezielt zu handhaben, um die Durchführung der Untersuchungen zu ermöglichen. Dies hätte im einfachen Fall

mittels Mikrospitzen oder Dispensern erfolgen können. Desweiteren können Funktionen zur Manipulation von Flüssigkeiten auf dem Glasträger integriert werden. Ferner wird ein Konzept zum standardisierten Handling der Glasträger und die Schnittstelle zur Außenwelt realisiert.

2.2 Voraussetzungen

Das Projekt wurde als Verbundprojekt mit folgenden Partnern durchgeführt:

Gruppe	Kompetenzen und Aufgaben im Projekt
AG Piehler (Pi)	Gesamtkonzept und Projekt-Koordination Orthogonale Immobilisierungstechniken für gerichtete Immobilisierung, Fluoreszenzmikroskopie/Einzelmolekül- und SPR Imaging
AG Tampé (Ta)	Funktionalisierung von Goldoberflächen Nanostrukturierte, funktionale Protein-Immobilisierung
AG Surrey (Su)	Molekularbiologie/Proteinbiochemie der Motorproteine und Antikörper Markierte und asymmetrisch geschützt Mikrotubuli Lokomotionsstudien, Optimierung von Motoren für optische Schaltbarkeit
AG Spatz (Sp)	Mikro- und Nanostrukturierte Substrate
AG del Campo(Ca)	Funktionalisierung von Glas-Typ Oberflächen Optisch schaltbare Funktionalisierung von Oberflächen
NB Technologies (NBT)	Herstellung nanostrukturierter Substrate, Kombination mit Mikrofluidik

Tabelle 1 Projekt Konsortium

2.3 Planung und Ablauf

Vor Projektbeginn wurde ein Arbeitsplan (Tabelle 2 und Tabelle 3) erstellt. Grundsätzlich wurde während des Projektverlaufes anhand dieses Arbeitsplanes agiert. Jedoch änderte sich im Laufe des Projektes die Anforderungen der Projektpartner hinsichtlich der Notwendigkeit von nanostrukturierten Substrate. Sowie hinsichtlich des zeitlichen Ablaufes. Durch eine kostenneutrale Verlängerung des Projektes konnten jedoch alle Teilziele des Projektes erreicht werden.

2.4 Zusammenarbeit mit den Projektpartnern

Die Absprachen zwischen den Projektpartnern erfolgten auf zwei Projekttreffen und zusätzlich bilateral zwischen NBT und der AG Piehler sowie der AG Tampé.

3 Eingehende Darstellung

3.1 Gegenüberstellung der Ziele und Ergebnisse

Ziel	Monat	Nr.	Arbeitspaket	Status
Herstellung von nanostrukturierten Substraten	1	1.	Festlegung Spezifikationen und Strukturierungsdesigns	abgeschl.
		2.	Layouterstellung und Anlagen- und Materialvorbereitung	abgeschl.
		3.	Planung Chargen bis einschließlich Herstellung erster Testmuster	abgeschl.
	2	4.	Erprobung der Prozessfolge zur Strukturierung von dünnen Goldschichten auf Glassubstraten mittels etabliertem Verfahren (Elektronenstrahlschreiben und Lift-Off) in Versuchen zu Einzelprozessen	abgeschl.
	3	5.	Ermittlung des Prozessfensters (Schichtdicken, Strukturbreiten) in verschiedenen Testchargen	abgeschl.
	4	6.	Realisierung von Testmustern mit vereinfachtem Design	abgeschl.
	5	7.	Erstellung eines Redesigns mit komplexeren Strukturen	MikroStruktur abgeschl.
		8.	Planung Chargen bis einschließlich Herstellung weiterer Testmuster	MikroStruktur abgeschl.
		9.	Verfeinerung und Etablierung der Prozessfolge mit Testchargen	MikroStruktur abgeschl.
	6	10.	Realisierung von Testmustern mit komplexeren Strukturen	MikroStruktur abgeschl.
		11.	Planung alternativer Strukturierungsmethode mittels Elektronenstrahlschreiben und Nassätzen oder Trockenätzens (Recherche zu Ressourcen, Verfahren und Materialien)	abgeschl.
	7	12.	Vorbereitung von Hilfsmitteln (Anpassung von Strukturierungslayouts an veränderte Technologie)	nicht notwendig
		13.	Planung Chargen bis einschließlich Herstellung weiterer Testmuster	abgeschl.
	8	14.	Erprobung der Prozessfolge zur Strukturierung von dünnen Goldschichten auf Glassubstraten mittels Alternativverfahren in Versuchen zu Einzelprozessen	abgeschl.
	9	15.	Ermittlung des Prozessfensters in verschiedenen Testchargen	abgeschl.
	10	16.	Realisierung von Testmustern mit vereinfachtem Design	abgeschl.
		17.	Anpassung eines Redesigns mit komplexeren Strukturen	MikroStruktur abgeschl.
	11	18.	Verfeinerung und Etablierung der Prozessfolge mit Testchargen	MikroStruktur abgeschl.
		19.	Realisierung von Testmustern mit komplexeren Strukturen mittels Alternativverfahren	MikroStruktur abgeschl.
	12	20.	Evaluierung weiterer Strukturierungsmöglichkeiten aus Halbleitertechnik und Auffinden von möglichen Serviceprovidern für spätere Umsetzung der Technologie	abgeschl.

Tabelle 2 Arbeitsplan "Herstellung von nanostrukturierten Substraten"

Ziel	Monat	Nr.	Arbeitspaket	Status
Integration in mikrofluidische Strukturen	1	1.	Definition von Konzepten und der Mikrofluidikfunktionen (Flüssigkeitseinbringung mittels Mikrospitzen oder Dispenser, Mikrostrukturierungen zur Flüssigkeitssteuerung oder Leitung von Reaktionspartnern)	abgeschl.
		2.	Festlegung von Anforderungen und Spezifikationen der Komponenten	abgeschl.
		3.	Versuchsplanerstellung	abgeschl.
	2	4.	Planung Prozessfolge für Integration von Funktionen in Glasträger und Anbindung an Außenwelt (Handling, Charakterisierung, Verpackung)	abgeschl.
		3	5.	Designanpassungen und Layouterstellung für Glasträger
	6.		Maskenfertigung und Chargenplanung	nicht notwendig
	4	7.	Beschaffung von Komponenten und Vorbereitungen für vereinfachte Aufbauten	abgeschl.
		8.	Aufbau von Anbindungskomponenten	abgeschl.
		9.	Erprobung der Prozessfolge zur Integration von verschiedenen Mikrofluidikfunktionen in Versuchen zu Einzelprozessen	abgeschl.
	5	10.	Etablierung der Prozessfolgen	abgeschl.
	6 + 7	11.	Herstellung und Aufbau von Testmustern mit integrierten Mikrofluidikfunktionen	abgeschl.
	8 + 9	12.	Erweiterung der Konzepte/Planung zur Herstellung weiterer Muster	nicht notwendig
		13.	Erprobung erweiterte Prozessfolge zur Integration Mikrofluidikfunktionen in Versuchen zu Einzelprozessen	nicht notwendig
		14.	Etablierung der Prozessfolgen	nicht notwendig
	10 + 11	15.	Herstellung und Aufbau von weiteren Testmustern mit integrierten Mikrofluidikfunktionen	nicht notwendig
	12	16.	Dokumentation Designregeln und Prozessfolgen	abgeschl.

Tabelle 3 Arbeitsplan "Herstellung von mikrofluidischen Strukturen"

3.1.1 Arbeitspaket 1: Spezifikationen und Strukturierungsdesigns

Die Anforderungen für die Substratherstellung zu Material, Schichtdicken und Geometrie und Abmessungen (Arbeitspaket 1) wurden auf dem Kick-Off Meeting 13.09.2007 festgelegt. Es wurde eine Strukturbreite von minimal 50nm bis 100nm mit einem Abstand der Goldbahnen von 5µm festgelegt. Für die Strukturdesigns kamen einfache Linien zur Anwendung, ausreichend zum Nachweis der Machbarkeit.

3.1.2 Arbeitspaket 2: Anlagen- und Materialvorbereitung

Die benötigten Materialien wurden identifiziert und beschafft. Es standen genügend 25mm Glassubstrate zur Verfügung. Ein spezieller Halter für die Prozessierung von gesputterten Metallschichten wurde adaptiert und steht zur Verfügung. Das Layout für die Proben wurde erstellt.

3.1.3 Arbeitspaket 3: Planung Chargen

Die Planung der Chargen für die Vorversuche und anschließenden Testmuster erfolgte nach Abstimmung mit den Partnern.

3.1.4 Arbeitspaket 4: Erprobung der Prozessfolge zur Strukturierung von dünnen Goldschichten

Zunächst wurden unstrukturierte, mit Gold beschichtete Substrate verschiedener Dicke hergestellt. Diese dienten den Partnern zur Überprüfung der generellen Anwendbarkeit der Schichten, bevor eine Strukturierung überhaupt in Betracht kam. Danach wurde die Prozessfolge mit nasschemischen Ätzen erfolgreich erprobt. Der Schwerpunkt war hier zunächst auf die Nanolithographie zu legen, die von externen Lieferanten geliefert und intern evaluiert wurde.

3.1.5 Arbeitspaket 5: Ermittlung Prozessfenster

Die Prozessfenster für Schichtabscheidung, Nanolithographie und nasschemischer Strukturierung wurden in Vorversuchen ermittelt.

3.1.6 Arbeitspaket 6: Realisierung von Testmustern

In Charge KF-20071010-A wurden unter anderem Testmuster mittels nasschemischen Ätzens realisiert.

3.1.7 Arbeitspakete 7, 8, 10, 17, 18, 19: Komplexeren Strukturen

Die in Arbeitspakete 7, 8, 10, 17, 18, 19 geplanten komplexeren Strukturen wurden von den Projektpartnern für den Nachweis der Machbarkeit nicht benötigt. An die Stelle dieser komplexeren Strukturen sind mikrostrukturierte Strukturen getreten die der Arbeitsgruppe Tampé regelmäßig zur Verfügung gestellt wurden.

3.1.8 Arbeitspaket 9: Verfeinerung und Etablierung der Prozessfolge mit Testchargen

Die Verfeinerung der Prozessfolge abgeschlossen worden. Es steht ein stabiler Sputterprozess für 3nm Cr und 10nm Au Schichten zur Verfügung. Zur Strukturierung wurde eine Ätz-Variante für mikrostrukturierte Au-Schichten optimiert (Tabelle 6). Für nanostrukturierte Au-Schichten wurden Muster gefertigt, wobei die Nanolithographie von einem externen Lieferanten stammte.

3.1.9 Arbeitspaket 11: Planung alternativer Strukturierungsmethode

Neben Methode des Ätzens wurden auch die Möglichkeiten des Lift-Off, sowohl für die Mikro- als auch für die Nanostrukturierung geplant.

3.1.10 Arbeitspaket 12: Vorbereitung von Hilfsmitteln

Es wurden keine weiteren Hilfsmittel benötigt.

3.1.11 Arbeitspakete 13 und 16: Planung Chargen bis einschließlich Herstellung weiterer Testmuster

Es wurden der Arbeitsgruppe Tampé weitere mikrostrukturierte Testmuster aus den Chargen KF-20080929-A und KF-20090319-A zur Verfügung gestellt.

3.1.12 Arbeitspaket 14: Erprobung der Prozessfolge zur Strukturierung von dünnen Goldschichten

Sowohl mittels Lift-Off Methode als auch durch Ätzen, wurde die Mikro- als und die Nanostrukturierung erprobt.

3.1.13 Arbeitspaket 15: Ermittlung des Prozessfensters

Das Prozessfenster des Sputterprozesses für die Goldschicht wurde ermittelt. Das Prozessfenster des physikalischen Ätzprozesses für die Goldschicht wurde ebenfalls ermittelt.

3.1.14 Arbeitspaket 20: Evaluierung weiterer Strukturierungsmöglichkeiten

Als weitere Strukturierungsmöglichkeiten wurden, neben den in den vorhergehenden Arbeitspaketen erprobten Verfahren, der Einsatz der Nanoimprint-Technologie^[4] für große Stückzahlen und auch noch der Einsatz des EBID (Electron Beam induced Deposition) Verfahrens für kleinere Stückzahlen evaluiert. Beim diesem EBID Verfahren werden die Goldstrukturen direkt durch Zufuhr eines Pre Cursor Gases in den Elektronenstrahl direkt geschrieben. Dadurch könnte der Strukturierungsschritt nach der Elektronenstrahlolithographie eingespart werden^[3]. Die Eignung der Goldschichten (mit einer Reinheit von unter 70%) aus diesem Verfahren für die biologische Anwendung müssen aber noch verifiziert werden.

3.1.15 Arbeitspaket 21: Definition von Konzepten der Mikrofluidikfunktionen

Es sollen zwei unterschiedliche Konzepte zur Fertigung eines mikrofluidischen Kanals verfolgt werden. Die Abformung der Kanalstruktur in PDMS (Polydimethylsiloxan) mittels einer Art Stempel, oder die direkte Strukturierung aus SU8 oder einem ähnlichen Photoresist mittels UV Lithographie

3.1.16 Arbeitspaket 22: Festlegung von Anforderungen und Spezifikationen der Komponenten

Mit den Projektpartnern wurden verschiedene Kanalgeometrien besprochen. Notwendig ist ein Hauptkanal und orthogonal zu diesem ein kleinerer Kreuzungskanal. Die Kanalhöhe soll zwischen 50µm und 100µm liegen. Der Hauptkanal soll zwischen 1000µm und 3000µm breit sein. Der Kreuzungskanal soll schmaler als 1000µm sein.

3.1.17 Arbeitspaket 23: Versuchsplanerstellung

Zur Evaluation des prozesstechnisch günstigsten Ansatzes wurden zunächst Vorversuche zur Dichtigkeit mit den Verfahren der direkten Strukturierung des mikrofluidischen Kanals durchgeführt. In Abhängigkeit von deren Resultat wurde dann die weitere Erprobung des Abformverfahrens geplant.

3.1.18 Arbeitspaket 24: Planung „Anbindung an Außenwelt“

Zur Anbindung des Mikrofluidikkanals an die Außenwelt wurden mit der Arbeitgruppe Piehler Edelstahlröhrchen mit einem Außendurchmesser von 1,2mm vereinbart. Es wurden CAD Zeichnungen der Integrationselemente von Substrat und mikrofluidischem Kanal, sowie für die äußere Form für den Abformansatz erstellt.

3.1.19 Arbeitspaket 25: Designanpassungen und Layouterstellung für Glasträger

Das Design des mikrofluidischen Kanals wurde so gewählt, dass die Glassubstrate nicht angepasst werden mußten.

3.1.20 Arbeitspaket 26: Maskenfertigung und Chargenplanung

Es musste keine zusätzliche Maske erstellt werden da das Design des mikrofluidischen Kanals so gewählt wurde, dass die vorhandenen Glassubstrate genutzt werden konnten.

3.1.21 Arbeitspaket 27: Beschaffung von Komponenten und Vorbereitungen für vereinfachte Aufbauten

PMMA in 100mm Waferformat für erste Versuche liegt vor. Als Fittinge wurden mit den Projektpartnern 1,2mm Edelstahlröhrchen abgesprochen. Für die Vorversuche zur direkten Kanalstrukturierung standen SU8 und herkömmlicher Trockenresist zur Verfügung.

3.1.22 Arbeitspaket 28: Aufbau von Anbindungskomponenten

Nach den CAD Zeichnungen der Integrationselemente von Substrat und mikrofluidischem Kanal, sowie für die äußere Form für den Abformansatz wurden die entsprechenden Teile gefertigt.

3.1.23 Arbeitspaket 29: Erprobung der Prozessfolge zur Integration

Nach den Vorversuchen schloss sich der Ansatz der direkten Kanalstrukturierung aus. Vorversuche zum Abformansatz waren erfolversprechend.

3.1.24 Arbeitspaket 30: Etablierung der Prozessfolgen

Es wurde ein kompletter Prozess zur Herstellung von mikrofluidischen Kanälen etabliert.

3.1.25 Arbeitspaket 31: Aufbau von Testmustern mit integrierten Mikrofluidikfunktionen

Ein Testmuster mit Substrat und mikrofluidischem Kanal wurde aufgebaut.

3.1.26 Arbeitspakete 32-35:

Diese Arbeitspakete waren nicht notwendig, da keine weiteren Muster von den Projektpartnern benötigt wurden.

3.1.27 Arbeitspaket 36 Dokumentation Designregeln und Prozessfolgen:

Die Dokumentation der Prozessfolge zur Herstellung des Mikrofluidischen Kanals wurde abgeschlossen.

3.2 Details der technologischen Arbeit

3.2.1 Abscheiden von Goldschichten auf Glassubstraten

Um die Kompatibilität der für die biologischen Versuche notwendigen Chemie zu den angestrebten Goldschichten zu überprüfen und die Qualität des Kontrastes bei der TIRF-Mikroskopie (Total internal reflection fluorescence microscopy) zu optimieren, wurden unterschiedliche Goldschichtdicken auf unterschiedlichen Chrom Haftschichtdicken gesputtert (Tabelle 4).

Substrat	Sputtern						Schicht- widerstand	Schichtdicke	Remark	Tapetest
	Cr			Au						
	[nm]	[W]	[s]	[nm]	[W]	[s]				
4 x 190µm	100	50	334	0	0	0	8,17	212 191	Schichtdickenmessung	
4 x 190µm	15	50	50	200	50	273	0,26	88 92	Schichtdickenmessung	
4 x 190µm	5	50	17	50	50	68	0,993			
4 x 190µm	3	50	10	50	50	68	1,036			
4 x 190µm	3	50	10	20	50	27	3,59			positiv
4 x 190µm	0	0	0	20	50	27	3,35		Haftfestigkeitsbestimmung	negativ
4 x 190µm	3	50	10	10	50	14	11,94			

Tabelle 4 Variationen Goldschicht sputtern (18.09.2007)

Als Ergebnis dieses Versuches kann man festhalten, dass die Haftfestigkeit der Goldschicht auf den Glassubstraten nur mit einer Haftschrift gewährleistet werden kann. Eine Chromschicht von 3 nm Dicke ist ausreichend um einem Tapetest (abziehen mit Klebeband) zu widerstehen.

Die Oberflächenrauigkeit (RMS-Roughness) wurde mittels AFM (Atomic force microscope) bestimmt (Abbildung 1). Die Oberflächenrauigkeit von 1,8 nm (RMS) ist für weitere Versuche gut geeignet.

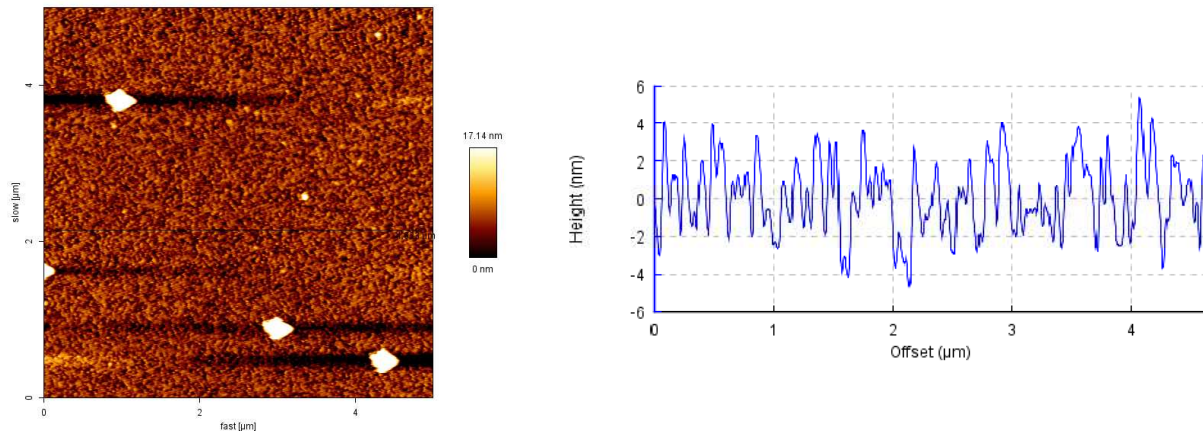


Abbildung 1 AFM Höhendarstellung und Querschnittsdiagramm (3Cr/20AU) ^[1]

Um den Kontrast im TIRF-Mikroskop zu untersuchen wurde die Goldoberfläche mit dem MBP (maltose binding protein) Alexa 488 modifiziert. Ein Quadrat von 5 µm x 5 µm wurde mittels AFM-Spitze von dem Protein befreit. Das Ergebnis ist ein klares kontrastreiches Bild (Abbildung 2) mit einem guten Signal-Rausch Abstand. Dabei zeigt sich das dünnere Goldschichten einen besseren Bildkontrast ermöglichen. Deshalb sind 10 nm Schichten anzustreben.

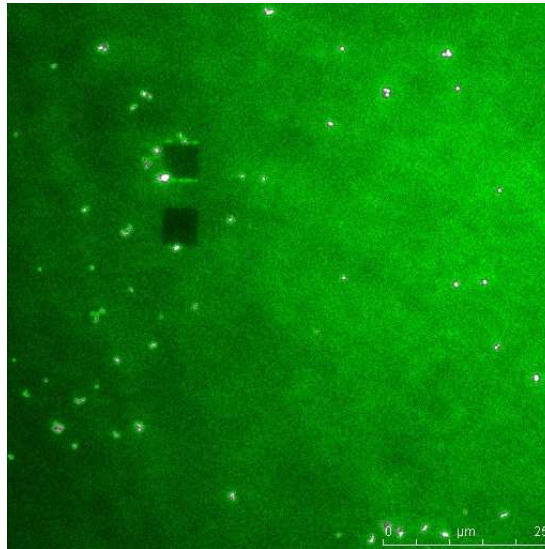


Abbildung 2 TIRF-Image 3Cr/10Au with MBP Alexa488

3.2.2 Strukturierung von Goldschichten auf Glassubstraten

Zur Strukturierung der Goldschichten auf den Glassubstraten kommen prinzipiell zwei Verfahren in Frage (Tabelle 5).

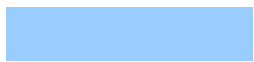
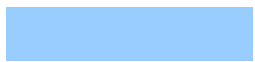


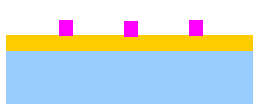



Ätzen		Lift-Off	
Substrat Glas 190µ		Substrat Glas 190µ	
Cr / Au Schicht		Lithographie	
Lithographie		Cr / Au Schicht	
Ätzen		Ablösen	

Tabelle 5 Strukturierungsverfahren

Beim Ätzen der Goldschicht nasschemisch oder durch physikalisches Ätzen wird erst eine vollflächige Schicht aufgebracht und dann eine strukturierte Ätzmaske aus Elektronenstrahlresist. Danach wird dann geätzt und der Resist wieder entfernt. Beim Lift-Off Verfahren wird erst der Elektronenstrahlresist aufgebracht und strukturiert

(Abbildung 3) und dann die Metallschicht aufgebracht, die in der Folge durch das Entfernen des Resists strukturiert wird.

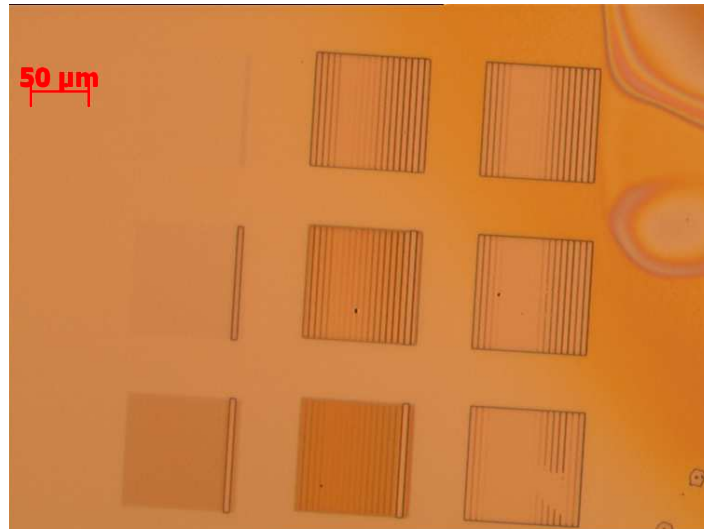


Abbildung 3 Elektronenstrahlolithographie mit unterschiedlichen Belichtungszeiten ^[2]

Zunächst wurden zwei nasschemische Ätzlösungen untersucht, Goldätzlösung auf Jodbasis der Firma Sigma Aldrich und Au-Etch-Plus als cyanidische Goldätze der Firma Candor Chemie. Es wurde festgestellt, dass Jodätzlösung eine sehr starke Unterätzung zeigt, und dass die Ätzflanken extrem unregelmäßig sind. Jodätzlösung kommt also bei weiteren Versuchen nicht mehr zur Anwendung (Abbildung 4). Etwas bessere Ergebnisse, die jedoch auch noch nicht optimal sind, wurden mit Au-Etch-Plus erzielt (Abbildung 5). Bei den später folgenden Versuchen zu mikrostrukturierten Substraten wurde ein physikalisches Ätzverfahren (Argonplasma) zur Goldstrukturierung angewendet.

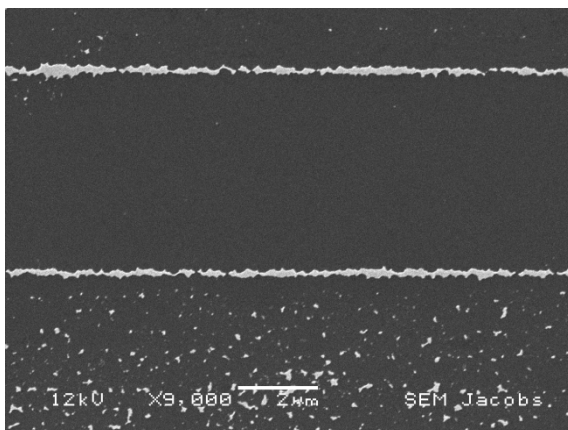


Abbildung 4
REM nach Jodätzung ^[2]

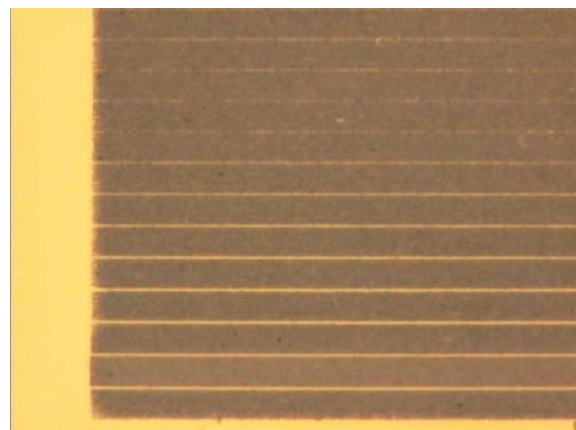


Abbildung 5
Lichtmikroskop nach cyanidischer Ätzung

Die Lift-Off Versuche zur Nanostrukturierung wurde in Zusammenarbeit mit einem externen Partner durchgeführt. Mittels Elektronenstrahlsschreiber wurde eine Nanolithographie in der gewünschten Auflösung erzeugt. Und dann zwei unterschiedliche Strukturen aus dem Schichtpaket (3nm Titanhaftschrift + 10nm Gold) mittels Lift-Off auf den Substraten erzeugt. Beim Auflösungslayout (Abbildung

6) wurden je 4 Linien mit 1500nm, 1000nm, 700nm, 500nm, 200nm, 100nm und 50nm gezeichnet. Beim zweiten Nanostrukturlayout lag die Verwendbarkeit für die Arbeitsgruppe Tampé im Fokus, dort ist die schmalste Struktur 200nm breit.

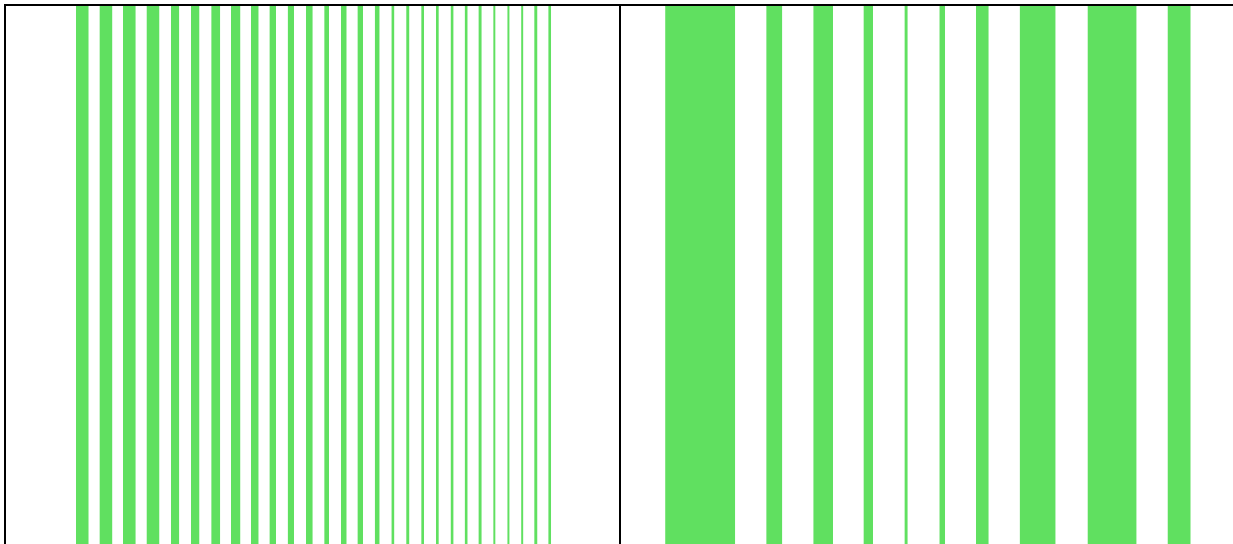


Abbildung 6 Nanostrukturlayout (Auflösung)

Abbildung 7 Nanostrukturlayout (AG Tampé)

Die Untersuchungen am AFM zeigen, dass auch die 50nm Strukturen durch den Prozess der Universität Würzburg aufgelöst worden sind (Abbildung 8).

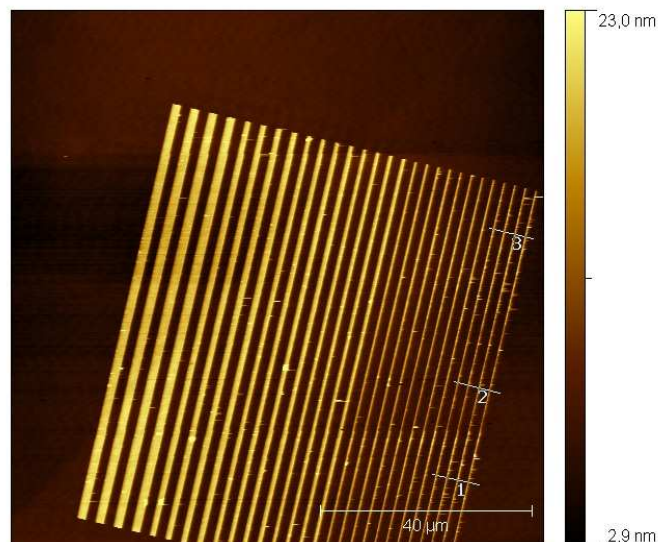


Abbildung 8 AFM-Untersuchung Gold nanostrukturiert

3.2.3 Mikrostrukturierung von Goldschichten auf Glassubstraten

Für die meisten Versuche auf strukturierten Substraten ist eine Nanostrukturierung nicht notwendig, da Strukturen im Mikrometerbereich besser im Mikroskop zu beobachten sind. Deshalb wurden der Arbeitsgruppe Tampé Substrate mit mikrostrukturierten Goldschichten zur Verfügung gestellt. Zunächst wurden dafür ebenfalls Versuche mit dem Lift-Off Verfahren gemacht. Durch die starke Kantenbedeckung des positiv Resists durch die gesputterten Metallschichten entstanden nach dem Ablösen sogenannte Wingings. Um diese zu vermeiden wurde

mit dem Prozessablauf (Tabelle 6) das Ätzverfahren angewendet. Als Masken wurde eine vorhandene Testmaske mit unterschiedlichen Strukturen, sowie die, eigentlich für die photolytische Strukturierung produzierten, Masken genutzt.

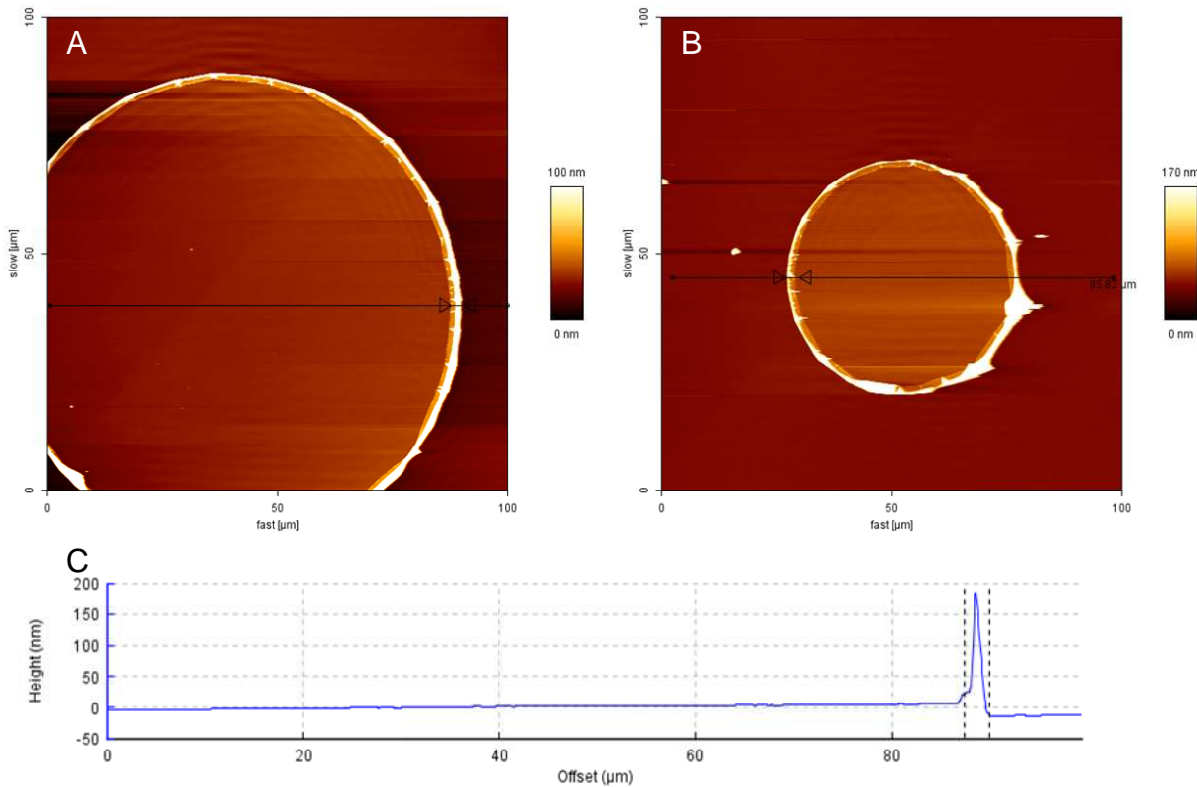


Abbildung 9 AFM-Untersuchung eines 10nm Au-Dot (Lift-Off) ^[3]

Step	Verfahren	Parameter	Zeit
1	Substrate	3nm Cr / 10nm Au	
2	Photoresist aufschleudern	AZ1518	4500U/min
3	Prebake	100°C	60s
4	Belichtung	Hard Contact	2,2s
5	Entwicklung	AZ 400K 1:4 DI	Rec. B
6	O ₂ -Plasma	40W	30s
7	Au-Etch Argon-Plasma	20W	180s
8	Chrometch Plus (Candor)		20s
9	Photoresiststrip NMP-AE		40min

Tabelle 6 Prozessablauf Au-Mikrostrukturierung mittels Ätzen

Die so hergestellten Proben zeigten im LSM (Laser Scanning Microscope) eine saubere Auflösung der 1µm Linien (Abbildung 10). Störende Wingings wie im Lift-Off Prozess mit dem 2µm dicken Photoresist (Abbildung 9) wurden bei dieser Probe im AFM nicht beobachtet (Abbildung 11)

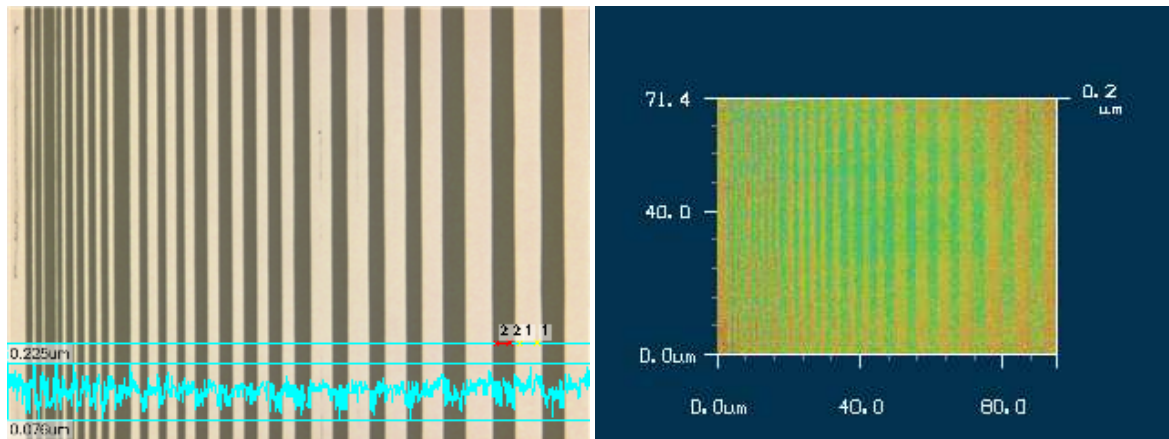


Abbildung 10 LSM Analyse Au-Mikrostrukturierung

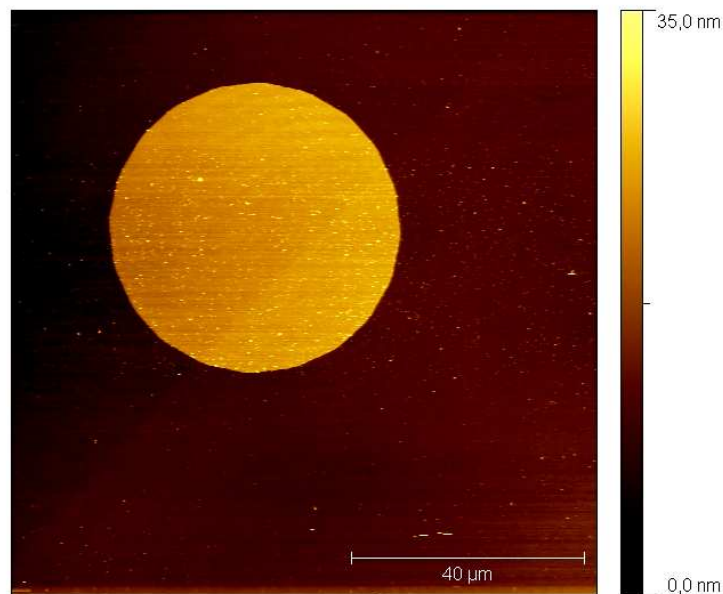


Abbildung 11 AFM-Untersuchung eines 10nm Au-Dot (Ätzen)

3.3 Mikrostrukturierte Maske

Zum Test der Immobilisierung von anti-Tubulin-Antikörpern durch photolytische Freisetzung von multivalenten Chelatoren sollten, über den Projektplan hinausgehend, verschiedene mikrostrukturierte Masken hergestellt werden. In Zusammenarbeit mit dem Institut für Biochemie der Goethe-Universität Frankfurt und dem European Molecular Biology Laboratory [EMBL] in Heidelberg wurden dafür die Designs für verschiedenen Teststrukturen generiert, die auf eine mikrostrukturierte 5 Zoll Maske geschrieben wurden. Diese, in der Mikrosystemtechnik übliche Maske für die UV-Lithographie wurde dann in entsprechende Teilmasken von 10 mm x 15 mm Größe zersägt. Somit standen dann 70 Teilmasken in 6 unterschiedlichen Designvarianten (Abbildung 12- Abbildung 17) mit jeweils 16 Teststrukturen für Versuche zur photolytischen Immobilisierung zur Verfügung (Tabelle 7).

Teilmaske	Strukturbreiten [μm]				Abstände [μm]				Abbildung
Teilmaske Kurven	1	2	5	10	verschiedene Designs				Abbildung 12
Teilmaske Quadrate	2	5	10	20	10	20	50	100	Abbildung 13
Teilmaske Kreise	2	5	10	20	10	20	50	100	Abbildung 14
Teilmaske Ovale	10x5	20x5	30x10	40x10	25	50	75	100	Abbildung 15
Teilmaske Linien	1	2	5	10	25	50	75	100	Abbildung 16
Teilmaske Gitter	1	2	5	10	25	50	75	100	Abbildung 17

Tabelle 7 Designvariationen Mikrostrukturmaske

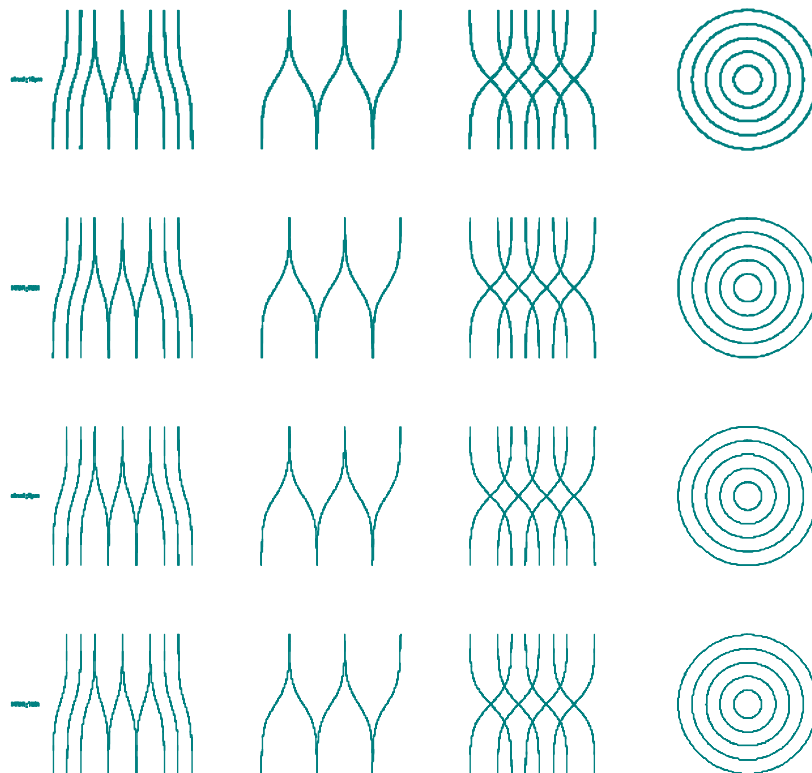


Abbildung 12 Teilmaske Kurven

BMBF-FKZ 0312034 D

Fahrenheitstraße 1
28359 Bremen

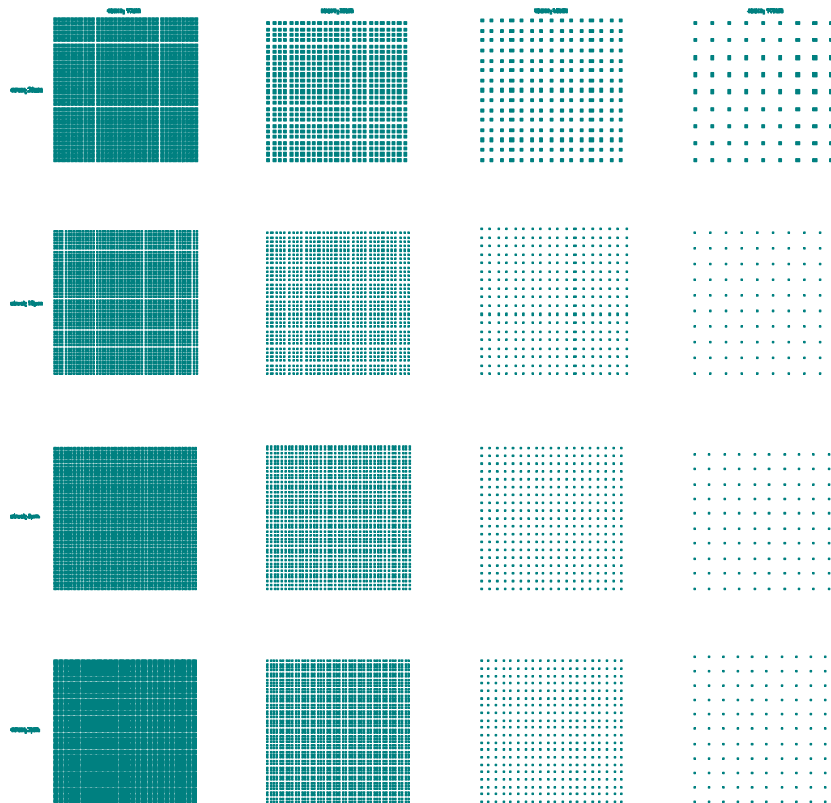


Abbildung 13 Teilmaske Quadrate

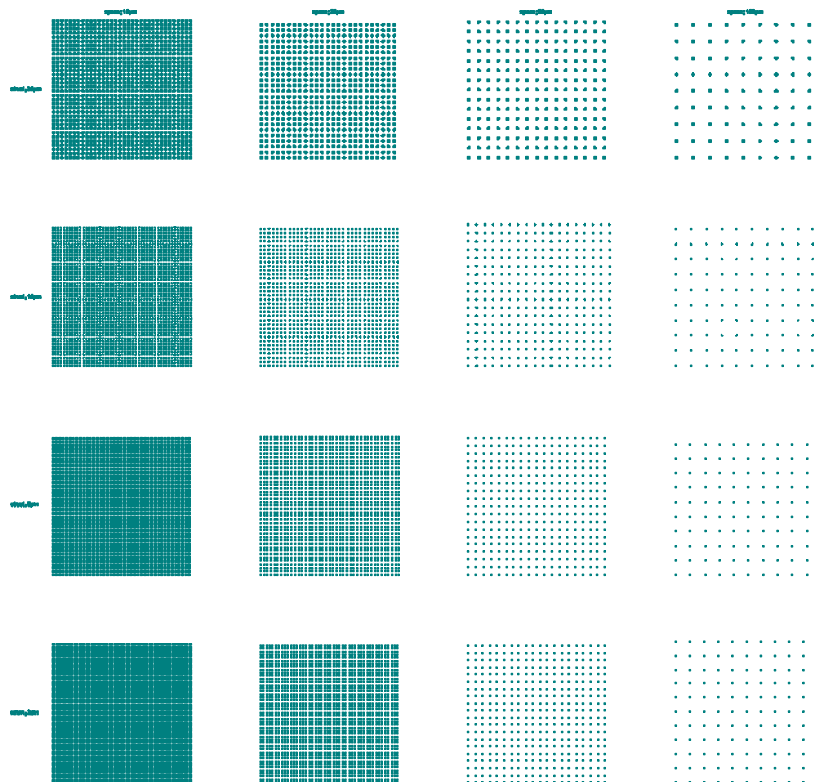


Abbildung 14 Teilmaske Kreise

BMBF-FKZ 0312034 D

Fahrenheitstraße 1
28359 Bremen

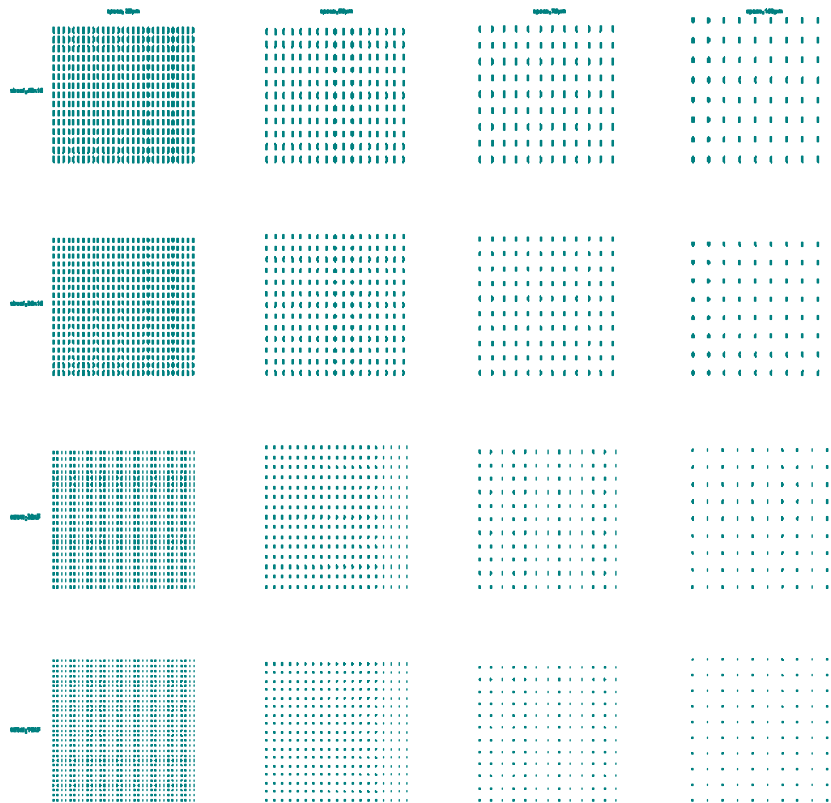


Abbildung 15 Teilmaske Ovale

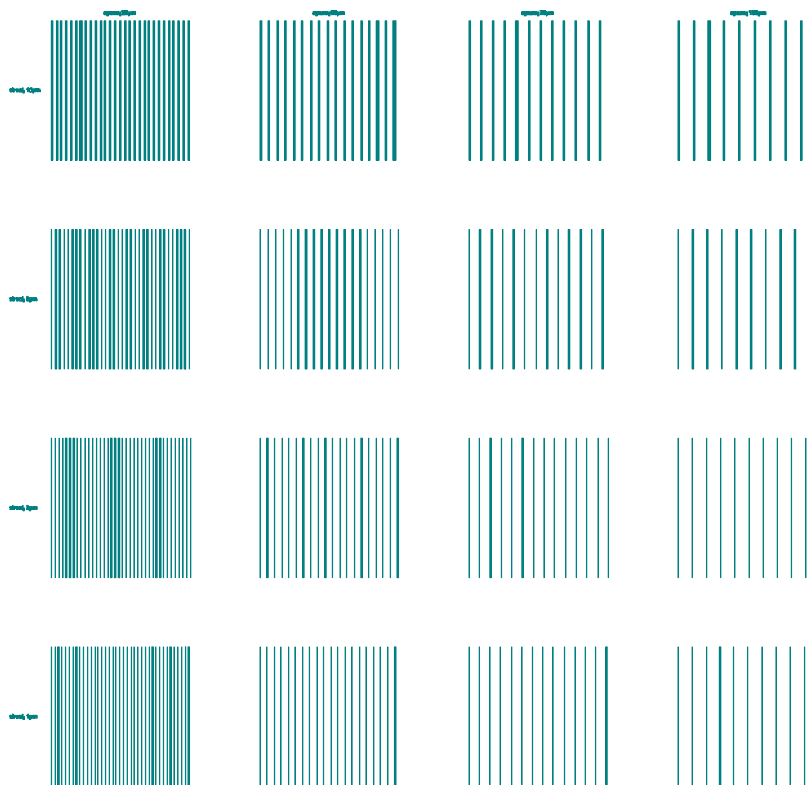


Abbildung 16 Teilmaske Linien

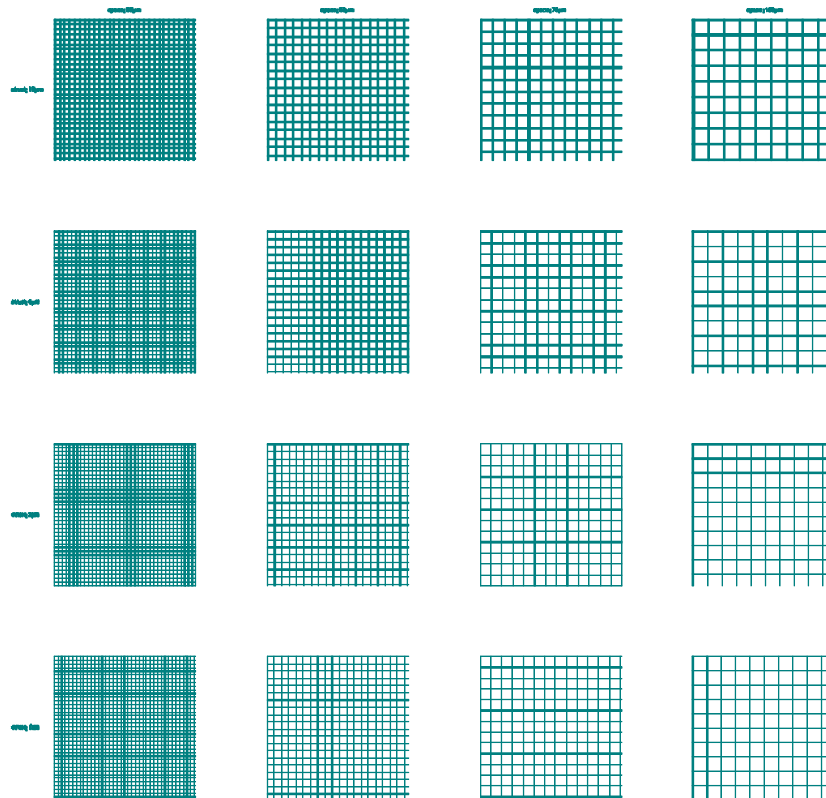
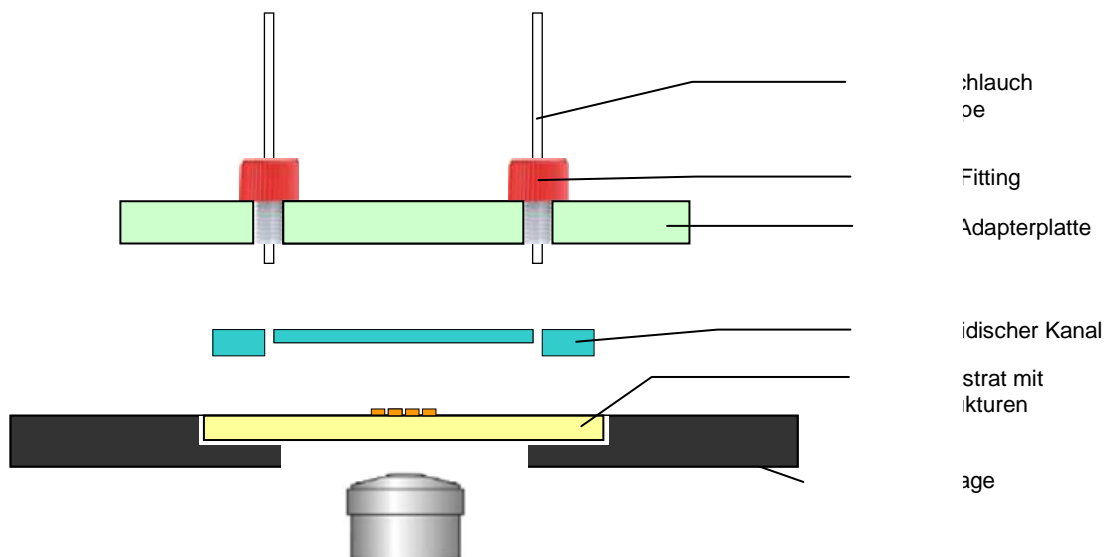


Abbildung 17 Teilmaske Gitter

3.4 Herstellung des mikrofluidischen Systems

Bei dem bevorzugten mikrofluidischen System handelt es sich um einen modularen Aufbau, bei dem das Substrat mit den funktionalisierten Goldstrukturen, der mikrofluidische Kanal aus PDMS und eine Adapterplatte als Verbindung zur externen Infrastruktur, wie zum Beispiel Ventilen und einer Pumpe einzelne Funktionselemente bildet (Abbildung 18).



- Shlauch
- de
- Fitting
- Adapterplatte
- idischer Kanal
- strat mit
kturen
- age

3.4.1 Direkte Strukturierung des mikrofluidischen Kanals

Das Konzept dieser Variante der Herstellung des mikrofluidischen Kanals sah vor einen PMMA Wafer mit den entsprechenden Öffnungen für die Fittings zu versehen und dann mit photolithographisch strukturierbarem Trockenresist zu laminieren, zu belichten und zu entwickeln. Dieser Trockenresist könnte dann auch schon als Kanalwandung dienen (Abbildung 19).

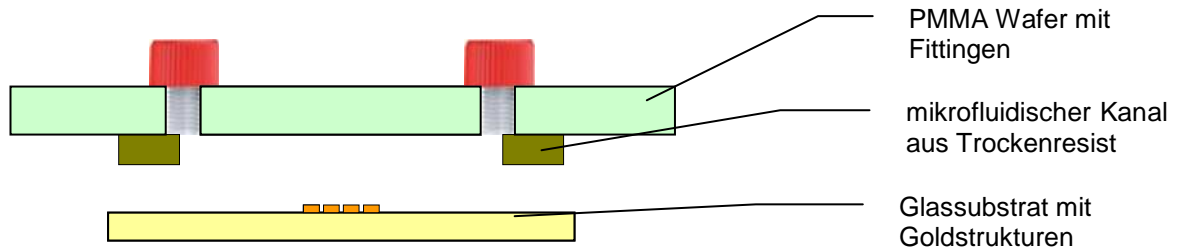


Abbildung 19 direkt strukturierter mikrofluidischer Kanal

Als Vorversuch wurde für diese einfachste Variante der Kanalherstellung ein Dichtigkeitstest durchgeführt. Dieser Dichtigkeitstest ist sowohl für Trockenresist als auch für SU8 negativ ausgefallen. Beide Materialien dichten nicht allein durch den Andruck an das Glassubstrat. Eine Lösung dieses Problems hätte das Aufbringen einer dünnen Dichtschicht aus einem flexiblen Material wie zum Beispiel Silikon sein können. Versuche PDMS durch Stempeltechnik aufzutragen sind aber ebenfalls gescheitert, sodass das Konzept der direkten Strukturierung des Kanals verworfen wurde.

3.4.2 Abformung des mikrofluidischen Kanals

Alternativ zur direkten Strukturierung des mikrofluidischen Kanals könnte dieser auch mittels Abformtechnik hergestellt werden^[2]. Dazu müsste zunächst eine entsprechende Form hergestellt werden (Abbildung 20). Diese Form besteht aus einer gefrästen äußeren Form, dem eigentlichen Master für die Kanalgeometrie, das photolithographisch aus konventionellem Novolack (AZ4562) auf einem Siliziumsubstrat hergestellt wird und einer Deckplatte aus PMMA mit Platzhaltern für die Schläuche die in entsprechenden Fittings gehalten werden und in die auch Öffnungen für das Einspritzen von PDMS (Sylgard 184) integriert sind.

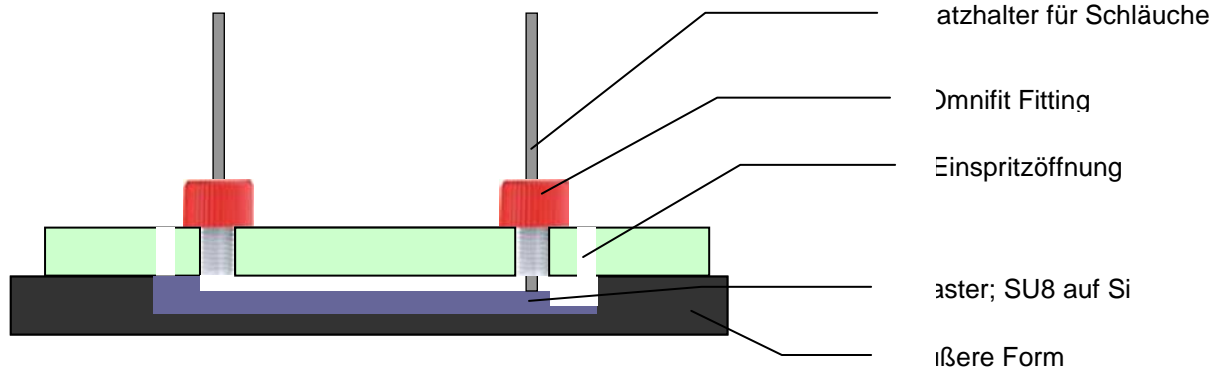


Abbildung 20 Abformeinheit für den mikrofluidischen Kanal

Auch zu dieser Konzeptvariante wurden zunächst Vorversuche durchgeführt. Dazu wurde auf einem Siliziumwafer die Kanalstruktur erhaben aus 60µm Novolack realisiert. Dann wurden diese Strukturen durch Abgießen mit PDMS (Sylgard 184) abgeformt (Abbildung 21). Der folgende Dichtigkeitstest, entsprechend dem bei den direkt strukturierten Kanälen, verlief in diesem Fall positiv.

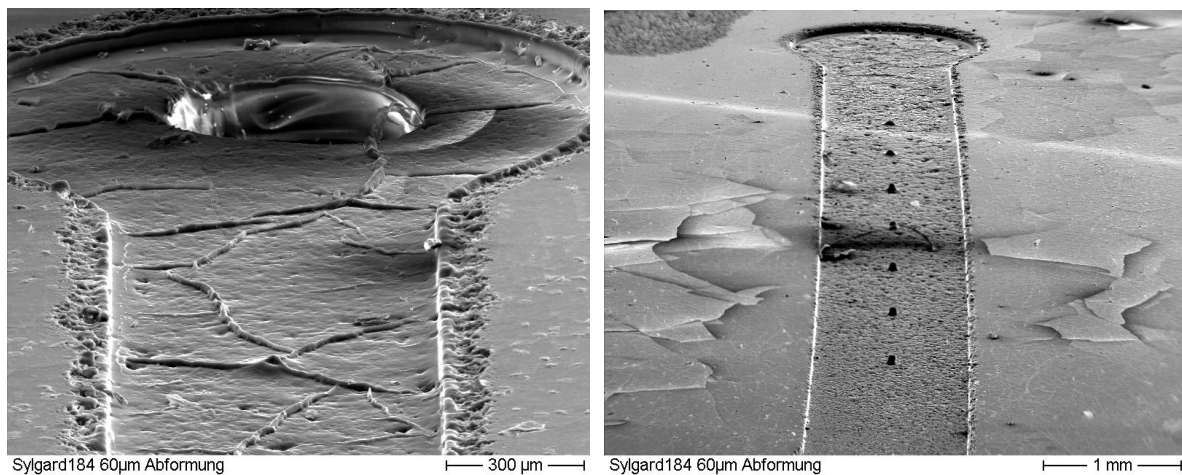


Abbildung 21 REM-Aufnahmen des PDMS-Kanals (Prototyp)

Folglich wurde die äußeren Form die Mikroskopplatte und die Deckplatte nach den entsprechende Zeichnungen (Abbildung 22) gefertigt.

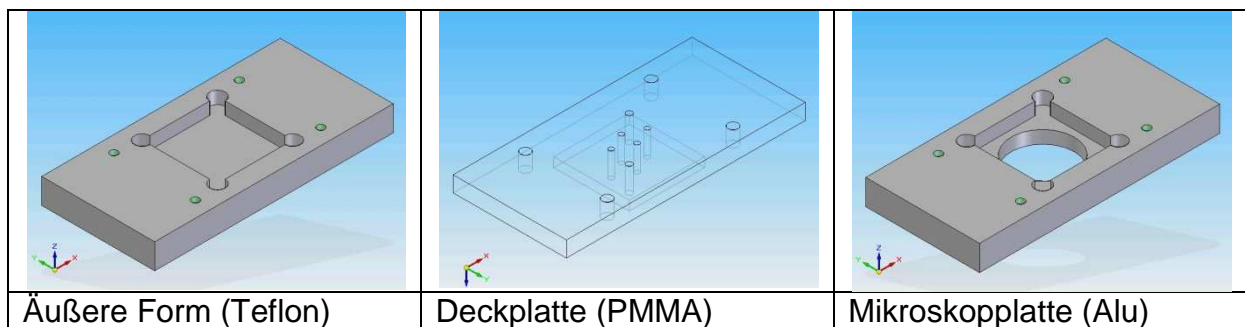
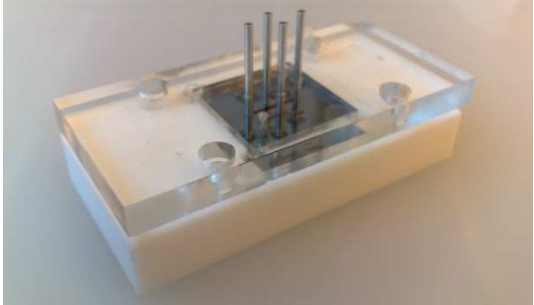
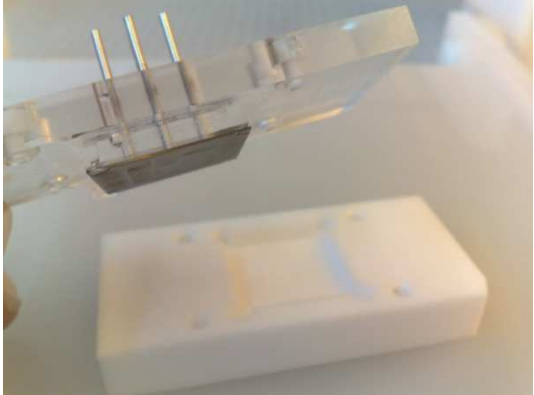
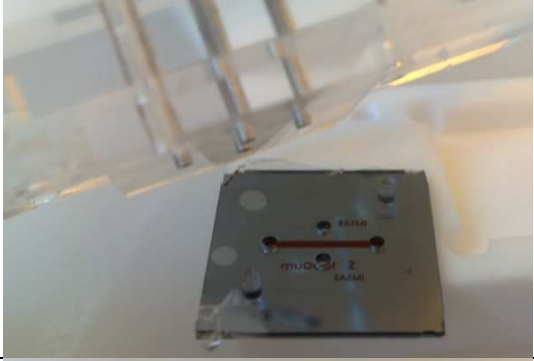




Abbildung 22 mechanische Formteile für die Abformeinheit

Schritt	Beschreibung	Bild
1	Zusammensetzen von äußerer Form (Teflon), Deckplatte mit Zuführungen und dem Master mit 60µm hohen Strukturen aus AZ4562. Auffüllen mit PDMS Sylgard184	
2	Nach dem Aushärten Trennen der äußerer Form (Teflon) von der Deckplatte mit dem PDMS-Kanal und dem Master	
3	Abnehmen des PDMS-Kanals mit dem Master von der Deckplatte	
4	Trennen des PDMS-Kanals vom Master	
5	Integration von der Deckplatte mit den Zuführungen, PDMS-Kanal, Mikroskopplatte (Alu) und Glassubstrat	

3.4.3 Definition des Mikrofluidischen Kanals

Mit den Projektpartnern wurden verschiedene Kanalgeometrien besprochen. Notwendig ist ein Hauptkanal und orthogonal zu diesem ein kleinerer Kreuzungskanal. Die Kanalhöhe soll zwischen $50\mu\text{m}$ und $100\mu\text{m}$ liegen. Der Hauptkanal soll zwischen $1000\mu\text{m}$ und $3000\mu\text{m}$ breit sein. Der Kreuzungskanal soll schmaler als $1000\mu\text{m}$ sein (Abbildung 23). Für erste Tests steht eine Maske ohne Kreuzungskanäle mit Kanalbreiten zwischen $500\mu\text{m}$ und $1000\mu\text{m}$ zur Verfügung. Bei der ersten Abformung des Kanals wurde noch flüssiges Teflon als Trennmittel auf die Form gesprüht. Die Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung dieses Prototyps zeigte unregelmäßige „Wälle“ in der Kanaloberfläche (Abbildung 21). Nach der späteren Etablierung der Prozessfolge konnte auf dieses Trennmittel verzichtet werden, sodass die Kanaloberfläche eben ist (Abbildung 24).

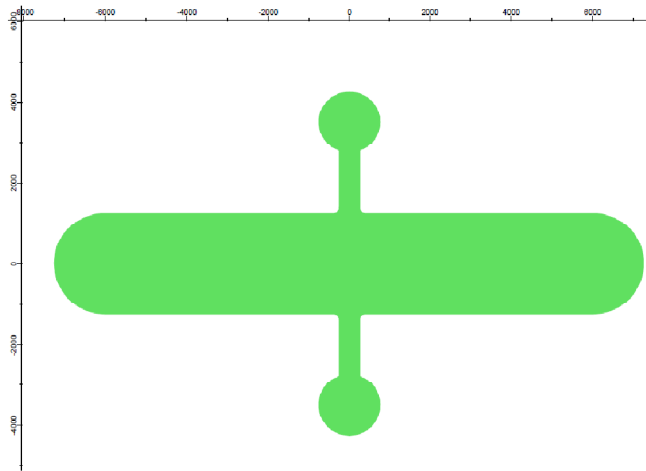


Abbildung 23 Geometrie des mikrofluidischen Kanals

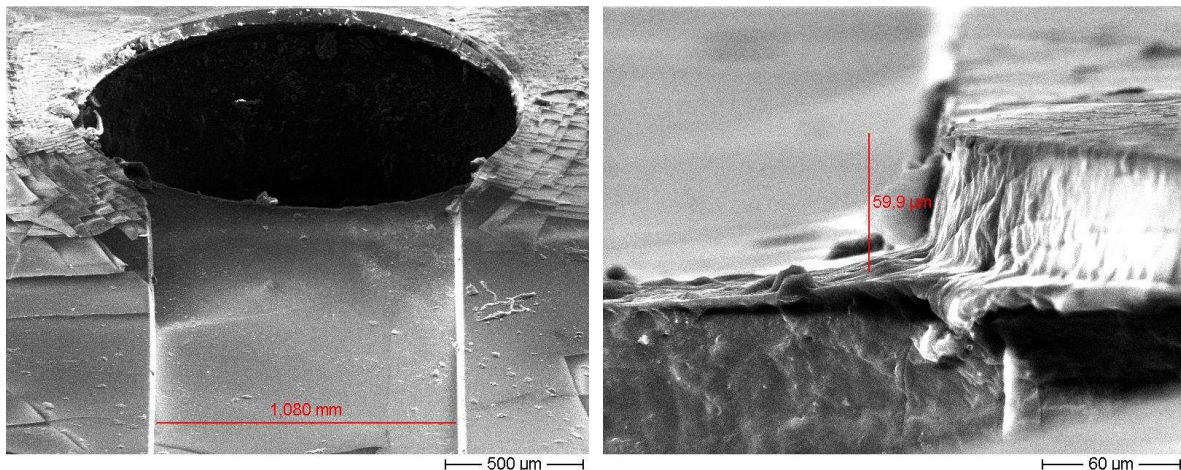


Abbildung 24 Rem-Aufnahmen PDMS-Kanal (aus Abformeinheit)



Abbildung 25 Fluss durch den PDMS-Kanal

3.5 Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Im zahlenmäßigen Nachweis ist zu erkennen, dass in allen Positionen die fortgeschriebene Vorkalkulation eingehalten bzw. unterschritten wurde. (

				0813	0823	0837	0838	0850
	Angeforderte Bundesmittel	Eigenanteil	entstandene Kosten	Material	FE-Fremdleistung	Personal	Reisekosten	sonstige
2007	17.157,19 €	17.157,19 €	34.314,38 €	- €	- €	33.733,41 €	391,57 €	189,40 €
2008	32.498,24 €	32.498,24 €	64.996,48 €	1.036,00 €	1.522,22 €	61.969,29 €	468,97 €	- €
2009	27.845,50 €	27.845,50 €	55.690,99 €	- €	336,14 €	54.710,96 €	643,89 €	- €
2010	22.568,81 €	22.568,81 €	45.137,61 €	79,50 €	- €	45.058,11 €		
Gesamt	100.069,73 €	100.069,73 €	200.139,46 €	1.115,50 €	1.858,36 €	195.471,77 €	1.504,43 €	189,40 €
Vorkalkulation	103.600,00 €	103.600,00 €	207.200,00 €	2.000,00 €	5.500,00 €	196.000,00 €	2.700,00 €	1.000,00 €

Tabelle 8)

3.6 Notwendigkeit der geleisteten Arbeit

NB Technologies hat mit den gelieferten Substraten mit Goldstrukturen, den Chrommasken für die photolytische Immobilisierung und dem Aufbau des mikrofluidischen Kanals die grundlegenden Voraussetzungen für die Arbeiten der Projektpartner geliefert. Die geleisteten Arbeiten waren in diesem Sinne absolut notwendig.

3.7 Voraussichtlicher Nutzen, Verwertbarkeit im Sinne des Verwertungsplanes

Während der Projektlaufzeit wurden keine schutzrechtsfähigen Ergebnisse gewonnen oder Schutzrechte im Zusammenhang mit diesem Projekt angemeldet. NB Technologies hat mit diesem Projekt die vorhandene Expertise im Bereich der Nanostrukturierung und der Mikrofluidik stark erweitert. Eine direkte, kurzfristige Verwertbarkeit der Ergebnisse im wirtschaftlichen Sinne ist jedoch nicht gegeben.

3.8 Fortschritt auf dem Gebiet bei anderen Stellen

Fortschritte bei anderen Stellen sind im Rahmen dieser Arbeit nicht bekannt geworden.

3.9 Veröffentlichungen

Während des Projektes wurde in der Fachzeitschrift „Angewandte Chemie“ ein Paper^[1] mit dem Titel „Organization of motor proteins into functional micropatterns fabricated by a photoinduced Fenton reaction“ veröffentlicht.

				0813	0823	0837	0838	0850
	Angeforderte Bundesmittel	Eigenanteil	entstandene Kosten	Material	FE-Fremdleistung	Personal	Reisekosten	sonstige
2007	17.157,19 €	17.157,19 €	34.314,38 €	- €	- €	33.733,41 €	391,57 €	189,40 €
2008	32.498,24 €	32.498,24 €	64.996,48 €	1.036,00 €	1.522,22 €	61.969,29 €	468,97 €	- €
2009	27.845,50 €	27.845,50 €	55.690,99 €	- €	336,14 €	54.710,96 €	643,89 €	- €
2010	22.568,81 €	22.568,81 €	45.137,61 €	79,50 €	- €	45.058,11 €		
Gesamt	100.069,73 €	100.069,73 €	200.139,46 €	1.115,50 €	1.858,36 €	195.471,77 €	1.504,43 €	189,40 €
Vorkalkulation	103.600,00 €	103.600,00 €	207.200,00 €	2.000,00 €	5.500,00 €	196.000,00 €	2.700,00 €	1.000,00 €

Tabelle 8 Kostenplan

5 Referenzen

[1] Bhagawati M, Ghosh S, Reichel A, Froehner K, Surrey T, Piehler J., Organization of motor proteins into functional micropatterns fabricated by a photoinduced Fenton reaction., *Angewandte Chemie Int. Ed Engl.* 48, 9188-91

[2] The microscopy cell (MicCell), a versatile modular flowthrough system for cell biology, biomaterial research, and nanotechnology, *F. -U. Gast et. Al.* 2005

[3] Growth of plasmonic gold nanostructures by electron beam induced Deposition, *S. Graells et. al.* 19.09.2007, *APPLIED PHYSICS LETTERS* 91

[4] Four-inch photo-curable nanoimprint lithography using NX-2000 nanoimprinter, *Mingtao Li*

Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN geplant	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Schlussbericht
3. Titel Abschlussbericht: Machbarkeitsstudie im Rahmen der BMBF Fördermaßnahme „Nanobiotechnologie“ Teilprojekt 4 „Gerichteter Transport nanoskopischer Ladungen über molekulare Fließbänder“	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] Froehner, Klaus Becker, Mike Lütke Notarp, Dr. Dietmar	5. Abschlussdatum des Vorhabens 30.06.2010
	6. Veröffentlichungsdatum geplant
	7. Form der Publikation TIB online
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) NB Technologies GmbH Fahrenheitstraße 1 28359 Bremen	9. Ber. Nr. Durchführende Institution
	10. Förderkennzeichen 615 40003 0312034D
	11. Seitenzahl 27
12. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. Literaturangaben
	14. Tabellen 8
	15. Abbildungen 25
16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)	
18. Kurzfassung Ziel des Projekts war es, durch nanostrukturierte Immobilisierung molekulare Fließbänder für einen gerichteten Transport auf Oberflächen zu generieren. Dazu wurden verschiedene Techniken zur kontrollierten und gerichteten Polymerisation von Mikrotubuli an Oberflächen in vordefinierbare Strukturen angewandt. Durch Integration von nanostrukturierten Transportsystemen in mikrofluidische Strukturen sollten biologische Substanzen gezielt eingebracht und prozessiert werden können. Es wurden mikro- und nanostrukturierte Goldbahnen mittels Lift-Off- und Ätztechnologien auf Glassubstraten hergestellt. Es wurde ein modulares mikrofluidisches Kanalkonzept erarbeitet. Dabei wurde sowohl der Ansatz der direkten Strukturierung des Kanals als auch der der Abformung verfolgt.	
19. Schlagwörter Nanolithographie, Mikrotubuli, Polymerisation, Mikrofluidik, Mikrokanal, Abformverfahren	
20. Verlag TIB	21. Preis