

Kurzzusammenfassung

Diese Arbeit beinhaltet Untersuchungen zur Entwicklung von ellipsometrischen Hochdurchsatz Biosensoren. Sensoren dieses Typs werden heutzutage standardmäßig in der medizinischen Diagnostik verwendet. Das Messprinzip beruht auf der Detektion von Schichtdickenveränderungen wie sie bei einer Reaktion eines Analyten aus Lösung mit einer Zweiten, auf dem Sensor immobilisierten Spezies eintritt. Eine zeitabhängige Messung erlaubt Rückschlüsse auf Bindungsaffinitäten. Da diese optische Methode nichtinvasiv ist, findet keine Beeinflussung der Biomoleküle statt. Um viele Reaktionen parallel und vergleichend messen zu können, besteht ein großer Bedarf an Hochdurchsatz-Methoden. Da diese Methoden sehr sensitiv auf Dicke und Brechungsindex reagieren, ist die Herstellung von Proben mit hoher Gleichmäßigkeit sehr aufwendig. Die Proben müssen in Form von Monolagen aufgebracht werden, wobei minimale Abweichungen vom Ideal zu Variationen in der Sensitivität der einzelnen Messpunkte führen. Aus diesem Grund wäre eine Methode wünschenswert, die es erlaubt die Sensitivität einzelner Messpunkte nachträglich zu optimieren, um vergleichende Messungen durchführen zu können.

Der erste Teil dieser Arbeit diente dazu, Faktoren bezüglich des Probenauftrags und der Messmethode zu ermitteln, die einen Einfluss auf die Sensitivität haben.

Unter Verwendung von Oberflächenplasmon Sensoren wurde eine Methode entwickelt, die es erlaubt, zueinander ausgerichtete Arrays von Substanzen auf Sensoren aufzubringen. Hierzu wurden spezielle Stempel angefertigt, die dazu verwendet werden, nacheinander verschiedene Substanzen in Form einer Monolage zu drucken. Diese bedruckten Sensoren können mittels abbildender Null Ellipsometrie untersucht werden, wobei gezeigt werden konnte, dass sich mit herkömmlichen Methoden Probleme in der Sensitivität bzw. der Messgeschwindigkeit ergeben. Um diese Nachteile zu umgehen, wurde eine Methode basierend auf Off-null Ellipsometrie entwickelt, mit der es möglich ist, scharfe ellipsometrische Bilder mit hoher Wiederholungsrate aufzunehmen. Zeitabhängige Reaktionen können in Form von Bildsequenzen akquiriert werden, die im Nachhinein ausgewertet werden. Aus diesen Informationen kann die Dickenveränderung aller Messpunkte in Form

einer Karte dargestellt werden. Hierbei stellte sich heraus, dass die bei der Off-null Ellipsometrie erhaltenen Messgrößen besser geeignet sind, um Reaktionen mit inhomogenen und sehr großen Analyten zu vermessen, als die bei Null Ellipsometrie verwendeten.

Mittels Vermessung geeigneter Reaktionen konnten Sensitivitätsprobleme erörtert werden, die auf den Messaufbau zurückgeführt werden können. Den Haupteinfluss hat der aus einer Strahlaufweitung resultierende kegelförmige Messstrahl, welcher zur Abbildung großer Flächen auf dem Sensor notwendig ist. Dies führt dazu, dass die Sensitivität der Messstellen variiert da sie unter verschiedenen Winkeln beleuchtet werden.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde eine Methode entwickelt, mit der es möglich ist, die Sensitivität einzelner Messstellen zu optimieren. Hierzu eignen sich auf planaren Wellenleitern basierende Sensoren, die Sensitivität gegenüber Veränderungen im Analysemedium sowie im Substrat zeigen. Diese Eigenschaft kann ausgenutzt werden, um einen Sensor zu entwickeln, der in der Stärke seiner Antwort auf ein Ereignis bzw. der Sensitivität beeinflusst werden kann. Eine Maßnahme, dies zu erreichen, besteht darin, ein fotochromes - und somit mit Licht manipulierbares - Element zu verwenden. Dieses Element enthält ein fotochromes Protein, Bakteriorhodopsin (BR) oder Proteorhodopsin (PR), das in ein Sol-Gel Glas, speziell ein Ormosil eingebettet ist. Hierzu wurde eine neuartige Methode entwickelt, die es durch eine Optimierung des Sol-Gel Prozesses ermöglicht, diese empfindlichen Proteine schonend in das Material einzubetten. Das resultierende Material weist hervorragende optische Eigenschaften sowie Stabilität auf. Es konnte gezeigt werden, dass die Sensitivität von Wellenleiter-Sensoren, welche auf die fotochrome Schicht aufgebracht wurden, durch Licht beeinflusst werden kann. Wurden diese Bauteile orts aufgelöst mit variierender Lichtintensität beleuchtet, so resultierte dies in einer lateralen Modulation der ellipsometrischen Bilder. Die Stärke der Modulation entsprach dabei in etwa der Veränderung der Sensitivität, die durch Beleuchtung mit dem divergierenden Messstrahl erzielt wird. Somit ist es möglich, die Sensitivität des Sensors anzugleichen. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass dieser Effekt dazu benutzt werden kann, Signalveränderungen, die durch Brechungsindexvariation im Analysemedium hervorgerufen werden können, zu kompensieren. Dies ist insbesondere wichtig, um das System im sensitiven Bereich zu halten, wenn Reagenzien in die Messzelle gegeben werden.