



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 699 30 131 T2** 2006.10.19

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 104 546 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **699 30 131.9**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/NL99/00504**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **99 938 662.6**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2000/010012**

(86) PCT-Anmeldetag: **06.08.1999**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **24.02.2000**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **06.06.2001**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **01.03.2006**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **19.10.2006**

(51) Int Cl.⁸: **G01N 33/543** (2006.01)
B05D 7/24 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

1009871 14.08.1998 NL

(73) Patentinhaber:

**HOLLAND BIOMATERIALS GROUP B.V., Hengelo,
NL**

(74) Vertreter:

Arnold und Kollegen, 80331 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LI, LU, MC, NL, PT, SE**

(72) Erfinder:

**TERLINGEN, Gijsbertus, Johannes, NL-6373 VT
Landgraaf, NL; ENGBERS, Henricus, Gerardus,
NL-7577 MB Oldenzaal, NL**

(54) Bezeichnung: **VERFAHREN UND EINRICHTUNG ZUM UNTERSUCHEN DER CHEMISCHEN INTERAKTIONEN**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft eine Vorrichtung zum Untersuchen der Reaktionen zwischen interaktiven chemischen und/oder biologischen Spezies, ein Verfahren zum Schaffen einer solchen Vorrichtung und ein Verfahren zum Untersuchen chemischer und/oder biologischer Interaktionen, beispielsweise biomolekulare Interaktionen, unter Verwendung einer solchen Vorrichtung.

[0002] Unter chemischen und/oder biologischen Interaktionen werden auch chemische und/oder biologische Reaktionen verstanden.

[0003] Interaktionen spezifischer Verbindungen mit festen Oberflächen spielen bei chemischen und biologischen Phänomenen und in Bereichen, die Analysetechniken, wie beispielsweise RIA's, ELISA's umfassen, eine entscheidende Rolle.

[0004] Zur Untersuchung und Erfassung von Oberflächeninteraktionen ist eine "empfindliche" Oberfläche erforderlich.

[0005] Um Oberflächeninteraktionen in Echtzeit zu studieren, stehen mehrere Techniken zur Verfügung, wie beispielsweise die Ellipsometrie, die Reflektometrie und Oberflächenplasmon-Resonanzspektroskopie (SPR). Diesen Techniken ist gemeinsam, dass sie das Reflektionsvermögen von Licht, erzeugt durch einen Laser, dazu verwenden, das Wachstum oder die Desintegration einer Schicht aus beispielsweise biologischen Molekülen an einer Oberfläche zu analysieren.

[0006] Für diese Techniken ist eine reflektierende Oberfläche notwendig. Im Fall von SPR wird eine Oberfläche, die ein freies Elektronenmetall, beispielsweise Gold, enthält, am häufigsten verwendet.

[0007] Um diese Technik für die Untersuchung anderer Interaktionen neben den Interaktionen von (Bio)-Molekülen mit freien Elektronenmetalloberflächen zu untersuchen sind die freien Elektronenoberflächen beispielsweise durch die Adsorption von Bio-Molekülen, wie beispielsweise Proteinen und Beschichten derselben mit Polymerschichten in einem Lösungsmittel-Gieß- oder Aufschleudervorgang, modifiziert worden.

[0008] Es wurden auch Verfahren entwickelt, um Goldoberflächen mit spezifischen chemischen Gruppen für die Immobilisierung von Proteinen zu versehen, wobei diese Oberflächen darauf folgend für das Studium der Interaktionen mit anderen (biologischen) Substanzen, wie beispielsweise Antikörper-Antigen-Interaktionen verwendet wurden.

[0009] Verfahren zum Erzeugen von SPR-Sensoroberflächen umfassen das Anordnen einer organischen Oberfläche auf einer Goldschicht mittels eines nasschemischen Vorgangs, wie beispielsweise Gießen von Lösungsmittel oder Aufschleudern, bevor ein Plasmaätzvorgang ausgeführt wird.

[0010] Ein weiteres Verfahren umfasst die Adsorption einer chemisch funktionalen Substanz mittels eines nasschemischen Vorgangs an der zu modifizierenden Oberfläche und die darauf folgende Immobilisierung der oberflächenaktiven Substanz durch ein Plasma, wie beispielsweise ein Argonplasma, eine sogenannte Plasmainmobilisierung.

[0011] Die WO 97/38801 offenbart ein Verfahren zum Abscheiden einer reaktiven funktionalen Gruppe auf einer Oberfläche eines festen Substrats. Das Substrat kann ein Polymer, Keramik, Metall, silaniertes Metall, Kohlenstoff, Gewebe, Glas, silaniertes Glas, Holz, Zellulose, Keramik, Verbundstoff, Gummi, Gummifilm, Polymer, Polymerfilm, Halbleiter, Papier oder Hydrogel sein. Die reaktive funktionale Gruppe kann ein Isothiozyanat, Zyanid, Benzol, Azetat, Merkaptan, Glycidyläther, Äther, Chloroform, Methylsulfid, Phenylsulfon, Phosphordichlorid, Trimethylsilan, Triethoxysilan, Kohlenstoff-Halogen, Säurehalogenid, Säureanhydrid, Sulfhydryl, Phosphid, Carbonyl oder Carboxylsäure sein. Die Interaktion mit der Oberfläche wurde darauf folgend durch ESCA analysiert.

[0012] Die US-A-5,627,079 offenbart ein Verfahren zur Gasoberflächenfluorierung oder Plasmaabscheidung. Die zu fluorierende Oberfläche ist ausgewählt aus der Gruppe, die besteht aus Polymer-, Keramik- und Metallmaterialien. Die Metallmaterialien können ausgewählt sein aus einer Gruppe, die besteht aus Gold, Nickel, Kupfer, Aluminium, Stahllegierungen, Eisen- und Nichteisenlegierungen. Somit wird vor der Funktionalisierung die Oberfläche des Substrates fluoriert.

[0013] Die Nachteile dieser bekannten Techniken umfassen das Fehlen von Stabilität der funktionalen Oberflächenschichten.

[0014] Eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, eine verbesserte Vorrichtung zur Untersuchung der Aktionen zwischen interaktiven chemischen Spezies zu schaffen.

[0015] Gemäß einem ersten Aspekt der vorliegenden Erfindung wird eine Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6 geschaffen.

[0016] Die Vorrichtung gemäß der vorliegenden Erfindung schafft eine gute Haftung der plasmaabgeschiedenen Schicht, eine gute Stabilität derselben und eine Vorrichtung, die eine gute Empfindlichkeit zeigt, wodurch das Substrat mit einer Funktionsschicht versehen wird, deren Funktionalität durch Gruppen gebildet werden kann, wie beispielsweise Amine, Carboxylsäure, Hydroxyl, Säurechlorid, Isocyanat, Aldehyd, Anhydrit, Epoxid und Thiolgruppen.

[0017] Gemäß einem zweiten Aspekt der vorliegenden Erfindung wird ein Verfahren gemäß einem der Ansprüche 7 bis 16 geschaffen, um die Vorrichtung gemäß der vorliegenden Erfindung zu schaffen.

[0018] Da eine funktionale Gruppenschicht plasmaabgeschieden ist, kann die Steuerung der Abscheidung desselben exakt ausgeführt werden, wodurch sehr dünne Schichten abgeschieden werden können, wodurch somit sehr empfindliche Vorrichtungen geschaffen werden, ohne dass die Notwendigkeit besteht, zuerst eine organische Schicht durch nasschemische Verfahren auf dem Substrat auszubilden, bevor irgendeine weitere Untersuchung ausgeführt werden kann.

[0019] Das Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung stellt eine gute Steuerbarkeit bereit.

[0020] Im Gegensatz zu Verfahren zur Bereitstellung von Sensorvorrichtungen, bei denen Schichten auf einem Substrat mittels nasschemischer Verfahren angeordnet sind, die häufig zeitaufwändig sind, schwierig auszuüben sind und häufig zu unerwünscht dicken Schichten führen, die ein darauf folgendes Fehlen von Empfindlichkeit zeigen, wenn keine große Aufmerksamkeit verwendet wird, ist das Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung extrem flexibel zu arbeiten und leicht zu bewirken und bietet eine gute Kosteneffizienz.

[0021] Plasmaabscheidungsvorgänge betreffen die Abscheidung von organischen Spezies aus der Plasma-phase auf einem Substrat. Beispielsweise kann durch Anwenden eines (flüchtigen) Monomers in der Gasphase eine organische Schicht abgeschieden werden, deren Struktur dem entsprechenden Polymer ähnlich ist. Durch Aufbringen eines (flüchtigen) Monomers, das eine chemische Funktionalität hat, kann eine chemisch funktionale Polymerschicht erzielt werden.

[0022] Das Plasma kann aus einem Monomer abgeschieden werden, dass Vorzugsweise ausgewählt ist aus der Gruppe, die im Wesentlichen besteht aus:

- ungesättigten Monomeren; Acrylsäure, Allylamin, Allylisocyanat, Allylmercaptan, Methacrylsäure, Allylalkohol, Allylazetat, Allylessigsäure, Allylglycidäther, 3-Allyloxy, 1-2-Propanediol, Vinylacetat, Acrylsäurehalogened,
- gesättigten Monomeren; Alkoholen wie beispielsweise Methanol, Äthanol, Propanol, Säuren, wie beispielsweise Propionsäure, Essigsäure und dgl., Formaldehyd, Propionaldehyd, Glutardialdehyd, Aminoäthan, Aminoäthanol, Ethylenoxid, Acetonmethan, Ethan, Propan und dgl., wodurch das Substrat mit der entsprechenden Funktionalität versehen wird.

[0023] Abgesehen von der Plasmaabscheidung von gesättigten und ungesättigten Monomeren kann eine Funktionalität in Situ, d. h. in der Plasmaschicht mittels beispielsweise Neuarrangierungen von (zyklischen) Monomeren oder Reaktion zwischen einem Gemisch aus Plasmagasen erzeugt werden, wonach diese in Situ erzeugte Funktionalität abgeschieden werden kann.

[0024] Oberflächen mit einer hohen Oberflächenenergie, wie beispielsweise allgemein Metalloberflächen, kann infolge der Kontamination der Oberfläche mit Spezies aus ihrer Umgebung ein Anstieg gegenüber einer schnellen Oberflächenhydrophobisierung verliehen werden. Diese Oberflächenkontamination kann für die weitere Oberflächenmodifikation beispielsweise bezüglich der Stabilität der Endoberfläche verheerend sein. Daher sollte diese Oberflächenkontamination soweit als möglich verhindert werden, indem die Oberflächen in einer inerten Atmosphäre gelagert werden und indem die Zeit zwischen der Oberflächenpräparierung und der Modifikation oder die Zeit, die für das Reinigen der Oberfläche vor der Modifikation benötigt wird, verringert

wird. Das Plasmaätzen bietet ein ausgezeichnetes Verfahren für dieses Reinigen. Plasmareinigen ist schnell und ist selbst ein sauberes Verfahren, da es keine Verwendung von organischem Lösungsmittel oder substantiellen Mengen von Reagenzien, die nachteilige Auswirkungen auf die Umgebung haben können, benötigt. Für die vorliegende Erfindung ist es vorteilhaft, einen in Situ-Plasmareinigungsschritt des Substrats vor der tatsächlichen Modifikation durch Plasmaabscheidung aufweisen.

[0025] Die aus dem Plasma abgeschiedene Schicht hat eine oder mehrere Schwefelverbindungen, beispielsweise Thiole, Sulfide und/oder Disulfide, d. h. in der Form von Merkaptoesigsäure, 2-Mercaptopropionsäure, 3-Mercaptopropionsäure, 1-Merkaptopropinol, 2-Mercaptoethanol und dgl., Vorzugweise Diallylsulfid, da Gold als das Substrat gewählt ist, wodurch eine verbesserte Stabilität geschaffen wird.

[0026] Gemäß einem weiteren Aspekt der vorliegenden Erfindung wird ein Verfahren und die Verwendung einer Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6 geschaffen, um die Interaktion von chemischen und/oder biologischen Spezies, beispielsweise Oberflächeninteraktionen in Echtzeit, gemäß den Ansprüchen 17 bis 19 zu untersuchen.

[0027] Die Erfindung wird nun weiter durch die folgenden Beispiele anhand der [Fig. 1](#) erklärt, die eine graphische Darstellung der Immobilisation von Albuminen auf einer COOH-Platte zeigt, wie sie in Beispiel 12 ausgeführt ist.

Beispiel 1

Herstellung von Carboxylsäure-Gold-Funktionsoberflächen.

[0028] Goldbeschichtete Glasplatten (60) wurden in der zentralen Position des Plasmareaktors platziert, der aus einem Glasrohr (1 = 150 cm, \varnothing = 10 cm) mit drei an der Außenseite des Glasrohres positionierten Elektroden bestand, wobei die Netzelektrode in der Mitte um die zwei an Masse gelegten Elektroden in einem Abstand von 30 cm an den beiden Seiten der Netzelektrode positioniert waren. Die Elektroden wurden an einen RF-Generator (13,56 MHz, ENI ACG-3, ENI-Powersystems) über ein Anpassungsnetzwerk (ENI-Matchwork 5) und eine Anpassnetzwerksteuerungseinheit (ENI TH-1000, ENI) angeschlossen. Der Generator wurde durch einen Zeitschalter gesteuert (Apple IIe Computer mit einem Zeitsteuerprogramm).

[0029] Der Reaktor wurde durch eine Rotationspumpe (DUO 004 B, Pfeifer), die mit einem Filter (ONF 025, Pfeifer) ausgerüstet war, um ein Zurückfließen von Öl zu verhindern, auf einen Druck unter 0,1 Pa (0,001 mbar) evakuiert. Der Druck wurde durch ein Manometer (Baratron 628A01MDE, MKS-Instruments) gemessen und von einem Anzeigemodul (PR4000, MKS-Instruments) abgelesen. Es wurde ein Luftstrom von 5 sccm/min für fünf Minuten errichtet, der zu einem Druck von ungefähr 12 Pa (0,12 mbar) führte, wonach die Platten mit einem dynamischen Luftplasma (85 W) für eine Minute mit den gleichen Strömungsbedingungen behandelt wurden. Der Luftstrom wurde durch ein Massenströmungssteuergerät (Typ 1259 + PR3000 Steuereinheit, MKS-Instruments) gesteuert. Nach der Plasmabehandlung wurde der Luftstrom für zwei Minuten fortgesetzt und dann gestoppt und es wurde durch den Reaktor über einen direkten Monomereinlass ein Acrylsäurestrom errichtet, der zu einem Druck von ungefähr 3 Pa (0,03 mbar) führte. Um zu verhindern, dass die Acrylsäure nach dem Verlassen des Reaktors die Pumpe erreicht, wurde der Acrylsäurestrom über eine Kühlfalle nebengeschlossen, die mit Flüssigstickstoff gekühlt wurde. Die Temperatur der Acrylsäure in dem Lagerbehälter betrug Zimmertemperatur. Nach zwei Minuten wurden die Oberflächen mit fünf Impulsen eines Acrylsäureplasmas mit einer Entladeleistung von 75 (W) behandelt, die Impulse wurden voneinander durch 30 Sekunden Acrylsäureströmung durch den Reaktor getrennt. Nach dem letzten Impuls wurde die Oberfläche zwei zusätzlichen Minuten dem Acrylsäurestrom ausgesetzt, worauf der Acrylsäurestrom gestoppt wurde und der Reaktor mit Luft auf atmosphärischen Druck gebracht wurde.

Beispiel 2

Herstellung von Aminfunktionsoberflächen

[0030] Beim Beispiel 1 beschrieben, wurden in dem Plasmareaktor goldbeschichtete Glasplatten (60) platziert. Der Reaktor wurde auf einen Druck unter 0,05 mbar evakuiert und ein Luftstrom wurde mit 5 sccm/min für fünf Minuten errichtet, worauf die Platten mit einem dynamischen Luftplasma (85 W) eine Minute unter den gleichen Strömungsbedingungen behandelt wurden. Dann wurde der Luftstrom gestoppt und es wurde durch den Reaktor ein Allylaminstrom mit 7 Pa (0,07 mbar) errichtet, wobei die Temperatur des Monomerlagerbehälter 36°C betrug. Nach zwei Minuten wurden Oberflächen mit 10 Impulsen eines Allylaminplasmas mit einer

Entladungsleistung von 75 W behandelt, die voneinander 10 Sekunden lang durch einen Allylaminstrom durch den Reaktor getrennt waren. Nach dem letzten Impuls wurden die Oberflächen zusätzlichen zwei Minuten Allylaminstrom ausgesetzt, wonach der Allylaminstrom gestoppt wurde und der Reaktor mit Luft auf atmosphärischen Druck gebracht wurde.

Beispiel 3

[0031] Zwischen der kalten Elektrode an der Gaseinlassseite des Reaktors und der heißen Elektrode wurden goldbeschichtete Substrate (6) in den Plasmareaktor platziert (siehe Beispiel 2). Der Reaktor wurde auf einen Druck unter 0,5 Pa (0,095 mbar) evakuiert und es wurde durch den Reaktor ein Luftstrom mit 5 sccm errichtet. Nach zwei Minuten Luftstrom wurden die Substrate mit einem dynamischen Luftplasma (5 sccm, 85 W) für eine Minute behandelt und darauf folgend einem Luftstrom mit 5 sccm für fünf Minuten nochmals ausgesetzt. Dann wurde der Luftstrom gestoppt und nach der Evakuierung des Reaktors wurde ein Allylaminstrom mit einem Druck von 9,5 Pa (0,095 mbar) durch den Reaktor errichtet. Nach zwei Minuten Allylaminstrom wurden die Substrate 10 Impulsen von einer Sekunde einem Allylaminplasma mit einer Entladeleistung von 85 W ausgesetzt, wobei die Impulse durch 10 Sekunden Allylaminstrom getrennt waren. Nach dem letzten Allylaminplasmaimpuls wurde der Allylaminstrom für zwei Minuten fortgesetzt, wonach der Strom unterbrochen wurde, der Reaktor evakuiert wurde und darauf folgend mit Luft auf einen atmosphärischen Druck gebracht wurde. Darauf folgend wurden die Oberflächen durch Röntgenstrahl angeregte Fotoelektronenspektroskopie auf Kohlenstoff, Sauerstoff, Stickstoff und Gold analysiert, deren Ergebnisse in der unten stehenden Tabelle gezeigt sind. Die Oberflächen wurden auch für eine Stunde mit Wasser gespült und darauf folgend getrocknet und durch XPS analysiert.

Tabelle 1

Element	Oberflächenzusammensetzung (Atom %)	
	vor dem Spülen	nach dem Spülen
C	65.4	62.4
O	10.3	10.5
N	17.5	13.6
Au	6.8	13.4

Beispiel 4

[0032] Es wurden in dem Plasmareaktor (siehe Beispiel 2) zwischen der kalten Elektrode an der Gaseinlassseite des Reaktors und der heißen Elektrode goldbeschichtete Substrate (6) platziert. Der Reaktor wurde auf einen Druck von unter 0,5 Pa (0,005 mbar) evakuiert und es wurde durch den Reaktor ein Argonstrom mit 5 sccm errichtet. Nach zwei Minuten Argonstrom wurden die Substrate mit einem dynamischen Argonplasma (5 sccm, 85 W) für eine Minute behandelt und darauf folgend einem Argonstrom von 5 sccm für 10 Minuten nochmals ausgesetzt. Dann wurde der Argonstrom gestoppt und nach der Evakuierung des Reaktors wurde ein Allylaminstrom mit einem Druck von 0,095 mbar durch den Reaktor errichtet. Nach zwei Minuten Allylaminstrom wurden die Substrate 10 Impulsen von einer Sekunde Länge eines Allylaminplasmas mit einer Entladeleistung von 85 W ausgesetzt, wobei die Impulse jeweils 10 Sekunden durch einen Allylaminstrom getrennt wurden. Nach dem letzten Allylaminplasmaimpuls wurde der Allylaminstrom für zwei Minuten fortgesetzt, wonach der Strom unterbrochen wurde, der Reaktor wurde evakuiert und darauf folgend mit Luft auf atmosphärischen Druck gebracht.

Beispiel 5

[0033] Es wurden in den Plasmareaktor (siehe Beispiel 2) zwischen die kalte Elektrode an der Gaseinlassseite des Reaktors und die heiße Elektrode goldbeschichtete Substrate (6) platziert. Der Reaktor wurde auf einen Druck unter 0,5 Pa (0,005 mbar) evakuiert und es wurde ein Luftstrom mit 5 sccm durch den Reaktor errichtet. Nach zwei Minuten Luftstrom wurden die Substrate mit einem dynamischen Luftplasma (5 sccm, 85 W) für eine Minute behandelt und darauf folgend einem Luftstrom mit 5 sccm für nochmals 10 Minuten ausgesetzt. Dann wurde der Luftstrom gestoppt und nach der Evakuierung des Reaktors wurde durch den Reaktor ein Allylamin-

strom mit einem Druck von 9,5 Pa (0,095 mbar) errichtet. Nach zwei Minuten Allylaminstrom wurden die Substrate 5 Impulsen von einer Sekunde Länge einem Allylaminplasma mit einer Entladeleistung von 170 W ausgesetzt, wobei die Impulse durch einen Allylaminstrom für 10 Sekunden voneinander getrennt wurden, gefolgt von 5 Impulsen eines Allylaminplasmas mit einer Entladeleistung von 85 W, wobei die Impulse wiederum durch einen Allylaminstrom von 10 Sekunden getrennt waren. Nach dem letzten Allylaminplasmaimpuls wurde der Allylaminstrom für zwei Minuten fortgesetzt, wonach dieser Strom unterbrochen wurde, der Reaktor evakuiert und darauf folgend mittels Luft auf atmosphärischen Druck gebracht wurde. Danach wurden die Oberflächen durch Fotoelektronenspektroskopie auf Kohlenstoff, Sauerstoff, Stickstoff und Gold untersucht, wobei die Ergebnisse in der unten stehenden Tabelle gezeigt sind.

Tabelle 2

Element	Oberflächenzusammensetzung (Atom %)
C	62.8
O	9.8
N	20.8
Au	6.6

Beispiel 6

[0034] Zwischen die kalte Elektrode an der Gaseinlassseite des Reaktors und die heiße Elektrode wurden in dem Plasmareaktor (siehe Beispiel 2) goldbeschichtete Substrate (6) platziert. Der Reaktor wurde auf einen Druck von unter 0,5 Pa (0,005 mbar) evakuiert und es wurde ein Luftstrom mit 5 sccm durch den Reaktor errichtet. Nach zwei Minuten Luftstrom wurden die Substrate mit einem dynamischen Luftplasma (5 sccm, 85 W) für eine Minute behandelt und darauf folgend für 10 Minuten noch mal einem Luftstrom von 5 sccm ausgesetzt. Dann wurde der Luftstrom gestoppt und nach der Evakuierung des Reaktors wurde durch den Reaktor ein Mischstrom aus Allylamin und Oktadiene (66 V % Allylamin) mit einem Druck von 5,5 Pa (0,055 mbar) errichtet. Nach zwei Minuten Allylamin/Oktadien-Strom wurden die Substrate 10 Impulsen mit eine Sekunde Länge eines Allylamin/Oktadien-Plasmas mit einer Entladeleistung von 85 W ausgesetzt, wobei die Impulse 10 Sekunden mit einem Allylamin/Oktadien-Strom getrennt waren. Nach den letzten Plasmaimpuls wurde der Allylamin/Oktadien-Strom für zwei Minuten fortgesetzt, wonach der Strom unterbrochen wurde und der Reaktor evakuiert und darauf folgend mit Luft auf atmosphärischen Druck gebracht wurde. Danach wurden die Oberflächen durch Röntgenstrahl angeregte Fotoelektronenspektroskopie auf Kohlenstoff, Sauerstoff, Stickstoff und Gold analysiert, wobei die Ergebnisse in der unten stehenden Tabelle gezeigt sind.

Tabelle 3

Element	Oberflächenzusammensetzung (Atom %)
C	73.1
O	7.9
N	11.7
Au	7.3

Beispiel 7

[0035] Zwischen die kalte Elektrode an der Gaseinlassseite des Reaktors und die heiße Elektrode wurden in dem Plasmareaktor (siehe Beispiel 2) goldbeschichtete Substrate 6 platziert. Der Reaktor wurde auf einen Druck unter 0,5 Pa (0,005 mbar) evakuiert und dann wurde durch den Reaktor ein Luftstrom mit 5 sccm errich-

tet. Nach zwei Minuten Luftstrom wurden die Substrate mit einem dynamischen Luftplasma (5 sccm, 85 W) für eine Minute behandelt und darauf folgend noch mal für 10 Minuten einem Luftstrom mit 5 sccm ausgesetzt. Dann wurde der Luftstrom gestoppt und nach der Evakuierung des Reaktors wurde ein Mischstrom aus Allylamin und Diallylsulfid (66 V % Allylamin) mit einem Druck von 6,5 Pa (0,065 mbar) durch den Reaktor errichtet. Nach zwei Minuten Allylamin/Diallylsulfid-Strom wurden die Substrate 10 Impulse mit einer Sekunde Länge eines Allylamin/Diallylsulfid-Plasmas mit einer Entladeleistung von 85 W ausgesetzt, wobei die Impulse 10 Sekunden mit einem Allylamin/Diallylsulfid-Strom getrennt worden sind. Nach dem letzten Plasmaimpuls wurde der Allylamin/Diallylsulfid-Strom für zwei Minuten fortgesetzt, wonach der Strom unterbrochen wurde, der Reaktor evakuiert und darauf folgend mit Luft auf atmosphärischen Druck gebracht wurde.

[0036] Danach wurden die Oberflächen durch Röntgenstrahl angeregte Photoelektronenspektroskopie auf Kohlenstoff, Sauerstoff, Stickstoff und Gold analysiert, wobei die Ergebnisse in der unten stehenden Tabelle gezeigt sind. Die Oberflächen wurden auch eine Stunde mit Wasser gespült und darauf folgend getrocknet und durch XPS analysiert.

Tabelle 4

Element	Oberflächenzusammensetzung (Atom %)	
	vor dem Spülen	nach dem Spülen
C	73.4	68.3
O	4.4	5.3
N	8.3	9.0
S	13.3	16.5
Au	0.7	0.9

Beispiel 8

[0037] Zwischen die kalte Elektrode an der Gaseinlassseite des Reaktors und die heiße Elektrode wurden in dem Plasmareaktor (siehe Beispiel 2) goldbeschichtete Substrate (6) platziert. Der Reaktor wurde auf einen Druck unter 0,5 Pa (0,005 mbar) evakuiert und es wurde durch den Reaktor ein Luftstrom mit 5 sccm errichtet. Nach zwei Minuten Argonstrom wurden die Substrate mit einem dynamischen Argonplasma (5 sccm, 85 W) für eine Minute behandelt, und darauf folgend wieder für 10 Minuten einem Argonstrom von 5 sccm ausgesetzt. Dann wurde der Argonstrom gestoppt und nach der Evakuierung des Reaktors wurde durch den Reaktor ein Mischstrom aus Allylamin und Diallylsulfid (66 V % Allylamin) mit einem Druck von 6,5 Pa (0,065 mbar) errichtet. Nach zwei Minuten Allylamin/Diallylsulfid-Strom wurden die Substrate 10 Impulsen von einer Sekunde Länge eines Allylamin/Diallylsulfid-Plasmas mit einer Entladeleistung von 85 W ausgesetzt, wobei die Impulse 10 Sekunden durch einen Allylamin/Diallylsulfid-Strom getrennt waren. Nach dem letzten Plasmaimpuls wurde der Allylamin/Diallylsulfid-Strom für zwei Minuten fortgesetzt, wonach der Strom unterbrochen wurde, der Reaktor evakuiert und darauf folgend mit Luft auf atmosphärischen Druck gebracht wurde.

Beispiel 9

[0038] Zwischen die kalte Elektrode an der Gaseinlassseite des Reaktors und die heiße Elektrode wurden in dem Plasmareaktor (siehe Beispiel 2) goldbeschichtete Substrate (6) platziert. Der Reaktor wurde auf einen Druck von unter 0,5 Pa (0,005 mbar) evakuiert und es wurde durch den Reaktor ein Luftstrom mit 5 sccm errichtet. Nach zwei Minuten Luftstrom wurden die Substrate mit einem dynamischen Luftplasma (5 sccm, 85 W) für eine Minute behandelt und darauf folgend nochmal für 10 Minuten einem Luftstrom mit 5 sccm ausgesetzt. Dann wurde der Luftstrom gestoppt und nach der Evakuierung des Reaktors auf einen Druck unter 0,5 Pa (0,005 mbar) wurde durch den Reaktor ein Diallylsulfidstrom mit einem Druck von 0,025 mbar errichtet. Nach zwei Minuten Diallylsulfidstrom wurden die Substrate 10 Impulsen von einer Sekunde Länge eines Diallylsulfidplasmas mit einer Entladeleistung von 85 W ausgesetzt, wobei die Impulse von einander 10 Sekunden lang durch einen Diallylstrom getrennt waren. Nach dem letzten Diallylsulfidplasmaimpuls wurde der Diallylsulfidstrom für eine Minute fortgesetzt, wonach der Strom unterbrochen wurde und der Reaktor auf einen Druck unter 0,1 Pa (0,001 mbar) evakuiert wurde. Dann wurde durch den Reaktor ein Allylaminstrom mit einem Druck

von 9 Pa (0,090 mbar) errichtet. Nach zwei Minuten Allylaminstrom wurden die Substrate 10 Impulsen von einer Sekunde Länge eines Allylaminplasmas mit einer Entladeleistung von 85 W ausgesetzt, wobei die Impulse voneinander durch 10 Sekunden Allylaminstrom getrennt waren. Nach dem letzten Allylaminplasmaimpuls wurde der Allylaminstrom für zwei Minuten fortgesetzt, worauf der Strom unterbrochen wurde und der Reaktor auf einen Druck unter 0,1 Pa (0,001 mbar) evakuiert und mit Luft auf einen atmosphärischen Druck gebracht wurde.

[0039] Danach wurden die Oberflächen durch Röntgenstrahl angeregte Fotoelektronenspektroskopie auf Kohlenstoff, Sauerstoff, Stickstoff, Schwefel und Gold analysiert, wobei die Ergebnisse der unten stehenden Tabelle gezeigt sind. Die Oberflächen wurden ebenfalls eine Stunde lang mit Wasser gespült und darauf folgend getrocknet und durch XPS analysiert.

Tabelle 5

Element	Oberflächenzusammensetzung (Atom %)	
	vor dem Spülen	nach dem Spülen
C	69.8	68.3
O	6.9	10.2
N	14.8	12.9
S	8.5	8.6
Au	0.0	0.0

Beispiel 10

[0040] Zwischen der kalten Elektrode an der Gaseinlassseite des Reaktors und der Heißelektrode wurden in dem Plasmareaktor (siehe Beispiel 2) goldbeschichtete Substrate (6) platziert. Der Reaktor wurde auf einen Druck unter 0.5 Pa (0,005 mbar) evakuiert und es wurde durch den Reaktor ein Argonstrom mit 5 sccm errichtet. Nach zwei Minuten Argonstrom wurden die Substrate mit einem dynamischen Argonplasma (5 sccm, 85 W) für eine Minute behandelt und darauf folgend noch mal für 10 Minuten mit einem Argonstrom mit 5 sccm beaufschlagt. Dann wurde der Argonstrom gestoppt und nach der Evakuierung des Reaktors auf einen Druck unter 0,5 Pa (0,005 mbar) wurde durch den Reaktor ein Diallylsulfid-Strom mit einem Druck von 2,5 Pa (0,025 mbar) errichtet. Nach zwei Minuten Diallylsulfid-Strom wurden die Substrate 10 Impulsen mit einer Sekunde Länge eines Diallylsulfid-Plasmas mit einer Entladeleistung von 85 W ausgesetzt, wobei die Impulse voneinander durch einen Diallylsulfid-Strom von 10 Sekunden getrennt waren. Nach dem letzten Diallylsulfid-Plasmaimpuls wurde der Diallylsulfid-Strom für eine Minute fortgesetzt, wonach der Strom unterbrochen wurde und der Reaktor auf einen Druck unter 0,1 Pa (0,001 mbar) evakuiert wurde. Dann wurde durch den Reaktor ein Allylaminstrom mit einem Druck von 9 Pa (0,090 mbar) errichtet. Nach zwei Minuten Allylamin-Strom wurden die Substrate 10 Impulsen mit einer Länge von einer Sekunde eines Allylaminplasmas mit einer Entladeleistung von 85 W unterzogen, die Impulse waren durch 10 Sekunden Allylaminstrom getrennt. Nach dem letzten Allylaminplasmaimpuls wurde der Allylaminstrom für zwei Minuten fortgesetzt, wonach der Strom unterbrochen wurde und der Reaktor auf einen Druck unter 0,1 Pa (0,001 mbar) und mit Luft auf atmosphärischen Druck gebracht wurde.

Beispiel 11

Die Kopplung von CMD auf mit Amin funktionalisierten Goldoberflächen.

[0041] Es wurden Carboxymethylzellulose (100 mg) in 10 ml 0,05 M 2-(N-Morpholin) Ethansulfonsäure gelöst, wonach 5 mg N-Hydroxsuccinimid zugesetzt wurden. Nach der vollständigen Lösung dieses Reagenz wurden 20 mg N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-Ethylcarbodiimid zugesetzt. Nach drei Minuten Aktivierung wurde eine mit Amin funktionalisierte Goldoberfläche mit 1 ml dieser Carboxymethyl-Dextran-Lösung für 2,5 Stunden inkubiert. Dann wurden die Oberflächen mit, mit Phosphat gepufferter Salzlösung und Wasser gespült und Vacuumgetrocknet. Der gesamte Immobilisierungsvorgang wurde bei Zimmertemperatur durchgeführt.

[0042] Bei diesem Beispiel wird Carboxymethyldextran als eine Modellverbindung für eine chemische Funktionsgruppe verwendet, die Verbindungen enthält, die im allgemeinen Dextrane enthalten, auf die sie jedoch nicht begrenzt sind, welche aufweisen Carboxymethyldextran, Carboxymethylzellulose, Mono-Di-Oligo- und Poly-Sacharide, Xanthangummi, Carboxylat und Amindendrimere, und Mono-, Homo- und Hetero-Funktionale Carboxylatpolyethylenglycole und Polyethylenoxid, Polyethylenimin, Polyacrylsäure, Polyvinylalkohol, etc.

[0043] Die Menge dieser Verbindungen enthaltenden Funktionsgruppe, die immobilisiert wird, kann durch die Reaktionsparameter gesteuert werden, wie beispielsweise Reaktionszeit, Konzentration der die Funktionsgruppe enthaltenden Verbindung und das Verhältnis von Kopplungsagens zu Funktionsgruppe enthaltender Verbindung.

Beispiel 12

Immobilisierung von Albumin auf einer COOH-funktionalisierten Erfassungsvorrichtung.

[0044] Eine Erfassungsvorrichtung, die durch das Plasmaabscheideverfahren COOH-Funktionalisiert war, wurde für die Immobilisierung von Albumin verwendet. Während des Immobilisierungsvorgangs, der bei 22,5°C durchgeführt wurde, wurden die Oberflächenereignisse durch Oberflächenplasmon-Resonanzspektroskopie überwacht, deren Ergebnisse in der [Fig. 1](#) gegeben sind. Nach dem Montieren der funktionalisierten Erfassungsvorrichtung in dem SPR-Gerät wurde die Sensoroberfläche mit 10 mM HEPES-Puffer für ungefähr fünf Minuten inkubiert. Dann wurde der HEPES-Puffer gegen eine EDC-(20 mg/ml)-NHS (4 mg/ml)-Lösung in Wasser ausgetauscht. Nach fünf Minuten Aktivierung wurde die EDC/NHS-Lösung gegen eine Albumin-Lösung (2 mg/ml in 10 mM HEPES) ausgetauscht und es wurde eine Immobilisierungszeit von 15 Minuten verwendet. Dann wurde die Sensoroberfläche mit HEPES-Puffer gespült und es wurde die Stabilität des immobilisierten Albumins in dem HEPES-Puffer für drei Minuten überwacht, wonach der Spülvorgang mit HEPES-Puffer wiederholt wurde. Um die Stabilität des immobilisierten Albumins in 0,1 N HCl zu untersuchen wurde der HEPES-Puffer durch 0,1 N HCl ersetzt und die Sensoroberfläche wurde in dieser Lösung für drei Minuten inkubiert, wonach 0,1 N HCl durch frisches 0,1 N HCl ersetzt wurden und die Messung für drei Minuten fortgesetzt wurde. Dann wurde die Oberfläche mit 0,1 N HEPES-Puffer gespült, es wurde wiederum eine Inkubation der Sensoroberfläche in diesem Puffer für letzte fünf Minuten durchgeführt.

[0045] Die Ergebnisse zeigen, dass bei Aktivierung der Sensoroberfläche mit EDC/NHS und darauf folgender Immobilisierung von Albumin und Spülen mit HEPES-Puffer die Antwort mit ungefähr 700 Milligrad steigt, was die Immobilisierung von Albumin auf der COOH-Funktionssensorfläche anzeigt. Das Spülen der Oberfläche mit 0,1 N HCl führte nur zu einer Verminderung des Signals um ungefähr 10 Milligrad, zeigt, dass die Albumin-Immobilisierung sehr stabil ist.

[0046] Die Erfindung ist nicht auf die vorstehende Beschreibung begrenzt; die beantragten Rechte sind vielmehr durch die folgenden Patentansprüche bestimmt.

Patentansprüche

1. Vorrichtung zur Untersuchung der Reaktionen zwischen interaktiven chemischen und/oder biologischen Spezies, wobei die Vorrichtung aufweist:

- ein Substrat und
- eine Plasmaschicht, die auf dem Substrat abgeschieden ist,

dadurch gekennzeichnet, dass das Substrat seinerseits einen Film aus Metall mit freien Elektronen, im Wesentlichen bestehend aus Gold, aufweist, und wobei die auf dem Film aus Metall mit freien Elektronen abgeschiedene Plasmaschicht eine oder mehrere Schwefelverbindungen enthält.

2. Vorrichtung nach Anspruch 1, wobei die abgeschiedene Plasmaschicht ein oder mehrere chemische und/oder biologische Funktionsgruppen enthält.

3. Vorrichtung nach Anspruch 2, weiterhin mit einer oder mehreren nass chemisch abgeschiedenen Schicht(en), die auf der abgeschiedenen Plasmaschicht angeordnet ist oder sind.

4. Vorrichtung nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die Plasmaschichten ein oder mehrere Aminoverbindungen enthalten.

5. Vorrichtung nach Anspruch 1 bis 4, wobei die Schwefelverbindungen Thiole, Sulfide und/oder Disulfide

enthalten und vorzugsweise Dialkylsulfide sind.

6. Vorrichtung nach Anspruch 1 bis 5, wobei das Substrat im Wesentlichen aus Gold besteht.

7. Verfahren zum Schaffen einer Vorrichtung zum Untersuchen der Reaktionen zwischen interaktiven chemischen- und biologischen Spezies, wobei das Verfahren die Schritte aufweist: Vorsehen eines vorgewählten Substrats, wobei das Substrat seinerseits einen Film aus Metall mit freien Elektronen aufweist, das im Wesentlichen aus Gold besteht, und Anordnen einer Schicht auf dem Goldfilm durch Plasmaabscheidung, wobei die Schicht ein oder mehrere Schwefelverbindungen enthält.

8. Verfahren nach Anspruch 7, wobei die Plasmaschicht direkt auf den Metallfilm abgeschieden wird, der auf dem Substrat angeordnet ist.

9. Verfahren nach Anspruch 7 oder 8, wobei das Plasma aus einem Monomer/Oligomer/Polymer in Gasform abgeschieden wird, vorzugsweise einem Monomer, wobei das Monomer gesättigt, partiell gesättigt oder ungesättigt ist.

10. Verfahren nach einem der Ansprüche 7 bis 9, wobei das Substrat einem Vorreinigungsschritt unterzogen wird, mit Vorbehandeln des Substrats mittels eines Plasmaätzschrittes vor dem Plasmaabscheidungsschritt, wobei der Vorreinigungsschritt vorzugsweise eine Vorbehandlung mit Luftplasma umfasst.

11. Verfahren nach einem der Ansprüche 7 bis 10, wobei das Gasplasma unter den folgenden Bedingungen abgeschieden wird:

- Entladungsleistung von bis zu 5000 W, vorzugsweise bis zu 500 W,
- Belichtungsdauer bis zu 1000 s, vorzugsweise bis zu 100 s,
- Plasmagasstrom bis zu 10000 cm³/min, vorzugsweise bis zu 100 cm³/min,
- Druck bis zu 10⁵ Pa (1 bar), vorzugsweise von 0,1–5000 Pa (0,001–50 mbar),
- einer Frequenz, die DC, AC, RF und MW abdeckt, vorzugsweise zwischen 2–60 Mhz.

12. Verfahren nach Anspruch 11, wobei die Entladungsleistung auf das Plasma gepulst wird, wobei die Pulsentladungen getrennt sind durch:

- bis zu 1000 s, vorzugsweise bis zu 100 s.

13. Verfahren nach Anspruch 11 oder 12, wobei das Substrat in einem Nachglühen behandelt wird.

14. Verfahren nach Anspruch 12 oder 13, wobei auf die Pulsentladung folgend das Substrat mit einem vorgewählten Gas nachbehandelt wird, welches Gas wahlweise die eine oder mehrere Funktionsgruppen enthält, die plasmaabgeschieden worden sind.

15. Verfahren zum Schaffen einer Vorrichtung gemäß einem der vorstehenden Ansprüche 7 bis 14, das für die Untersuchung der Reaktionen zwischen interaktiven biologischen/chemischen Spezies mittels Oberflächenplasmon-Resonanzspektroskopie geeignet ist, wobei das Verfahren die Schritte aufweist:

- Vorwählen eines Metallsubstrats mit freien Elektronen, wobei das Metallsubstrat dafür geeignet ist, eine Untersuchung durch die Oberflächenplasmon-Resonanzspektroskopie zu ermöglichen, Anordnen einer ersten vorgewählten Funktionsgruppenspezies auf dem Metallsubstrat mit freien Elektronen mittels Plasmaabscheidung, wobei die erste Funktionsgruppenspezies das Metallsubstrat mit freien Elektronen vor einer zweiten Funktionsgruppenspezies schützt, deren Interaktion mit der plasmaabgeschiedenen, ersten Funktionsgruppenspezies untersucht werden kann, wodurch unerwünschte Interaktionen zwischen dem Metallsubstrat mit freien Elektronen und der zweiten Funktionsgruppenspezies verhindert werden und welche erste Funktionsgruppenspezies eine gewünschte Funktionalität für die zweite Funktionsgruppenspezies bereitstellt, und
- darauf folgendes Anordnen einer zweiten Funktionsgruppenspezies auf der plasmaabgeschiedenen Schicht der ersten Funktionsgruppenspezies, worauf die Interaktion zwischen den ersten und zweiten Funktionsgruppenspezies mittels Oberflächenplasmon-Resonanzspektroskopie untersucht werden kann.

16. Verfahren nach Anspruch 15, wobei vor dem Aussetzen der zweiten Funktionsgruppenspezies eine biologisch chemische Funktionsschicht nass chemisch auf der plasmaabgeschiedenen, ersten Funktionsgruppenspezies angeordnet wird, wobei die nass chemisch angeordnete Funktionsschicht bezüglich ihrer Spezifität für die zweite Funktionsgruppenspezies und zur Verhinderung von nicht spezifischen Interaktionen mit der zweiten Funktionsgruppenspezies vorgewählt ist.

17. Verfahren zum Untersuchen der Interaktion beispielsweise der Echtzeitoberflächeninteraktion von vorbestimmten chemischen und/oder biologischen Spezies, mit den Schritten Analysieren der Interaktion zwischen den Spezies, die auf der Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6 angeordnet sind.

18. Verwenden einer Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6 zum Untersuchen der Reaktion zwischen chemisch interaktiven Spezies und insbesondere zur Verwendung in SPR.

19. Verwendung einer Vorrichtung zum Untersuchen der Reaktionen zwischen interaktiven biologischen chemischen Spezies mittels Oberflächenplasmon-Resonanzspektroskopie, wobei die Vorrichtung aufweist: ein vorgewähltes Metallsubstrat mit freien Elektronen und eine vorgewählte plasmaabgeschiedene Schicht, die auf dem Metallsubstrat mit freien Elektroden angeordnet ist, wobei die plasmaabgeschiedene Funktionsgruppenspezies bezüglich ihres Anhaftvermögen an dem Metallsubstrat mit freien Elektronen und bezüglich ihrer Spezifität für weitere Funktionsgruppenspezies gewählt ist, wodurch die Interaktion zwischen diesen mittels Oberflächenplasmon-Resonanzspektroskopie untersuchbar ist, wobei das vorgewählte Metallsubstrat mit freien Elektronen im Wesentlichen aus Gold besteht und wobei die plasmaabgeschiedene Schicht eine oder mehrere Schwefelverbindungen enthält.

Es folgt ein Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

Fig. 1

