



Doctoral Thesis

## Thin-film bulk acoustic resonators for biomolecular interaction analysis

**Author(s):**

Nirschl, Martin

**Publication Date:**

2011

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-006831772> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Doctoral Thesis ETH No. 19703

# **Thin-film Bulk Acoustic Resonators for Biomolecular Interaction Analysis**

A dissertation submitted to the  
ETH ZÜRICH

For the degree of  
Doctor of Sciences  
(Dr. sc. ETH Zürich)

Presented by  
Martin Nirschl  
MSc. Nanotechnology  
born on January 2, 1980

accepted on the recommendation of  
Prof. Dr. Janos Vörös, examiner  
Prof. Dr. Fredrik Höök, co-examiner  
Matthias Schreiter, co-examiner

May, 2011

## Abstract

While FBARs have been used for decades in mobile communications and hundreds of millions have been sold for use in mobile phones or GPS devices, their usage as a sensor is rather novel. Because the FBAR's attributes such as its resonant frequency change if mass is added on top, the FBAR can be used for any application where an adsorbate on top needs to be detected or quantified. FBAR sensors can work in air or in liquid. FBAR sensors in air could be used as gas sensors (e.g. humidity or CO<sub>2</sub> sensors), detectors for explosives or drugs or as so-called electronic noses, which detect volatile organic compounds (VOC) such as odours.

FBARs might be used for applications in liquid such as the detection of bacteria or the monitoring of water quality or liquids in industrial processes. Furthermore, the FBAR can be used to detect substances such as proteins or other types of disease marker in bodily fluids (e.g. blood or saliva). This might be useful in either diagnostics or for point-of-care devices providing they fulfil certain criteria such as sufficient sensitivity. An example of a point-of-care device would be a handheld device that a patient could use to determine information about his or her health status from a drop of blood. The device would measure the concentration of certain substances in the blood, for example cancer markers. A further application might be the area of drug discovery and drug development. In this area the FBAR could be used to monitor the interaction between molecules such as a drug candidate and a disease target.

This thesis concentrates on monitoring interactions between macromolecules such as proteins or DNA using the FBAR, as they currently look like the most promising types of application. The main focus was the development of the technology towards applications in drug discovery/development, a field in which the FBAR technology appears extremely promising.

To this end, two main goals were established: Firstly, the understanding of the design rules for the FBAR as a mass sensor, and their utilization in improving the design, and secondly the use of the FBAR in performing measurements closer to potential applications. These two goals are strongly coupled; the design considerations inform how tests for potential applications should be performed and practical experience from the application tests can be used to improve the design process.

To learn about the FBAR behaviour a variety of solid materials was deposited on top. The thicknesses of the material were varied from being thin compared to the resonator to thicknesses that are in the range of the thickness of the resonator (i.e. from few nanometres up to some hundreds of nanometres) and thus overload the FBAR. Conclusions about the acoustic properties of the adsorbate were then drawn from the resonator response. E.g. in a test measurement at a resonant frequency of around 800 MHz it was found that the acoustic properties of carbon nanotubes (CNTs) are interesting as a coating material in the FBAR due to their low acoustic impedance. Using materials with low acoustic impedance generally increases the mass sensitivity of acoustic devices.

The first test of applications consisted of protein detection using an appropriate antibody as a surface functionalisation. Similarly, specific sequences of short DNA segments were also detected: For this, the FBAR was functionalised with strands complementary to the target DNA molecules. With two different functionalisations available, two different DNA sequences could be detected selectively from buffer and diluted human blood serum.

As a first demonstration of multiplexed measurement, two resonators functionalised with different antibodies were simultaneously read-out. When the corresponding antigens were added one after the other, only the resonator with the complementary functionalisation showed a binding signal.

In another measurement, the adsorption of S Layer proteins to the gold surface of the sensor was studied. A concentration-dependent adsorption behaviour was found and in the long term measurement (> 2h) a recrystallisation process was detected.

By comparing the FBAR measurement results of the adsorption of both a lipid bilayer and a polyelectrolyte multilayer with the results obtained by quartz crystal microbalance, conclusions about the influence of a higher operating frequency could be drawn.

For thick films it was found that, due to the approximately two order of magnitude higher resonant frequency, the FBAR is significantly more sensitive to viscoelastic properties of the adsorbate than to changes in layer thickness.

The FBAR reached a new level when it was combined with a CMOS read-out system. This allowed the simultaneous read-out of 64 resonators. In a first measurement all resonators were functionalised individually using a nanospotter with different single stranded DNA strands and the hybridisation of the complementary sequences was followed on all pixels in real-time.

The last part of the thesis describes an initial attempt to demonstrate that it is possible to monitor conformation changes with the FBAR. The conformational changes of a model protein, calmodulin, upon subsequent binding of calcium and a peptide were investigated. From the FBAR response both mass adsorption and a conformational change of the calmodulin were visible.

The simulations and measurements in this thesis improved the understanding of the device and the close-to-application experiments helped to evaluate the performance of the FBAR as a biosensor.

## Zusammenfassung

Während akustische Dünnschichtresonatoren (FBAR) seit Jahrzehnten in Geräten zur mobilen Kommunikation verwendet worden sind und auch Hunderte von Millionen verkauft worden, etwa für den Einsatz in Mobiltelefonen oder GPS-Geräten, ist der Einsatz von Dünnschichtresonatoren als Sensor relativ neu. Da sich die Eigenschaften des FBARs wie z.B. die Resonanzfrequenz sich ändert, wenn eine Masse an der Oberfläche des FBAR adsorbiert wird, kann der FBAR prinzipiell in jeder Anwendung eingesetzt werden in dem die Anlagerung einer Substanz an der Oberfläche nachgewiesen oder quantifiziert werden muss. Diese Sensoren können sowohl in Luft als auch in Flüssigkeiten betrieben werden. FBAR Sensoren in Luft könnten Gassensoren (z. B. Feuchtigkeits- oder CO<sub>2</sub>-Sensoren), Detektoren für Sprengstoff oder Drogen sein oder als eine sogenannte elektronische Nase dienen, die flüchtige organische Verbindungen (VOC) wie etwa Gerüche erkannt werden.

FBARs könnten auch in Flüssigkeit eingesetzt werden, wie etwa zum Nachweis von Bakterien oder zur Überwachung der Wasserqualität oder der Qualität von anderen Flüssigkeiten in industriellen Prozessen. Darüber hinaus könnte der FBAR verwendet werden, um Substanzen wie Proteine oder andere Arten von Krankheitsmarkern in Körperflüssigkeiten (z. B. in Blut oder Speichel) zu erkennen. Dies kann entweder in der Diagnostik oder für sogenannte „Point-of-Care“ Geräte nützlich sein. Ein Beispiel für eine Point-of-Care-Gerät wäre etwa ein tragbares Gerät, das ein Patient verwenden könnte, um Informationen über seine Gesundheitszustand aus einem Tropfen Blut bestimmen. Das Gerät misst dann die Konzentration einer bestimmten Substanz im Blut, z. B. eines Krebsmarkers. Ein weiteres Anwendungsgebiet könnte die Wirkstoffforschung und Wirkstoffentwicklung werden. In diesem Bereich könnte der FBAR verwendet werden, um die Wechselwirkung zwischen Molekülen, zum Beispiel zwischen eines potentiellen Wirkstoffes und einer pharmazeutischen Zielstruktur zu überwachen.

Die vorliegende Arbeit konzentriert sich auf die Überwachung von Wechselwirkungen zwischen Makromolekülen wie Proteinen oder DNA unter Verwendung der FBAR Technologie. Der Schwerpunkt wurde dabei auf die Untersuchung der Technologie zur Anwendung in der Wirkstoffforschung und Wirkstoffentwicklung zu entwickeln.

Um dieses Ziel zu erreichen gibt es zwei Hauptaugenmerke, die wichtig sind: Erstens die Design-Regeln für den FBAR als Massesensor zu verstehen und das Design dementsprechend zu verbessern und anzupassen. Zweitens die Durchführung von Messungen mit dem FBAR, die möglichst anwendungsorientiert sind. Diese beiden Ziele sind stark miteinander verwoben. Von den Designüberlegungen wurde gelernt, wie Messungen mit dem FBAR durchführen sind und von den praktischen Erfahrungen bei der anwendungsnahen Tests wurden Kenntnisse gewonnen, wie das Design angepasst und verbessert werden sollte.

Um herauszufinden, wie sich das Verhalten des Sensors ändert wenn verschiedene Materialien an der Oberfläche adsorbiert werden, wurde eine Messung durchgeführt in der dünne Festkörperschichten auf den FBAR abgeschieden wurden. Dabei wurden die Dicken der Materialien variiert von Dicken, die viel dünner als die Dicke des FBAR sind bis hin zu Dicken die im Bereich der Dicke des FBAR liegen. Aus dem Reagieren des Resonators auf die Adsorption der Materialien konnten Schlussfolgerungen über die akustischen Eigenschaften des adsorbierten Materials gezogen werden. In einer weiteren Messung die diese Methode anwendete wurde festgestellt, dass die akustischen Eigenschaften (eine sehr niedrige Impedanz) von Kohlenstoffnanoröhren sehr

interessant als Material für den FBAR sind. Materialien mit niedrigen akustischen Impedanzen sind interessant, da sie die Massensensitivität von akustischen Resonatoren erhöhen können.

Als ersten anwendungsnahen Tests wurde ein Test zum Nachweis eines Proteins und von DNA ausgewählt. Der FBAR wurde dazu mit einer Oberflächenchemie behandelt, welche es ermöglicht, DNA mit einer bestimmten Sequenz aus Pufferlösung oder verdünntem Blutserum heraus zu detektieren. Mit den zwei zur Verfügung stehenden unterschiedlichen Funktionalisierungen, war es möglich, zwei verschiedene DNA-Sequenzen selektiv aus Puffer und verdünntem humanem Blutserum nachgewiesen werden.

Als erste Demonstration einer gleichzeitigen Durchführung von verschiedenen Messungen auf mehreren FBARs wurden zwei Resonatoren gleichzeitig angeschlossen und mit verschiedenen Antikörpern funktionalisiert. Als die entsprechenden Antigene eines nach dem anderen über den Sensor gespült wurden, zeigte nur der Resonator mit der komplementären Funktionalisierung ein messbares Signal. In einer weiteren Messung wurde die Adsorption von S-Layer Proteinen an der Goldoberfläche des Sensors untersucht. Ein konzentrationsabhängiges Adsorptionsverhalten konnte gefunden werden und in Langzeitmessungen (> 2h) konnte die Rekristallisation des Proteins an der Oberfläche nachgewiesen werden.

Durch den Vergleich der FBAR Messergebnisse der Adsorption von Vesikeln am Sensor und einer Polyelektrolyt-Multischicht mit den Ergebnissen der gleichen Messungen auf dem QCM konnten Schlussfolgerungen über den Einfluss der höheren Resonanzfrequenz, welches der FBAR gegenüber des QCMs hat, gezogen werden könnten. Es wurde festgestellt, dass der FBAR aufgrund seiner höheren Resonanzfrequenz deutlich empfindlicher gegenüber der viskoelastischen Eigenschaften des adsorbierten Material ist, wenn das adsorbierte Material höhere Schichtdicken erreicht. Die FBARs zeigen eine besondere Stärke, wenn sie mit Hilfe einer CMOS-Schaltung ausgelesen werden. Mit dieser Art von Ausleseschaltung konnten bei einem Chip mit 64 FBAR Resonatoren alle Resonatoren gleichzeitig gelesen werden. In einer ersten Messung wurden alle Resonatoren einzeln mit einem Nano-Drucker mit einer DNA-Funktionalisierung bedruckt und die Hybridisierung der DANN Stränge wurde für alle Pixel in Echtzeit verfolgt.

Im letzten Teil der Arbeit wurde nicht nur die Adsorption von Proteinen über deren Masse gemessen, sondern auch die bei der Adsorption stattfindende Änderung der Struktur des Proteins untersucht. Am Beispiel des Proteins Calmodulin, welches bei Anbindung von Kalzium oder ein Peptides seine Struktur ändert wurde eine Testmessung durchgeführt. Aus den Messergebnissen des FBARs konnte sowohl eine Massenadsorption als auch eine Strukturänderung des Calmodulin herausgelesen werden.

Die Simulationen und Messungen in dieser Arbeit haben das Verständnis der FBAR Technologie erhöht und mit Hilfe der Durchführung der applikationsnahen Testmessungen könnte die Leistungsfähigkeit des FBAR als Biosensor erfolgreich bewertet werden.