



**HAL**  
open science

# Détection directe d'événements chimiques et biologiques en milieu liquide sur nanostructures de silicium

Cécile Halté

► **To cite this version:**

Cécile Halté. Détection directe d'événements chimiques et biologiques en milieu liquide sur nanostructures de silicium. Biotechnologies. Université de Grenoble, 2009. Français. NNT: . tel-00693882

**HAL Id: tel-00693882**

**<https://theses.hal.science/tel-00693882>**

Submitted on 3 May 2012

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**UNIVERSITE JOSEPH FOURIER – GRENOBLE I  
SCIENCES ET GEOGRAPHIE**

**ECOLE DOCTORALE CHIMIE ET SCIENCES DU VIVANT**

**THESE**

*Pour obtenir le grade de*

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITE JOSEPH FOURIER**

Spécialité : Chimie / Biologie

*Présentée et soutenue publiquement par*

**Cécile HALTE**

*Le 15 octobre 2009*

---

**DETECTION DIRECTE D'ÉVÉNEMENTS  
CHIMIQUES ET BIOLOGIQUES EN MILIEU LIQUIDE  
SUR NANOSTRUCTURES DE SILICIUM**

---

**Composition du jury**

M. Thierry BARON	Directeur de thèse
M. Rabah BOUKHERROUB	Rapporteur
M. Franz BRUCKERT	Examineur
M. Eric CHANIE	Examineur
M. Guillaume DELAPIERRE	Co-directeur de thèse
M. Christophe VIEU	Rapporteur
Mme Barbara DE SALVO	Invité

**Laboratoire de Fonctionnalisation et Chimie de Surface  
CEA – Grenoble**



## **REMERCIEMENTS**

---

---

Jour J ... + 6 mois

Eh oui, cela fait 6 mois que j'ai soutenu ma thèse, et 6 mois que je tergiverse, que je repousse, que je décale, le délicat moment d'écrire mes remerciements. Je vous entends déjà vous dire : « Mais pourquoi, c'est si dur de remercier les personnes qui t'ont aidée pendant tes 3 années de thèse, ainsi que celles qui sont présentes depuis bien plus longtemps ? ». Non, ce n'est pas dur de leur écrire merci, et j'espère d'ailleurs leur avoir déjà témoigné ma gratitude oralement ; ce qui est dur c'est de leur dire merci à leur juste valeur, c'est d'écrire des remerciements qui soient dignes de ces personnes si importantes pour moi. Mais allez, je me lance, et vous prie par avance de m'excuser si vous pensez, à la fin de la lecture de cette prose, que 6 mois pour pondre ça, c'est quand même un peu exagéré !

Jour J

Le 15 octobre 2009, officiellement en congés payés de mon poste chez Isis, je commence à 13h30 la soutenance orale de mes 3 années de travail de thèse devant un jury attentif (si si je vous assure, même le membre que je ne nommerai pas et qui finissait son repas ☺).

Cette soutenance n'aurait pas été possible sans la lecture de mon manuscrit par mes deux rapporteurs, Messieurs Vieu et Boukherroub, que je tiens à remercier pour avoir rédigé ce Saint Graal du thésard, ces quelques feuilles qui récompensent les mois acharnés de rédaction, ces rapports finissant par la formule consacrée : « J'autorise Melle Untelle à soutenir oralement son travail de thèse ». De ces rapports je n'ai gardé que le meilleur, compliments qui, au retour de mon mois de vacances (bien mérité), m'ont remotivée pour attaquer la phase de préparation de la soutenance !

Je remercie également M. Chanie d'avoir accepté d'examiner sa thèse, et de m'avoir reçue dans ses locaux, à Toulouse ... petite coupure ensoleillée en milieu de rédaction.

Enfin un grand merci à M. Bruckert, président de mon jury, pour m'avoir attribué le grade de docteur en physique, qui correspond sans doute plus à mes compétences, même si c'est celui en chimie et sciences du vivant que j'ai réellement obtenu.



Mes remerciements pour ce jour de soutenance ne sauraient être complets si je n'évoquais ici quelques petits éléments techniques ...

Merci au micro-cravate et au pointeur laser d'être entrés quelques fois en conflit pendant la soutenance, ce qui a contribué à maintenir mon auditoire réveillé. Merci aux ordinateurs Dell (prêtés par mes sponsors officiels, les sociétés Isis et Total) de se mettre en pause au bout d'une demi-heure, ce qui a permis à tout le monde d'admirer alternativement écran noir, logo Total, et fond d'écran personnel. Merci à ces technologies du futur de nous avoir offert une petite pause au milieu des nanofils et autre chimie APTES, et je ne sais pas pourquoi, mais je suis sûre que je ne suis pas la seule à les remercier !

Pour tous les jours compris entre jour J – 3 ans et jour J

« J'ai l'honneur de vous annoncer que vous êtes acceptée en thèse au CEA Grenoble sur le sujet : « Détection directe d'événements biologique sur nanofils » ...

C'est par ce courrier, signé d'un certain haut commissaire, qu'a commencé cette aventure. Plus précisément, c'est par le choix de Françoise Vinet, chef du laboratoire LFCM, Guillaume Delapierre, mon futur encadrant, et Thierry Baron, mon futur directeur de thèse, de me faire confiance pour mener ce projet à bien. Merci à eux de m'avoir offert la possibilité de réaliser ma thèse sur ce sujet innovant, passionnant et motivant par le nombre de domaines différents auxquels il fait appel, même si cela a pu être décourageant aussi parfois ... Mais heureusement j'ai, tout au long de ces 3 années, été entourée par de nombreuses équipes, et l'heure est venue pour moi de les remercier, en essayant de n'oublier personne !

Merci à Barbara De Salvo, et à son équipe, plus particulièrement Marc Gely et Julien Buckley, de m'avoir fait découvrir le monde de la miniaturisation, que dis-je, de la nanoturisation (comment ça, ça n'existe pas comme mot ?). Merci pour ces longues conversations à propos de trenching, front end, back end et autre strimming, jargon complètement incompréhensible lors de mon arrivée, et avec lequel j'ai appris à me familiariser grâce aux explications toujours patientes de Marc. J'en profite pour remercier toutes les personnes qui ont eu dans les mains le projet NEMO (oui, oui, comme le poisson de Disney, même si quand on l'a trouvé ça voulait certainement dire quelque chose avec Nanowire ...), et qui ont fait en sorte que celui-ci voit le jour, des dessinateurs de masque (Chantal Beccia et Olivier Gully) aux techniciens de salle blanche (Anthony Di Luca), en passant par les ingénieurs filières. Merci d'avoir accepté un projet qui « sortait des clous » et de m'avoir fourni des photos MEB de nanofils qui font pâlir d'envie tous les microtechniciens de la planète ! Merci enfin Marc pour ta très grande humanité, pour ne m'avoir jamais fermé

ta porte, pour ta disponibilité à toute épreuve et pour ton écoute lors des moments de « moins bien » ...

Grâce à toute cette équipe du LTMA, j'ai obtenu de superbes nanofils prêts à l'emploi mais ... et oui il y a toujours un mais ... toutes ces personnes ont dû travailler pendant deux ans pour sortir les dispositifs finaux ! Pendant ce temps, je ne me suis pas tournée les pouces, je me suis plutôt tournée vers les personnes de l'institut Néel, et plus particulièrement de la salle blanche Nanofab. Un énorme merci à Thierry Fournier et son équipe pour m'avoir accueillie avec tant de gentillesse et m'avoir tout appris des étapes de fabrication de microélectronique, de la lithographie UV, mais aussi e-beam, du dépôt de métal à la gravure RIE. J'ai pu voir l'envers du décor, manipuler des machines qui restent souvent des boîtes noires, et fabriquer mes propres nanofils (bon ok ils étaient pas nano – nano, mais ils étaient tout petits quand même !) qui fonctionnaient ! En plus, ils ont pris soin d'entretenir ma forme physique, 2km de vélo aller et 2 km retour pour aller manipuler, et ça par n'importe quel temps !

On dispose donc maintenant de nanofils, et même mieux, de deux générations successives de nanofils ! C'est pas le tout, mais il faut les tester ces fils, et pour cela il y a un banc de mesure à monter ... Merci à Xavier Jehl pour ses conseils sur le gros appareil électrique baptisé lock-in, ainsi qu'à Alain Bourgerette, Jean-François Bêche et Michaël Palmieri pour tous leurs conseils éclectiques sur la partie électrique ! Merci Claude Chabrol pour ton bon sens, tes réponses à toutes mes questions farfelues, et surtout pour m'avoir fait tant rire avec ton intérêt pour nos ragots ... Merci aussi à Frédérique Mittler et Jean-Luc Pesce pour leur aide sur toute la partie fluïdique.

Mais avant de pouvoir tester ces dispositifs, petit tour par la case chimie ! Alors là, pour le coup, j'étais vraiment totalement incompétente en arrivant en thèse, et malheureusement je pense que je le suis toujours ! Pourtant ce n'est pas faute d'avoir été en contact avec des chimistes de tout poil, chimistes de surface, électrochimistes, chimistes analytiques, chimistes organiques, chimistes des matériaux ... qui chacun, tour à tour, ont essayé de m'instruire et de m'initier à cet art étrange qu'est la chimie. Je les en remercie, car aujourd'hui, grâce à eux, je peux briller en société (oui oui c'est super utile), mais ne m'en demandez pas plus : pour les questions chimiques du jury, j'ai demandé le joker « appel à un ami » ! Dans le désordre, je tiens donc à remercier tous les chimistes de mon entourage, tous ont participé de manière directe ou indirecte à ma « formation », certains plus que d'autres, je pense qu'ils sauront se reconnaître ! Merci à Alain, Guillaume, Guillaume (ben oui il y a en a deux !), Agnès, Mathieu, Régis, Aude, Caroline, Virginie, Fabien, Yanxia, Mathilde, Grégory, Thomas, Muriel, Gilles ... et j'espère ne pas en oublier !

Avant la clôture de ce tour d'horizon, je me dois d'évoquer l'équipe packaging, enfermée dans leur petite salle « vitrine de zoo », grâce à qui j'ai appris le sens des mots packaging, capillaire, réticulation, grâce à qui je me suis mise à souder (sans même endommager mes cheveux !!!) ou à câbler (euh bon là j'ai du m'arracher quelques cheveux à l'occasion, mais bon ça repousse ...). Merci donc à Claude (toujours le même), Nadine et Emilie !

Pour les aspects pratiques, je crois que nous avons fait le tour des équipes ... mais en ce qui concerne les aspects théoriques, jamais je n'aurais pu avancer sans les explications et l'aide précieuse de plusieurs personnes. Merci à Julien Buckley, Alexandra Koumela, Gilles Le Carval et Marie-Anne Jaud d'avoir partagé avec moi leurs compétences sur les secrets de la physique des semi-conducteurs. Merci aussi à Alain Glière de m'avoir fait découvrir le monde merveilleux de Comsol (bon sur le merveilleux j'en fais peut-être un peu trop, mais merci de m'avoir donné les clés pour que cela ne soit pas trop ardu). Enfin un immense merci à Pascale Pham, pour tes compétences et explications bien sûr, mais aussi et surtout pour ta présence pendant mes derniers mois de thèse, pour avoir su me remotiver, pour m'avoir montré que l'envie du chercheur pouvait être encore là même au milieu de l'administratif du CEA. Merci pour toutes tes qualités humaines et pour m'avoir consacré une partie de ton temps, ainsi que pour tes conseils précieux lors de la relecture de mon manuscrit.

Enfin, celle sans qui mes résultats n'auraient été que quelques piteuses courbes pas très nettes, celle sans qui mes déplacements au labo pendant les 6 derniers mois de ma thèse auraient été beaucoup plus limités, celle sans qui enfin je n'aurais pas développé un don pour le diagnostic technique au téléphone, je veux bien sur parler de ma stagiaire d'exception, Sarah. Merci à toi d'avoir été si compétente, si avide de connaissances et si désireuse de bien faire. Je te souhaite de trouver, dans ta vie professionnelle comme dans ta vie personnelle, le chemin qui te rendra heureuse.

Ces remerciements ne sauraient être complets si je n'évoquais ici toutes les personnes dont j'ai eu l'immense chance et plaisir de faire connaissance lors de mon aventure de thèse, et qui sont passés du statut de « collègue de travail » à celui d' « amis ».

Je pense tout d'abord à Agnès, qui m'a montré la voie avec une année d'avance. Grâce à ton expérience, j'ai appris à croire jusqu'au bout que les résultats vont arriver et j'ai pu partager avec toi mes déboires sur les « thèses technos ». J'admire ta persévérance qui t'a fait aller jusqu'au bout, alors que tu étais tellement livrée à toi-même, félicitations chère Docteur ! Et un grand merci d'avoir réussi à te libérer pour ma soutenance.

Je pense aussi à Virginie et Caroline, « les filles de chez BD », qui n'ont pas hésité à consacrer à mon travail de thèse leurs dernières heures au CEA avant de s'expatrier à Pont de Claix.

Virginie, petite blonde de 50 kilos toute mouillée, motarde et boxeuse à ces heures perdues ! Un contraste détonnant et payant, et qui te rend tellement attachante. J'ai choisi de calmer mes démons autrement que par la boxe, mais c'était une bonne idée ! J'espère avoir bientôt l'occasion de déguster des diots dans le barbecue de Vincent sur votre futur terrain !

Caro, plus que toute autre personne, tu as su être là dans les moments difficiles, en étant toi-même et en trouvant les mots justes. Je pense que je n'ai pas besoin de te dire à quel point tu as été importante pour moi, et tu l'es toujours. Je vous souhaite à toi et Mehdi tout le bonheur du monde avec votre petit bout de chou à venir ...

Enfin, que serais-je sans toi ? Oui toi, la cellule de crise des thésards en détresse, Aude, Régis, Mathieu (et comment penser à Mathieu sans penser à Aurélie, puisque même avant qu'on ait la chance de la connaître, elle remplissait nos soirées de sa présence téléphonique), les aprem jeux, les journées ski, les soirées savoyardes, les bières Leffe qui laissent des traces, les diners qui, s'ils n'étaient pas parfaits, s'en rapprochaient fortement, et surtout cette présence de tous les jours qui rend plus fort, parce que s'il vaut mieux être seule que mal accompagnée, c'est quand même bien mieux d'être accompagnée par des personnes comme vous.

Aujourd'hui, j'ai une pensée particulière pour toi Aude, parce que la vie a parfois de ces ironies dont on se passerait volontiers. Il faut réussir à trouver le positif dans les événements les plus difficiles à traverser, et je te souhaite, par une formule empruntée à une personne qui m'est très chère, de toujours réussir à trouver le coin de ciel bleu qui permet d'avancer.

Jour J – 23 ans (et des brouettes ...)

Jour J – Mon cher papa m'a écrit un mot de félicitations particulièrement touchant, qui commençait comme ceci :

« Et voilà l'aboutissement de 23 ans d'étude. »

Eh oui, car ce fameux jour J n'est finalement qu'un jour parmi tant d'autres, et que ce qui compte surtout c'est le chemin parcouru pour y arriver, et le chemin qu'il me reste encore à parcourir. Et je voudrais terminer cette difficile tâche des remerciements en ayant une pensée pour tous ceux qui ont été là tous les jours d'avant, et qui seront là tous les jours d'après.

Merci tout d'abord à mes amis, personnes rencontrées au cours de ma thèse que j'ai déjà évoquées, mais aussi celles rencontrées auparavant : Adeline, Steve, Michaël, Tac, Guillaume,

Soizic, Laetitia, cette amitié née pendant nos dures années de prépa a encore de beaux jours devant elle !

Merci aussi à ma marraine, qui me fait confiance depuis que je suis toute petite, et à tous ceux de ma famille qui m'ont toujours soutenue, par une petite carte postale par ci, un coup de fil par là, ou encore par un mail d'encouragement. Même si je ne peux tous vous citer, je pense à vous et vous remercie de votre présence depuis ma naissance, et de tout ce que vous avez fait et faites encore pour moi.

Merci aussi à ma belle-famille, j'aime beaucoup ce terme, parce que j'ai beaucoup de chance, et ma belle-famille est vraiment très belle. En faisant votre connaissance Geneviève, j'ai gagné bien plus qu'une belle-maman dans la relation qui nous unit. Un immense merci à vous et Didier pour la préparation de ce magnifique buffet, ainsi qu'à Thomas et Magalie pour l'aide à la mise en place. Geneviève, je vous l'ai déjà dit, mais c'est le genre de choses que l'on ne dit jamais assez, vous êtes une personne d'exception, et je suis très heureuse d'avoir une aussi belle personne dans mon entourage.

Je veux aussi dire un grand merci à mon grand frère, qui m'a presque toujours ouvert la voie avec 2 années d'avance, mais il m'a abandonnée pour la thèse ce lâcheur ! On n'a jamais eu besoin de beaucoup de mots pour s'entendre et se comprendre, alors je ne pense pas avoir besoin de m'étendre pour que tu saches à quel point je t'admire, mon grand frère !

Sans eux, je ne serai pas là, et je ne pourrais pas écrire ces lignes. Merci à mes parents de m'avoir donné naissance, et tellement plus. Vous avez su me donner la force et l'envie qu'il faut pour avancer dans la vie, vous avez su être présents, tous les jours, et faire toujours passer vos enfants avant vous-mêmes, sans que cela ne représente pour vous un sacrifice. Quand l'heure est venue, vous avez su nous laisser partir pour construire notre propre petit bout de vie. Par votre façon de nous élever, de nous éduquer, de nous encourager, vous avez su construire entre nous quatre des liens que rien ne détruira. J'espère être un jour capable de réaliser ce que vous avez su réaliser ; le plus beau compliment que l'on pourrait me faire, serait de me dire que je vous ressemble.

Maxime, tu as embelli mon existence par ta présence à mes côtés, jour après jour, depuis bientôt 6 années. Tu sais me calmer quand je panique, me faire rire quand je fais la tête, m'encourager quand je n'y crois plus, et surtout tu sais me soutenir quand la vie nous joue des tours. Merci de me tenir la main tous les jours, et de nous faire avancer ensemble dans la vie.





*A ma p'tite maman  
En espérant que,  
de là où tu es aujourd'hui,  
tu continues à être fière de moi*





# TABLE DES MATIERES

<b>ABREVIATIONS.....</b>	<b>19</b>
<b>NOTATIONS.....</b>	<b>23</b>
<b>INTRODUCTION GENERALE .....</b>	<b>27</b>
<b>CHAPITRE I LES LABORATOIRES SUR PUCES .....</b>	<b>31</b>
I.1 LABORATOIRES SUR PUCE.....	32
I.1.1 Concept général.....	32
I.1.2 Historique.....	33
I.1.3 Applications.....	34
I.1.4 Fonctions implantées.....	36
I.1.4.1 Collecte .....	36
I.1.4.2 Préparation .....	37
I.1.4.3 Détection .....	37
I.2 DETECTION D’EVENEMENTS BIOLOGIQUES .....	38
I.2.1 Les enjeux de la détection .....	38
I.2.2 Méthode radioactive.....	39
I.2.3 Méthodes optiques.....	40
I.2.3.1 Fluorescence.....	40
I.2.3.2 Colorimétrie .....	42
I.2.3.3 Chimiluminescence .....	43
I.2.3.4 Résonance plasmonique de surface .....	44
I.2.4 Méthodes électrochimiques .....	45
I.2.4.1 Méthodes indirectes.....	46
I.2.4.2 Méthode directe.....	47
I.2.5 Méthodes mécaniques .....	47
I.2.5.1 Détecteurs à onde acoustique .....	48
I.2.5.2 Cantilevers .....	49
I.2.6 Méthode électrique.....	51
I.2.7 Conclusion.....	51
I.3 DETECTION ELECTRIQUE D’EVENEMENTS BIOLOGIQUES .....	53
I.3.1 Sur microstructures.....	53
I.3.2 Sur nanostructures .....	55
I.4 CONCLUSION : PROBLEMATIQUE ET STRATEGIE .....	57

<b>CHAPITRE II FABRICATION DES EOSFET.....</b>	<b>59</b>
II.1 DIFFERENCES ENTRE MOSFET ET EOSFET .....	60
II.1.1 Introduction rapide au MOSFET.....	60
II.1.2 Canal du transistor .....	61
II.1.2.1 Nanotube ou Nanofil ? .....	62
II.1.2.2 Approche bottom-up .....	63
II.1.2.3 Approche top-down .....	66
II.1.2.4 Choix d'une méthode de réalisation.....	69
II.1.3 Electrodes de source et drain.....	70
II.1.3.1 Contraintes imposées par une utilisation dans un électrolyte.....	70
II.1.3.2 Contraintes imposées par la fonctionnalisation chimique .....	71
II.2 BRIQUES TECHNOLOGIQUES COMMUNES .....	71
II.2.1 Modes de fabrication .....	71
II.2.1.1 Le mode collectif .....	71
II.2.1.2 Le mode puce à puce.....	72
II.2.1.3 Avantages et inconvénients.....	72
II.2.1.4 Conclusions sur le mode de fabrication .....	73
II.2.2 Choix du substrat .....	74
II.2.3 Amincissement du film .....	75
II.3 FABRICATION PUCE A PUCE.....	75
II.3.1 Dopage du substrat.....	76
II.3.2 Métallisation des contacts.....	78
II.3.2.1 Préparation de la puce .....	78
II.3.2.2 Dépôt du métal.....	78
II.3.2.3 Définition des électrodes métalliques .....	79
II.3.3 Nanofils e-beam .....	80
II.3.3.1 Insulateur utilisé.....	80
II.3.3.2 Stratégie d'alignement .....	80
II.3.3.3 Mode de transfert .....	81
II.3.4 Passivation.....	82
II.3.4.1 Choix de la couche de passivation .....	82
II.3.4.2 Alignement .....	82
II.3.4.3 Dispositif final .....	83
II.4 FABRICATION HYBRIDE.....	84
II.4.1 Définition de la zone active.....	85
II.4.1.1 Equipements utilisés .....	85
II.4.1.2 Stratégie d'alignement .....	86
II.4.1.3 Méthode de transfert .....	87
II.4.2 Dopage localisé .....	88
II.4.2.1 Dopage du canal.....	88
II.4.2.2 Dépôt et gravure de la grille.....	89
II.4.2.3 Diminution des résistances d'accès.....	91
II.4.3 Passivation.....	92

II.4.3.1 Dépôt de diélectrique .....	92
II.4.3.2 Planarisation.....	93
II.4.3.3 Ouverture plots et grille .....	94
II.4.4 Métallisation .....	95
II.5 VERS UNE FABRICATION INTEGRALEMENT SUR WAFER.....	96
II.5.1 Choix du métal.....	96
II.5.2 Gravure du métal.....	97
II.5.3 Passivation.....	98
II.6 CONCLUSION .....	98
<b>CHAPITRE III CARACTERISATION DES EOSFET .....</b>	<b>99</b>
III.1 ETUDE THEORIQUE D'UN EOSFET.....	100
III.1.1 Structure d'un EOSFET.....	100
III.1.2 Etude du MOSFET.....	101
III.1.2.1 Structure et principe de fonctionnement .....	102
III.1.2.2 Différents types de MOSFET .....	102
III.1.2.3 Régimes de fonctionnement.....	103
III.1.2.4 Expressions analytiques des principales caractéristiques.....	106
III.1.3 Etude de l'interface électrode – électrolyte.....	108
III.1.4 Fonctionnement d'un EOSFET.....	110
III.1.4.1 Différents types d'EOSFET.....	110
III.1.4.2 Détection d'un phénomène surfacique.....	111
III.1.4.3 Détection d'un phénomène local .....	114
III.2 BANC DE MESURE.....	115
III.2.1 Banc de mesure électrique.....	115
III.2.1.1 Interface dispositifs – appareils de mesure .....	115
III.2.1.2 Appareils et logiciels de mesure .....	116
III.2.2 Banc de mesure fluidique .....	117
III.2.2.1 Interface dispositifs – appareils de délivrance .....	117
III.2.2.2 Appareils et logiciel de délivrance.....	119
III.3 METHODE DE MESURE.....	120
III.3.1 Valeur mesurée .....	120
III.3.1.1 Mesure d'un changement de tension de seuil .....	120
III.3.1.2 Mesure d'un changement de courant de drain .....	121
III.3.1.3 Mesure d'un changement de tension de grille.....	122
III.3.2 Point de polarisation .....	123
III.3.2.1 Polarisation de grille.....	123
III.3.2.2 Polarisation de drain .....	124
III.3.3 Fréquence d'excitation .....	126
III.3.3.1 Réponse du dispositif.....	126
III.3.3.2 Possibilité d'intégration .....	128
III.3.4 Conclusion.....	129
III.4 CARACTERISATIONS DES DISPOSITIFS .....	129

III.4.1	<i>Caractérisations à l'air</i> .....	130
III.4.1.1	Reproductibilité à l'air .....	130
III.4.1.2	Influence du packaging .....	133
III.4.2	<i>Caractérisations en milieu fluide</i> .....	134
III.4.2.1	Reproductibilité en milieu fluide .....	134
III.4.2.2	Influence des éléments extérieurs .....	136
III.4.2.3	Influence de la salinité de l'électrolyte .....	138
III.4.2.4	Influence du débit de l'électrolyte .....	141
III.5	CONCLUSION .....	145
<b>CHAPITRE IV APPLICATIONS DES EOSFET</b> .....		<b>147</b>
IV.1	FONCTIONNALISATION CHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DES EOSFET .....	148
IV.1.1	<i>Etat de l'art</i> .....	148
IV.1.2	<i>Silanisation chimique</i> .....	151
IV.1.2.1	Chimie APTES .....	151
IV.1.2.2	Chimie EHTES .....	152
IV.1.3	<i>Caractérisation des surfaces obtenues</i> .....	153
IV.1.3.1	Mesure ellipsométrique .....	154
IV.1.3.2	Mesure de l'angle de contact .....	154
IV.1.3.3	Mesure par spectroscopie par rayons X .....	154
IV.1.3.4	Mesure par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier .....	157
IV.1.3.5	Imagerie AFM .....	160
IV.1.4	<i>Greffage des oligonucléotides présynthétisés</i> .....	161
IV.1.4.1	Modèle biologique utilisé .....	161
IV.1.4.2	Immobilisation des sondes .....	163
IV.1.4.3	Hybridation de la cible et détection en fluorescence .....	165
IV.1.4.4	Influence du tampon d'immobilisation .....	168
IV.1.4.5	Influence de la température d'hybridation .....	169
IV.2	DETECTION ELECTRIQUE .....	170
IV.2.1	<i>Principe</i> .....	171
IV.2.1.1	Détection d'un changement de pH .....	171
IV.2.1.2	Détection d'une réaction d'hybridation ANP-ADN .....	175
IV.2.2	<i>Importance de la stabilité</i> .....	176
IV.2.2.1	Preuve de principe .....	176
IV.2.2.2	Différents comportements observés .....	177
IV.2.2.3	Une influence de l'oxyde ? .....	179
IV.2.2.4	Etude de la stabilité .....	184
IV.2.2.5	Conclusion et perspectives .....	187
IV.2.3	<i>Importance de la salinité de la solution</i> .....	188
IV.2.3.1	Détection d'un changement de pH .....	188
IV.2.3.2	Tests préliminaires de détection d'ADN .....	191
IV.2.3.3	Conclusion et perspectives .....	199
<b>CONCLUSION GENERALE</b> .....		<b>201</b>

<b>ANNEXES .....</b>	<b>205</b>
<b>ANNEXE A    REALISATION DES DISPOSITIFS PUCE A PUCE .....</b>	<b>207</b>
<b>ANNEXE B    DESIGN DES PUCES HYBRIDES .....</b>	<b>213</b>
<b>ANNEXE C    FONCTIONNEMENT DU LOCK-IN.....</b>	<b>217</b>
<b>ANNEXE D    MESURE DE L'ANGLE DE CONTACT.....</b>	<b>219</b>
<b>ANNEXE E    TECHNIQUE DE REFLEXION MULTIPLE INTERNE .....</b>	<b>221</b>
<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>223</b>



## ABREVIATIONS

ADN	Acide DésoxyriboNucléique
AFM	Atomic Force Microscopy – Microscopie à Force Atomique
ANP	Acide Nucléique Peptidique
<i>ANP-C</i>	Acide Nucléique Peptidique Complémentaire
<i>ANP-IM</i>	Acide Nucléique Peptidique 1 Mismatch
<i>ANP-TM</i>	Acide Nucléique Peptidique Totalement Mismatché
APTES	3-aminopropyltriéthoxysilane
BAW	Bulk Acoustic Wave – Onde Acoustique de Volume
CCD	Charge-Coupled Device – Dispositif à Transfert de Charge
CMP	Chemical Mechanical Planarization – Planarisation mécano-chimique
Cy3	Indodicarbocyanine
DAC	Digital-to-Analog Converter – Convertisseur Numérique Analogique
Deep UV	Ultra-Violet Profond
DL	Double Layer – Double Couche
DMSO	Diméthylsulfoxyde
EDI	Eau Déionisée
EHTES	5,6-époxyhexyltriéthoxysilane
ELISA	Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay – Dosage d'immunosorption liée à enzyme
EOS	Electrolyte-Oxide-Semiconductor – Electrolyte-Oxyde-Semiconducteur
FET	Field Effect Transistor – Transistor à Effet de Champ
<i>BIOFET</i>	Biological Field Effect Transistor – Transistor à Effet de Champ Biologique
<i>CHEMFET</i>	Chemical Field Effect Transistor – Transistor à Effet de Champ Chimique
<i>EnFET</i>	Enzymatic Field Effect Transistor – Transistor à Effet de Champ à Enzymes
<i>EOSFET</i>	Electrolyte-Oxide-Semiconductor Field Effect Transistor – Transistor à Effet de Champ Electrolyte-Oxyde-Semiconducteur
<i>GENFET</i>	Genetic Field Effect Transistor – Transistor à Effet de Champ Génétique



<i>ImmunoFET</i>	Immunologic Field Effect Transistor – Transistor à Effet de Champ Immunologique
<i>ISFET</i>	Ion Sensitive Field Effect Transistor – Transistor à Effet de Champ Sensible aux Ions
<i>MOSFET</i>	Metal-Oxide-Semiconductor Field Effect Transistor – Transistor à Effet de Champ Métal-Oxyde-Semiconducteur
FI	Force Ionique
FITC	Fluorescéine isothiocyanate
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy – Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier
HDP CVD	High Density Plasma Chemical Vapour Deposition – Dépôt Chimique en Phase Vapeur Assisté par Plasma Haute Densité
HRP	Horseradish peroxidase
IBE	Ion Beam Etching – Gravure par faisceau d'ions
LED	Diode Electroluminescente
LPCVD	Low Pressure Chemical Vapour Deposition – Dépôt Chimique en Phase Vapeur Basse Pression
MEB	Microscopie Electronique à Balayage
MEMS	Microelectromechanical System – Microsystème Electromécanique
MIBK	Méthyl isobutyl ketone
MIR	Multiple Internal Reflexion – Réflexion Multiple Interne
MOS	Metal-Oxide-Semiconductor – Métal-Oxyde-Semiconducteur
<i>CMOS</i>	Complementary Metal Oxide Semiconductor – Métal Oxyde Semiconducteur Complémentaire
<i>n-MOS</i>	n-type Metal-Oxide-Semiconductor – Métal-Oxyde-Semiconducteur de type n
<i>p-MOS</i>	p-type Metal-Oxide-Semiconductor – Métal-Oxyde-Semiconducteur de type p
$\mu$ TAS	<i>micro</i> Total Analysis System – Système Miniaturisé d'Analyse Totale
NMP	N-Méthyl-2-pyrrolidone
OGM	Organisme Génétiquement Modifié
PBS	Phosphate Buffer Saline – Tampon phosphate
PCR	Polymerase Chain Reaction – Amplification en Chaîne de la Polymérase
PECVD	Plasma Enhanced Chemical Vapour Deposition – Dépôt Chimique en Phase Vapeur Assisté par Plasma
PMMA	Poly(méthylmethacrylate)

POC	Point of Care
PSD	Phase Sensitive Detector – Détecteur Synchronisé en Phase
PSG	Phospho-Silicate Glass – Oxyde dopé au phosphore
QCM	Quartz Crystal Microbalance – Microbalance à Quartz
QD	Quantum Dot
RF	Radio Fréquence
RIE	Reactive Ion Etching – Gravure Ionique Réactive
SAW	Surface Acoustic Wave – Onde Acoustique de Surface
SNAP	Superlattice Nanowire Pattern Transfer – Transfert d'un Tampon d'une Matrice de Nanofils
SOI	Silicon On Insulator – Silicium sur Isolant
SPR	Surface Plasmon Resonance – Résonance Plasmonique de Surface
SSC	Sodium Citrate – Citrate de Sodium
STM	Scanning Tunneling Microscopy – Microscopie à Effet Tunnel
TEOS	Tetraethylorthosilicate
TMAH	Tetramethylammonium hydroxide
u.a.	Unité Arbitraire
UV	Ultra-Violet
VLS	Vapor Liquid Solid – Solide Liquide Vapeur
XPS	X-ray Photoelectron Spectroscopy – Spectroscopie par Rayons X



## NOTATIONS

$a_{H_s^+}$	Activité de $OH^+$ à la surface de l'isolant	
$a_{H_b^+}$	Activité de $OH^+$ dans le volume de la solution	
$bf$	Signal d'un spot de bruit de fond	u.a.
$C_c$	Capacitance de la couche compacte	$F.m^{-2}$
$C_d$	Capacitance de la couche diffuse	$F.m^{-2}$
$C_{dep}$	Capacitance de la couche de déplétion	$F.m^{-2}$
$C_{dl}$	Capacitance de la double couche	$F.m^{-2}$
$C_{ox}$	Capacitance de l'oxyde	$F.m^{-2}$
$C_s$	Capacitance du silicium	$F.m^{-2}$
$[Cl^-]$	Concentration en ions $Cl^-$	$mol.L^{-1}$
$e$	Epaisseur du substrat	m
$E^0(Ag^+/Ag)$	Potentiel standard du couple $Ag - Ag^+$	V
$E_{ref}$	Potentiel de l'électrode de référence	V
$F$	Constante de Faraday	$96485 C.mol^{-1}$
$FI$	Force ionique	$mol.L^{-1}$
$I_D$	Courant de drain	A
$I_{Dsat}$	Courant de saturation	A
$I_{spot}$	Intensité de fluorescence sur un spot	u.a.
$k$	Constante de Boltzmann	$1.38 \times 10^{-23} J.K^{-1}$
$K_a$	Constante d'acidité	
$K_b$	Constante de basicité	
$K_s$	Produit de solubilité	
$L$	Longueur du canal	m

$n^0$	Concentration en ion	$m^{-3}$
$N_s$	Nombre total de sites par unité de surface	$m^{-2}$
$q$	Charge élémentaire	$1.6 \times 10^{-19} \text{ C}$
$Q_{dep}$	Charge de déplétion	$C.m^{-2}$
$Q_{ox}$	Charges localisées dans l'oxyde	$C.m^{-2}$
$Q_{ss}$	Charges à l'interface oxyde/semiconducteur	$C.m^{-2}$
$R$	Rapport signal sur bruit	
$R_e$	Résistance de l'électrolyte	$\Omega$
$R_m$	Amplitude du signal mesuré	V
$R_{min}$	Signal minimum détectable	
$s$	Signal d'un spot hybridé	u.a.
$t_{ox}$	Épaisseur de l'oxyde	m
$T$	Température absolue	298 K
$T_m$	Température de fusion	K
$\vec{u}$	Vecteur vitesse du fluide	$m.s^{-1}$
$V_D$	Tension de drain	V
$V_{Dsat}$	Tension de saturation	V
$V_{FB}$	Tension de bandes plates	V
$V_{FB-EOS}$	Tension de bandes plates EOSFET	V
$V_G$	Tension de grille	V
$V_{PSD1}$	Signal en sortie du PSD 1	V
$V_{PSD2}$	Signal en sortie du PSD 2	V
$V_{ref}$	Amplitude du signal de référence du lock-in	V
$V_{sig}$	Amplitude du signal mesuré	V
$V_T$	Tension de seuil	V
$V_{T-EOS}$	Tension de seuil EOSFET	V
$W$	Nombre de réflexions	
$[X]$	Concentration surfacique de l'espèce X	$m^{-2}$
$X$	Composante en phase du signal mesuré	V

$Y$	Composante en quadrature du signal mesuré	V
$z$	Nombre de charge de l'espèce ionique	
$Z$	Largeur du canal	m
$Z_p$	Longueur de propagation	m
$\gamma$	Coefficient de sensibilité de l'instrument MIR	
$\gamma_L$	Tension superficielle du liquide	N.m <sup>-1</sup>
$\gamma_{LS}$	Tension interfaciale entre le liquide et le solide	N.m <sup>-1</sup>
$\gamma_S$	Energie de surface du solide	N.m <sup>-1</sup>
$\Delta I$	Saut de courant de drain	A
$\Delta V_{str}$	Différence de potentiel de streaming	V
$\Delta P$	Différence de pression	Pa
$\varepsilon$	Permittivité relative de l'électrolyte	
$\varepsilon_0$	Permittivité du vide	8.854x10 <sup>-12</sup> F.m <sup>-1</sup>
$\varepsilon_{ox}$	Permittivité relative de l'oxyde	
$\zeta$	Potentiel Zeta	V
$\eta$	Viscosité de la solution	Pa.s
$\theta$	Angle dans le prisme	deg
$\theta_c$	Angle de contact	deg
$\theta_m$	Déphasage entre signal mesuré et référence du lock-in	deg
$\theta_R$	Angle de résonance	deg
$\theta_{ref}$	Phase du signal de référence du lock-in	deg
$\theta_{sig}$	Phase du signal mesuré	deg
$\theta_T$	Angle de travail	deg
$\Theta^+$	Fraction du nombre de sites positifs	
$\Theta^-$	Fraction du nombre de sites négatifs	
$\lambda_d$	Epaisseur de la double couche	m
$\mu_p$	Mobilité des porteurs	m.s <sup>-1</sup>
$\nu_i$	Nombre de sites de l'espèce i	m <sup>-2</sup>
$\rho$	Masse volumique du fluide	kg.m <sup>-3</sup>
$\sigma$	Conductivité électrique de la solution	S.m <sup>-1</sup>

$\sigma_0$	Charge surfacique de l'oxyde	C.m <sup>-2</sup>
$\sigma_X$	Section efficace d'absorption de l'espèce X	m <sup>2</sup>
$\phi_f$	Niveau de Fermi	V
$\phi_T$	Potentiel thermique	V
$\Phi^M$	Travail de sortie du métal	V
$\Phi^{Si}$	Travail de sortie du silicium	V
$\psi_0$	Chute de potentiel à l'interface électrolyte/oxyde	V
$\psi_{ox}$	Chute de potentiel externe dans l'oxyde	V
$\psi_m$	Potentiel à l'interface électrode / électrolyte	V
$\psi_s$	Potentiel de la solution	V
$\psi_{Si}$	Chute de potentiel externe dans le silicium	V
$\omega_{ref}$	Fréquence angulaire du signal de référence du lock-in	s <sup>-1</sup>
$\omega_{sig}$	Fréquence angulaire du signal mesuré	s <sup>-1</sup>

## **INTRODUCTION GENERALE**

---

---

La recherche génétique, médicale et pharmaceutique, les contrôles sanitaires, la protection de l'environnement ou la prévention de menaces bioterroristes sont autant de domaines qui nécessitent une détection sensible, rapide et intégrée de très faibles quantités d'espèces biologiques. Les laboratoires sur puces, poussant au plus loin la miniaturisation, peuvent contribuer à répondre à ce besoin, en permettant notamment d'automatiser les analyses à des coûts raisonnables. Il s'agit d'intégrer, sur une surface de quelques centimètres carrés, l'ensemble de la chaîne d'analyse biologique – depuis la collecte et la préparation des échantillons jusqu'aux résultats – que l'on trouve à l'heure actuelle sur une paillasse de laboratoire.

Aujourd'hui, la détection d'espèces biologiques sur puces est classiquement réalisée après les avoir marquées préalablement à l'aide de fluorophores : la détection par fluorescence s'avère très sensible, mais un procédé sans étape de marquage réduirait la durée, le coût et la complexité des tests sur puces et permettrait une détection en temps réel des espèces biologiques. De nombreuses méthodes de détection fondées sur des principes alternatifs (mécanique, électrochimique, optique) ont été proposées. Parmi ces approches, l'utilisation de transistors à effet de champ permettant la détection de biomolécules chargées et de leurs interactions apparaît prometteuse. Ce type de capteurs, introduit par Bergveld en 1972, a permis de détecter de très faibles quantités de biomolécules lorsque les dimensions des transistors utilisés sont réduites à une échelle nanométrique.

L'objectif de ce travail de thèse est d'améliorer la compréhension des phénomènes physiques mis en jeu dans la méthode de détection électrique sur nanostructures en identifiant les différents paramètres influençant la mesure et de concevoir la fabrication d'un dispositif totalement intégré.



Ce manuscrit est organisé en quatre parties dont le contenu est décrit ici succinctement.

La première partie est centrée sur l'émergence des laboratoires sur puces dans divers domaines d'application, et propose une étude comparative des différentes méthodes de détection d'événements biologiques dont le niveau de maturité est assez variable, du concept de laboratoire au produit commercial. L'intérêt de la détection électrique directe sur nanostructures est mis en évidence.

La fabrication de trois générations successives de dispositifs permettant une détection directe électrique est détaillée dans la deuxième partie. Ces dispositifs sont appelés EOSFET pour Electrolyte – Oxide – Semiconductor Field Effect Transistor (ou Transistor à Effet de Champ Electrolyte – Oxyde – Semiconducteur). Ils comportent un canal de conduction qui est un nanofil de silicium connecté à ses extrémités par deux électrodes de source et de drain recouvertes d'une couche de passivation résistante aux différentes solutions dans lesquelles ils sont plongés.

La troisième partie détaille le fonctionnement théorique d'un EOSFET. Un banc de mesure automatisé ainsi qu'une méthode de mesure adaptée sont mis au point afin de tester les dispositifs sans fonctionnalisation préalable de la surface du canal de conduction, à la fois à l'air et en environnement fluide.

Deux protocoles de fonctionnalisation chimique et biologique des dispositifs sont décrits dans la quatrième partie. Cette fonctionnalisation permet de rendre les capteurs spécifiques à une espèce donnée. Les résultats de détection électrique directe grâce à des EOSFET fonctionnalisés sont ensuite présentés et mettent en évidence plusieurs paramètres clés à maîtriser afin de réaliser une détection électrique d'espèces biologiques. En particulier, l'importance de l'état de surface du canal de conduction, de la stabilité du dispositif et de son environnement, et de la salinité de la solution en contact avec ce canal sont soulignés.

Ce travail de thèse a été réalisé au sein du Laboratoire de Fonctionnalisation et Chimie pour les Microsystèmes du CEA Grenoble (Département des microTechnologies pour la Biologie et la Santé du LETI) spécialisé dans la fonctionnalisation de surface et les tests biologiques sur laboratoires sur puces. Il s'agit de la première étude au sein de ce laboratoire visant à concevoir, fabriquer et caractériser des EOSFET en vue d'évaluer les possibilités d'une détection électrique directe d'éléments chimiques ou biologiques. Ce travail n'aurait pu être réalisé sans une collaboration étroite avec les équipes des laboratoires suivants :

- Le Laboratoire Nanofab (Institut Néel du CNRS) qui nous a donné accès à sa plateforme technologique pour que nous puissions réaliser la première génération de dispositifs.
- Le Laboratoire des Technologies des Mémoires Avancées du CEA Grenoble (Département Nanotec du LETI) avec lequel nous avons conçu puis réalisé les dispositifs hybrides.
- Le Laboratoire de Composants Intégrés pour le Vivant du CEA Grenoble (Département des microTechnologies pour la Biologie et la Santé du LETI) qui possède un savoir-faire important, notamment dans le domaine du packaging des capteurs.
- Le Laboratoire Electronique des Systèmes Santé du CEA Grenoble (Département des microTechnologies pour la Biologie et la Santé du LETI) avec lequel nous avons beaucoup échangé lors du montage du banc de mesure.



---

## CHAPITRE I

### LES LABORATOIRES SUR PUCES

---

*Parce qu'un organisme vivant contient des millions de molécules différentes, repérer ou isoler l'une d'entre elles de son environnement naturel, pour l'étudier ou pour faire un diagnostic, revient souvent à "chercher une aiguille dans une botte de foin". Les techniques d'analyse utilisées quotidiennement dans les laboratoires sont souvent lourdes et coûteuses. Issus du rapprochement des micro et nanotechnologies et de la biologie, les laboratoires sur puces représentent de nouveaux outils d'analyse qui ont des avantages en termes de performances, de portabilité, et de facilité d'utilisation. A terme, ils visent à miniaturiser et intégrer les différentes étapes d'une analyse, depuis la préparation de l'échantillon jusqu'aux résultats, le tout sur un dispositif miniaturisé. Ces microsystèmes ouvrent de nouvelles voies pour la recherche génétique, médicale et pharmaceutique, et offrent de nouvelles perspectives dans d'autres domaines tels que les contrôles sanitaires ou la protection de l'environnement.*

*Dans une première partie, nous développons le concept et les applications des laboratoires sur puces, puis nous détaillons une brique de base essentielle à intégrer pour obtenir un outil de diagnostic : la détection d'événements biologiques. Après avoir exposé les différents types de détection disponibles, ainsi que leurs avantages et leurs inconvénients respectifs, nous expliquons notre choix de développer une détection directe électrique sur nanostructures.*

## **I.1 LABORATOIRES SUR PUCE**

### ***I.1.1 CONCEPT GENERAL***

La mesure fiable et rapide de la concentration de molécules biologiques ou chimiques d'intérêt dans un échantillon est un problème clé pour de nombreux domaines tels que l'analyse de l'environnement, le diagnostic médical ou le contrôle qualité dans l'industrie agroalimentaire. Cette mesure est actuellement réalisée grâce à des systèmes qui intègrent une préparation de l'échantillon (étapes d'extraction, de purification et de concentration) et son analyse. L'instrumentation classiquement utilisée pour la réalisation de ce protocole consiste en un ensemble d'appareils de table ou de paillasse, encombrants et nécessitant une alimentation électrique sur le secteur.

Il existe cependant un grand nombre d'applications particulières pour lesquelles on recherche des instruments d'analyse sensibles présentant les caractéristiques suivantes :

- Consommation réduite en produits et réactifs
- Rapidité de l'analyse
- Automatisation du procédé
- Portabilité du système d'analyse

La plupart des réactifs biologiques utilisés pour l'analyse d'un échantillon sont extrêmement coûteux, avec un prix pouvant souvent atteindre plusieurs centaines d'euros par mg. Il est ainsi intéressant de réduire les quantités de réactifs utilisées pour diminuer le coût des analyses. Dans certaines applications, c'est la quantité de produits à analyser disponible qui est limitée. C'est le cas par exemple lors des prélèvements de sang chez un nouveau-né ou lors d'un prélèvement de fluide céphalo-rachidien. Il est donc nécessaire de pouvoir travailler avec peu de produits de départ, et de posséder une méthode d'analyse avec une limite de détection faible, permettant de détecter la présence de certains composés à l'état de traces.

Les différentes analyses d'éléments biologiques, que ce soit pour des applications médicales (analyse de sang, d'urine) ou environnementales (pollution des eaux), sont actuellement réalisées en plusieurs heures, voire plusieurs jours. Il existe un réel besoin de réduire ce temps d'analyse à quelques secondes ou quelques minutes, afin de pouvoir, par exemple, obtenir un diagnostic plus rapide, ou suivre en temps réel les modifications du système analysé.

La manipulation des appareils de paillasse actuellement utilisés est réalisée par un technicien expérimenté. Outre le coût associé à la présence de nombreux manipulateurs, le problème

majeur pour la fiabilité de l'analyse réside dans la possibilité d'erreurs humaines. Pour cela, il peut être intéressant d'automatiser tout ou partie du procédé, ce qui permet, de plus, d'obtenir une meilleure reproductibilité du protocole d'analyse.

Enfin, la dernière caractéristique recherchée pour un système d'analyse est la portabilité du système fabriqué. Pour cela, il est nécessaire de disposer d'instruments de la taille la plus petite possible, peu gourmands en énergie (voire des systèmes passifs qui ne requièrent aucune alimentation extérieure), et peu sensibles aux conditions externes (température, hygrométrie, vibrations, etc.) afin de pouvoir les déplacer facilement et les utiliser dans de nombreux endroits (au chevet d'un patient ou déposés comme balise environnementale).

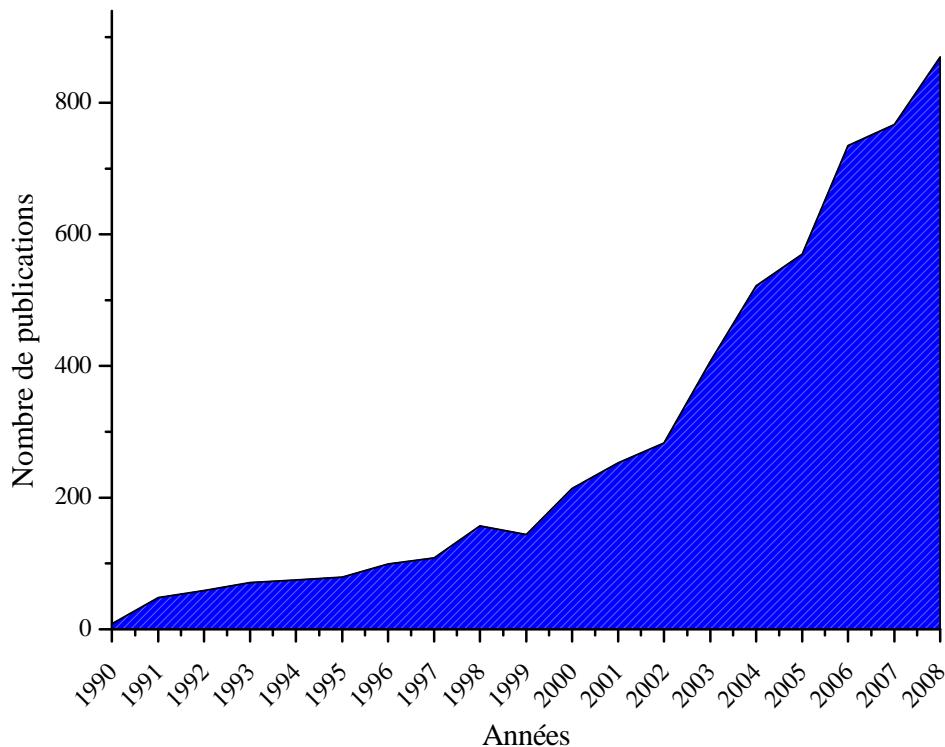
### ***1.1.2 HISTORIQUE***

Face à ces besoins, la microélectronique connaît depuis 30 ans une formidable évolution qui permet de fabriquer de manière collective de nombreux dispositifs de taille micrométrique sur une tranche de matériau. Cela permet de diviser le coût des étapes de fabrication. L'apport des microtechnologies pour l'analyse biologique et chimique est varié. Elles permettent, entre autres, de fabriquer des canaux microfluidiques, microvalves et micropompes pour gérer le déplacement de fluides, de mettre en place des systèmes de transduction optoélectronique, magnétique ou encore électrochimique, ou enfin de réaliser des fonctions électroniques pour le traitement du signal.

Le premier système d'analyse miniaturisé est apparu en 1975 [1, 2]. Il s'agit d'un système de chromatographie en phase gazeuse fabriqué en silicium. Ce dispositif comprend, sur une seule tranche de silicium (wafer) une vanne d'injection et une colonne de séparation. Une deuxième tranche de silicium comportant un détecteur à conductivité thermique est attachée mécaniquement à la première. Il est capable de séparer en quelques secondes un mélange simple de différents composants. Cependant, l'engouement pour ces microsystèmes d'analyse n'a réellement commencé qu'en 1990.

Andreas Manz [3] propose alors le concept de système miniaturisé d'analyse totale ( $\mu$ TAS pour « *micro Total Analysis Systems* »). Depuis cette date, les laboratoires sur puce se définissent ainsi comme des microsystèmes intégrant une ou plusieurs étapes d'un protocole d'analyse biologique ou chimique. Le domaine des laboratoires sur puces s'est largement développé dans les années 1990 [4-8], avec des acteurs de plus en plus nombreux, la tenue annuelle de la conférence  $\mu$ TAS qui existe depuis 1997, ou encore la création d'un journal

dédié à ces microsystèmes, Lab on a Chip, en 2001. L'évolution du nombre de publications dans le domaine depuis 1990 (Figure I.1-1) traduit l'intérêt croissant de la communauté scientifique pour les microsystèmes d'analyse totale.



*Figure I.1-1 : Evolution annuelle du nombre de publications dans le domaine des laboratoires sur puces. Les termes “lab\* on chip\*”, “miniaturized analysis system\*”, “micro total analysis system\*” ont été considérés et les recherches ont été réalisées avec ISI’s Web of Science [9]*

### ***I.1.3 APPLICATIONS***

Les laboratoires sur puces trouvent de nombreuses applications dans les sciences de la vie au sens large.

Dans le domaine médical, la prévention et le traitement des maladies sont très souvent basés sur la mesure de paramètres chimiques et biologiques dans des échantillons tels que du sang ou de l'urine. Dans la majorité des cas, l'échantillon doit être envoyé à un laboratoire central d'analyse, et les résultats de tests de routine sont disponibles après quelques heures ou quelques jours. En plus du délai de réponse, il est aussi possible que des erreurs dues à des pertes d'échantillon ou des erreurs d'étiquetage se produisent ainsi qu'une dégradation de

l'échantillon due au transport soit constatée. Face à ces difficultés, les laboratoires sur puces sont une alternative intéressante qui permet d'obtenir un dispositif petit, rapide et facile à utiliser pour réaliser des diagnostics au chevet du patient (POC pour Point of Care) [10, 11]. Ces tests rapides permettent au médecin de prendre une décision quasi-immédiate, que ce soit en consultation classique, en médecine d'urgence ou en salle d'opération. Ces besoins en diagnostic peuvent se transposer assez directement au domaine de la médecine vétérinaire où il existe également un besoin en systèmes d'analyse rapides utilisables facilement, dans une étable par exemple.

Les laboratoires sur puces trouvent aussi des applications dans le domaine agroalimentaire. Des contrôles qualités ainsi que des contrôles de pollution sont réalisés en continu dans les filières de production. La quantification de microorganismes joue un rôle vital dans le contrôle de la fermentation. La concentration en bactéries est un paramètre clé pour mesurer les vitesses de croissance et l'efficacité de la synthèse des produits lors de bioprocédés. C'est pour cela qu'une méthode précise permettant l'estimation en temps réel de la concentration en bactéries lors d'un procédé est primordiale [12]. De plus, les législations internationales régulant la présence d'organismes génétiquement modifiés (OGM) dans les produits de consommation, conduisent au développement de méthodes sensibles et fiables de détection des OGM [13].

Dans le domaine environnemental, il est utile de pouvoir détecter la présence de contaminants à l'état de traces, que ce soit dans l'air ou dans l'eau. Ces analyses sont extrêmement importantes afin de déterminer d'éventuelles pollutions dues à des composés organiques, inorganiques ou organométalliques, et toutes les industries (chimiques, pétrolières, nucléaires, etc.) sont tenues d'en effectuer. La possibilité d'utiliser un système d'analyse autonome, pouvant être installé sur le terrain du prélèvement, et éventuellement ne nécessitant aucune manipulation humaine est pour cette application hautement intéressante [14-17].

L'augmentation des menaces terroristes dans le monde a généré une demande exponentielle pour des systèmes portables innovants capables de détecter des agents biologiques dangereux et des composants explosifs de manière rapide, simple, et sur le site contrôlé. Actuellement la plupart des appareils de détection utilisés sur le terrain dans la lutte contre le bioterrorisme sont soit trop encombrants (positionnés dans des camions), soit trop lents pour donner le signal d'alarme destiné à prévenir militaires et civils. Les laboratoires sur puces pourraient permettre de donner l'alarme rapidement, et de ce fait minimiser la diffusion des agents menaçants et les risques sur la santé des personnes [18, 19].



Enfin, une application originale des laboratoires sur puces est financée par la recherche spatiale, en particulier dans le cadre de la recherche de formes de vie extraterrestre. Des systèmes automatiques de recherche de traces d'acides aminés dans le sol de la planète Mars ont été développés [20].

### I.1.4 FONCTIONS IMPLANTEES

Comme nous l'avons défini précédemment, un laboratoire sur puce réalise une ou plusieurs opérations d'un protocole d'analyse. Dans le cas de l'analyse biologique, un protocole complet se décompose généralement en trois grandes étapes : la collecte, la préparation et la détection de l'échantillon (Figure I.1-2).

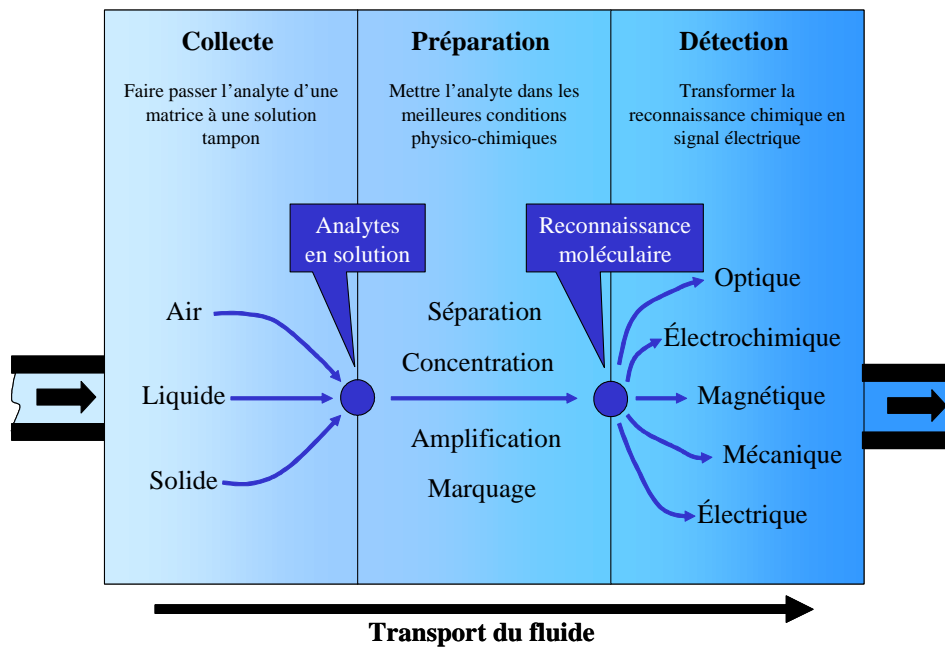


Figure I.1-2 : Principales étapes d'un protocole biologique

#### I.1.4.1 COLLECTE

La collecte de l'échantillon a pour but de faire passer l'analyte recherché d'une matrice ou d'un milieu initial gazeux, liquide ou solide dans une solution tamponnée adaptée. A l'heure actuelle, très peu de systèmes de collecte ont été implémentés sur puce. La collecte est réalisée séparément (par exemple grâce à une aiguille pour une prise de sang), et l'échantillon

recupéré est utilisé pour les étapes suivantes. Cette étape est particulièrement critique lorsqu'il s'agit de réaliser une collecte de particules de petites tailles (tels que les virus, de 15 à 300 nm) dans l'air.

#### **I.1.4.2 PREPARATION**

Plusieurs étapes importantes peuvent intervenir dans la préparation de l'échantillon [21].

Dans la plupart des cas, les échantillons biologiques bruts ne sont pas utilisables tels quels. L'analyte d'intérêt est souvent mélangé à de grosses particules organiques ou inorganiques qui doivent être retirées pour ne pas encrasser ou bloquer le système d'analyse. De plus, il se peut que l'élément à analyser soit contenu dans une cellule et doive être retiré par une rupture de la membrane cellulaire. Par exemple, dans le cas d'une analyse de sang par biologie moléculaire, il est nécessaire de séparer les globules blancs du reste des composants du sang (plasma et globules rouges), avant de récupérer l'ADN présent dans les globules blancs. Pour cela, l'analyte d'intérêt est tout d'abord séparé d'une matrice complexe par une première étape de purification [22, 23].

Si l'analyte à détecter est disponible uniquement à l'état de traces, sa détection est extrêmement difficile. Afin de relâcher les contraintes en terme de sensibilité sur les méthodes de détection, il est possible de préconcentrer l'analyte avant l'étape de détection [24, 25].

Il existe aussi plusieurs techniques biochimiques permettant d'augmenter le nombre de molécules à détecter. L'amplification de l'ADN par l'amplification en chaîne de la polymérase (PCR pour polymerase chain reaction) est la plus connue de ces techniques [26, 27]. Des procédés de digestion enzymatique sont aussi utilisés pour l'analyse d'ADN ou de protéines [28, 29].

Enfin il est parfois nécessaire de réaliser une transformation chimique de l'analyte afin de pouvoir le détecter. L'exemple le plus classique est le marquage des molécules biologiques à détecter avec un marqueur fluorescent [30, 31].

#### **I.1.4.3 DETECTION**

La dernière étape à implémenter sur un laboratoire sur puce est la détection de l'analyte. Au cours de cette étape, on fait réagir spécifiquement l'analyte recherché, appelé la « cible »,

avec une molécule connue, présente dans le système, la « sonde ». Un duplex « cible – sonde » se forme. Le plus souvent la cible est une protéine ou un fragment d'acide nucléique (oligonucléotide). La sonde peut être un anticorps, une autre protéine, ou une séquence d'ADN complémentaire de la séquence d'acide nucléique recherchée. La détection des duplexes consiste à traduire cette réaction chimique appelée hybridation en signal mesurable.

Nous avons choisi, au cours de ce travail, de développer une méthode de détection implantable sur un laboratoire sur puce. Différentes méthodes de détection, basée sur différents principes physiques, sont utilisables pour obtenir le signal électrique final. Les caractéristiques de ces méthodes seront détaillées dans la partie suivante. Puis nous comparerons les différentes méthodes utilisables pour choisir de développer celle qui semble la plus prometteuse, en terme de sensibilité, rapidité et intégration.

## **I.2 DETECTION D'ÉVÉNEMENTS BIOLOGIQUES**

Après avoir détaillé les enjeux liés à l'implémentation de l'étape de détection sur un laboratoire sur puces, nous décrirons puis comparerons les différents modes de transduction, à savoir : la radioactivité, l'optique, l'électrochimie, la mécanique ou l'électrique.

### ***I.2.1 LES ENJEUX DE LA DETECTION***

La qualité d'une méthode de détection est évaluée à partir de plusieurs critères :

- Tout d'abord, la sélectivité et la spécificité permettent de vérifier que le signal mesuré correspond bien à l'analyte recherché.
- L'efficacité d'une méthode de détection peut être évaluée grâce aux deux paramètres suivants : la limite de détection et la sensibilité. La limite de détection est la quantité de matière en dessous de laquelle la réponse ne sera plus détectée. La sensibilité correspond à la dynamique de mesure, c'est-à-dire à la plus petite variation décelable pour une valeur donnée (Figure I.2-1).

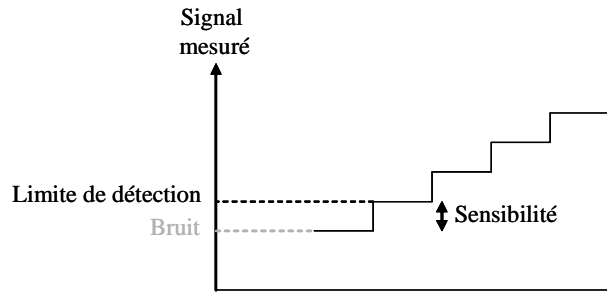


Figure I.2-1 : Définitions de la sensibilité et limite de détection d'une méthode de détection

Si on fixe un intervalle de confiance de 99%, la sensibilité est égale à 3 fois l'écart-type des valeurs mesurées pour le bruit. La limite de détection est le signal minimum détectable, à savoir :

$$\text{Limite de détection} = \text{Bruit} + 3\sigma_{\text{Bruit}} = \text{Bruit} + \text{Sensibilité} \quad (\text{I-1})$$

- La rapidité d'une méthode de détection dépend entre autres de la cinétique de la réaction à détecter. Celle-ci est fonction de la concentration en molécules à détecter. Lors d'une détection avec des systèmes intégrés, une concentration forte en molécules cibles est possible car les volumes morts sont réduits.
- Enfin, la répétabilité et la reproductibilité caractérisent la fidélité des résultats lors d'essais indépendants obtenus dans les mêmes conditions expérimentales. La robustesse de la méthode de détection peut, quant à elle, être caractérisée par son aptitude à fournir un résultat correct lorsqu'elle est soumise à des modifications contrôlées de paramètres extérieurs (température, humidité, lumière, ...).

A ce jour, différentes méthodes de détection d'événements biologiques existent, leur niveau de maturité est assez variable, du produit commercial au concept de laboratoire. Pour présenter les différentes méthodes, nous avons choisi de les classer selon le principe physique de transduction auquel elles font appel.

### **I.2.2 METHODE RADIOACTIVE**

La première méthode de détection, introduite en 1975 par Southern pour la séparation de brins d'ADN par gel d'électrophorèse [32], est basée sur le principe physique de la radioactivité. Cette technique consiste à incorporer à l'élément biologique à détecter un isotope radioactif émetteur  $\beta^-$ , le plus souvent du  $^{32}\text{P}$ . Après hybridation, les éléments biologiques marqués

peuvent ainsi être localisés et quantifiés par détection des électrons émis lors des désintégrations  $\beta^-$  (Figure I.2-2).

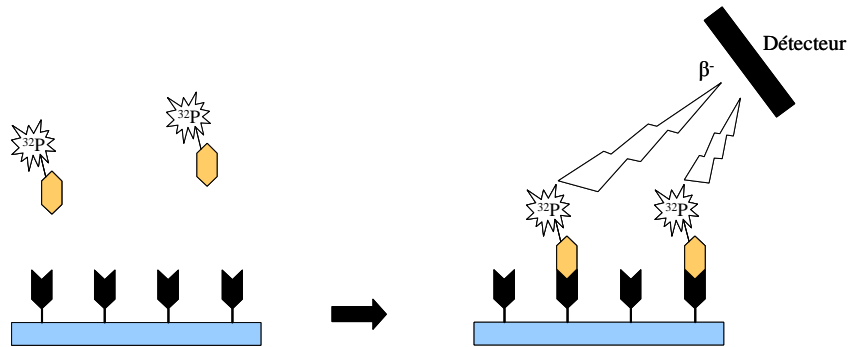


Figure I.2-2 : Représentation schématique de la détection par radioactivité

Ce type de détection a rapidement été transféré pour une utilisation sur biopuces. La limite de détection atteinte par ce type de marquage est très bonne [33, 34], et celui-ci se prête bien à la quantification [35]. En 1994, les équipes du Genosensor Consortium [36, 37] ont démontré la faisabilité d'une puce à détection radioactive intégrée en greffant les sondes directement sur des capteurs CCD. Néanmoins, étant donné les problèmes de radioprotection, la lourdeur de la mise en œuvre, et le coût des appareils de détection, cette méthode est de moins en moins utilisée et ne pourrait pas être implémentée sur un laboratoire sur puce.

### I.2.3 METHODES OPTIQUES

Les méthodes de détection optiques sont apparues au début des années 1980 [38, 39] et sont de nos jours les méthodes les plus employées pour la détection de molécules biologiques [40]. Les principales méthodes utilisées sont la fluorescence, la colorimétrie, la chimiluminescence et la résonance plasmonique de surface.

#### I.2.3.1 FLUORESCENCE

Cette méthode consiste à marquer l'élément biologique à détecter par un fluorophore. Celui-ci est ensuite facilement détecté grâce à un système d'imagerie par fluorescence qui consiste à exciter le fluorophore à une certaine longueur d'onde grâce à un laser, et à observer la réponse

en fluorescence à travers un filtre (Figure I.2-3). Les fluorophores les plus utilisés sont la fluorescéine isothiocyanate (FITC) [41] et l'indodicarbocyanine (Cy3) [42]. Le marquage par un fluorophore peut être avantageusement remplacé par un marquage par un quantum dot (QD). Ces particules semiconductrices présentent comme avantages d'être plus photostables et de présenter un meilleur rendement quantique [43]. Cette technique est très sensible et permet d'obtenir une limite de détection de l'ordre de la dizaine de femtomolaire dans le cas de la détection d'ADN [44, 45].

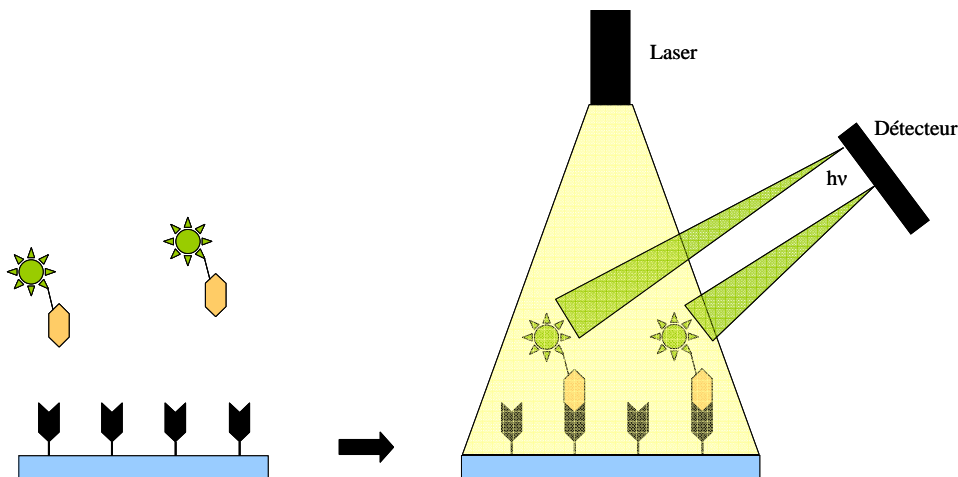


Figure I.2-3 : Représentation schématique de la détection par fluorescence

Différents dispositifs permettant l'hybridation de l'ADN après son marquage par un fluorophore sont commercialisés [46-48]. Cependant tous ces dispositifs nécessitent une lecture de l'hybridation grâce à un appareil externe encombrant.

Différents recherches ont été menées récemment pour intégrer l'instrumentation optique, à savoir la source d'excitation et les détecteurs, sur un laboratoire sur puce. Le principe d'intégration des détecteurs, introduit originellement par Marsoner [49], consiste à greffer les sondes de capture directement sur des photodétecteurs. Les premières réalisations expérimentales apparaissent dès 1996 [50] et continuent à se développer en particulier grâce aux progrès des capteurs d'image de type CMOS [51, 52]. Mais ces systèmes restent complexes en raison de la présence des sources de lumière pour exciter les marqueurs.

L'intégration complète de la détection optique en fluorescence est montrée sur la Figure I.2-4 pour un unique plot et la détection de nanoparticules fluorescentes. L'empilement d'une photodiode (détection), d'un filtre (arrêt de l'excitation), d'un film électroluminescent de type

P-Led bleu (excitation) et d'une chambre fluïdique permet de détecter des nanoparticules qui s'adsorbent à la surface de la biopuce [53].

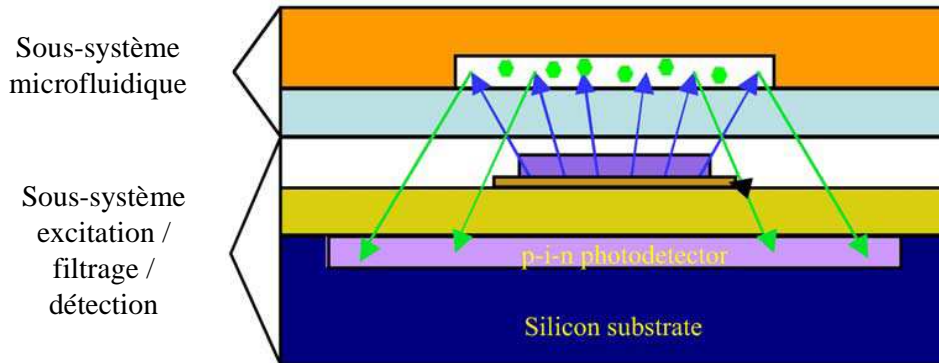


Figure I.2-4 : Principe d'un microsystème avec détection optique intégrée [53]

Le dispositif le plus abouti qui démontre l'intégration de la détection optique a été réalisé par les équipes du Fraunhofer Institut et de l'IMEL. La limite de détection obtenue (20 fM sur le couple avidine marquée / biotine immobilisée) est équivalente à celle obtenue grâce à des équipements de laboratoire [54]. Cependant, la limite de détection obtenue pour l'hybridation d'ADN, de 0.9 nM, reste à améliorer [55].

### I.2.3.2 COLORIMETRIE

La technique de colorimétrie est principalement utilisée en immunologie dans les tests ELISA où une molécule biologique cible est marquée par une enzyme, qui va catalyser une réaction provoquant un changement de couleur du tampon dans lequel a lieu la réaction. Une détection par spectrophotométrie peut alors être réalisée. Des systèmes de détection colorimétrique de l'hybridation d'ADN ont été mis au point en fonctionnalisant les brins d'ADN avec des nanoparticules métalliques. Les brins d'ADN complémentaires, en s'hybridant, vont provoquer des agrégats de nanoparticules, modifiant la signature colorimétrique de la solution de nanoparticules [56-59].

Cependant, cette technique de colorimétrie est difficilement implantable sur une puce. En effet, la technique de colorimétrie en 2D consiste à réaliser l'hybridation d'un brin d'ADN marqué par une nanoparticule métallique sur la surface d'une puce. Si le brin d'ADN est complémentaire de la sonde greffée en surface, cette hybridation va provoquer l'agrégation

des nanoparticules à la surface. Si au contraire, le brin d'ADN est non-complémentaire, l'ajout d'une solution de sulfate de Dextran provoque la désorption des nanoparticules et un changement colorimétrique de la solution [60] (Figure I.2-5). La détection ne peut donc être réalisée qu'en plusieurs étapes, ce qui complique l'intégration sur une puce.

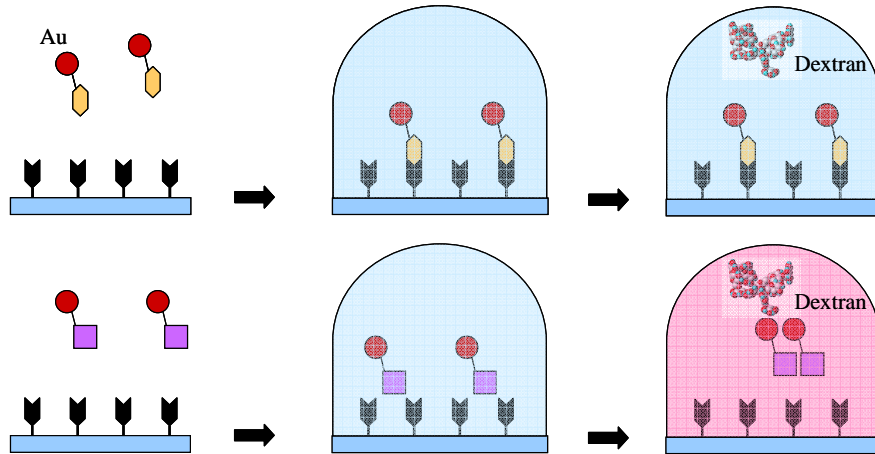


Figure I.2-5 : Représentation schématique de la détection par colorimétrie

### I.2.3.3 CHIMILUMINESCENCE

Le luminol et ses dérivés, dont les propriétés ont été décrites pour la première fois par Albrecht [61], sont souvent utilisés dans les capteurs utilisant des réactions de luminescence : en effet l'oxydation du luminol produit un ion aminophthalate dans un état excité, qui émet de la lumière en retournant à son état stable. Les réactions luminescentes peuvent être catalysées par une biomolécule telle que l'enzyme (HRP), auquel cas on parle de chimiluminescence, ou bien déclenchées par l'application d'un potentiel entre une électrode de travail et une référence, on parle alors d'électrochimiluminescence (Figure I.2-6).

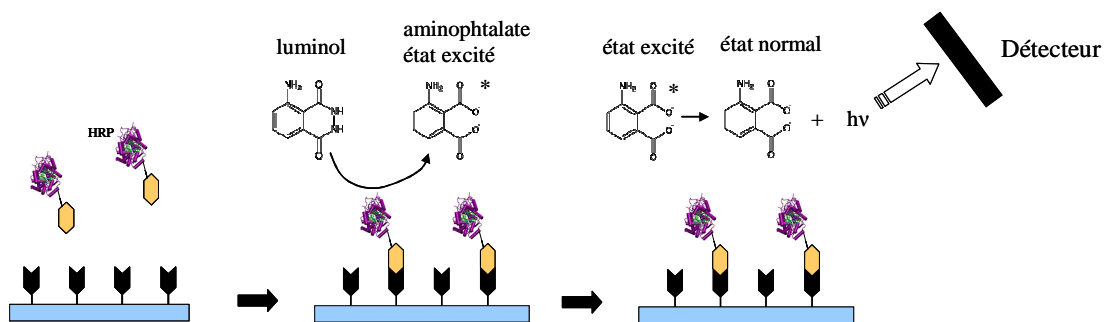


Figure I.2-6 : Représentation schématique de la détection par chimiluminescence



Plusieurs systèmes utilisant des propriétés de chimiluminescence ou d'électrochimiluminescence pour la détection d'ADN ont été mis au point [62, 63]. Il est de plus possible d'intégrer sur une puce les photodétecteurs de type CMOS qui permettent de mesurer la lumière produite lors de l'hybridation [64]. Cependant, ce type de détection présente pour le moment des limites de détection relativement importantes, de l'ordre du picomolaire.

#### I.2.3.4 RESONANCE PLASMONIQUE DE SURFACE

La résonance plasmonique de surface (ou SPR en anglais) est une technique de détection qui s'est imposée au milieu des années 1990 comme méthode de référence pour l'étude des interactions moléculaires en surface, en particulier pour les protéines. La SPR permet en effet une détection sans marquage préalable des molécules biologiques et un suivi en temps réel, rendant possible l'étude des cinétiques de réactions.

Une surface de verre recouverte d'or sur laquelle sont greffées les sondes biologiques est illuminée par un faisceau de lumière incidente polarisée à un angle d'incidence supérieur à celui de l'angle limite de réfraction : le faisceau incident est totalement réfléchi et une onde évanescente se propage perpendiculairement à la surface. Les électrons délocalisés de la couche périphérique de l'or peuvent entrer en résonance avec l'onde évanescente : c'est le phénomène de résonance plasmonique de surface. Il en résulte une chute d'intensité dans le faisceau réfléchi qui se produit pour un angle d'incidence précis, appelé angle de résonance  $\theta_R$ . La position de l'angle de résonance dépend de l'indice de réfraction de la surface, qui est lui-même fonction de la masse de molécules à la surface, ce qui permet de détecter l'hybridation de molécules à la surface. La mesure de la variation de réflectivité à un angle d'incidence fixe de travail  $\theta_T$  permet de suivre en temps réel cette hybridation (Figure I.2-7).

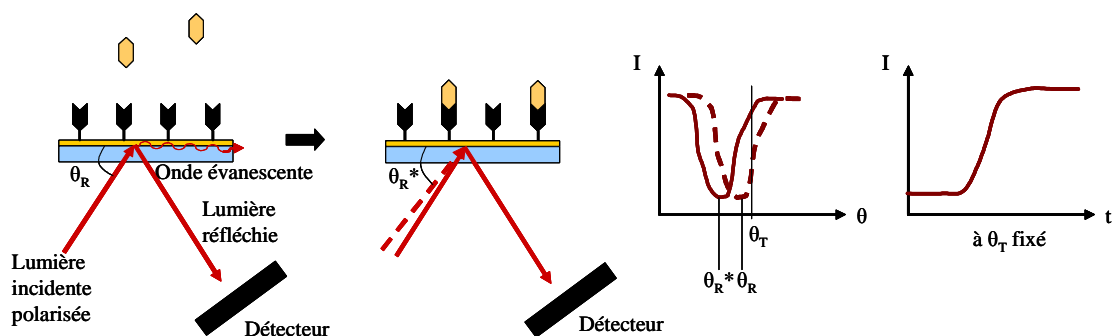


Figure I.2-7 : Représentation schématique de la détection par SPR

Cette méthode de détection s'est imposée à la fin des années 1980 grâce aux développements de la société Pharmacia et à la commercialisation du Biacore [65] qui est devenu un appareil de laboratoire utilisable en routine (Figure I.2-8). Depuis, plusieurs industriels ont fabriqué des appareils de SPR, dont Texas Instruments qui propose avec le Spreeta [66] un capteur bas coût, miniature et transportable (Figure I.2-9).



Figure I.2-8 : Biacore, lames et système de détection



Figure I.2-9 : Spreeta

La sensibilité de cette méthode reste cependant inférieure aux méthodes qui utilisent un marquage fluorescent, avec des limites de détection obtenues pour des grosses protéines (supérieure à  $10^4$  Da) de l'ordre du nM [67]. De plus, elle est moins efficace pour les petites molécules (de type brins d'ADN) dont l'hybridation ne provoque pas un grand changement d'angle de résonance [68].

#### ***1.2.4 METHODES ELECTROCHIMIQUES***

L'intérêt pour les biocapteurs électrochimiques s'est renforcé dans le courant des années 1990 [69-71]. Ces méthodes sont en effet basées sur la mesure précise d'un courant qui est possible même dans des milieux colorés ou turbulents où la détection optique s'avère inefficace. Depuis, les recherches s'intensifient avec comme applications le diagnostic médical [72-74], l'analyse de l'environnement [75, 76] ou encore l'agro-alimentaire [77]. La détection électrochimique peut être réalisée soit de manière indirecte, grâce au marquage approprié de la cible, soit de manière directe, grâce à l'électroactivité intrinsèque de certaines cibles [78].

### I.2.4.1 METHODES INDIRECTES

Les techniques de détection électrochimiques (Figure I.2-10) avec marquage peuvent mettre en œuvre différents marqueurs :

- Des marqueurs électrochimiques (comme le férrocène) [79] peuvent servir à modifier des molécules biologiques.
- Des enzymes rédox comme la HRP ou la glucose oxydase [80, 81] sont aussi utilisées comme marqueurs.
- On peut aussi marquer les molécules biologiques avec des intercalants électroactifs [82, 83] comme le bleu de méthylène ou la daunomycine.
- Enfin, on peut aussi détecter la présence, sur les molécules biologiques cibles, de nanoparticules métalliques [84], d'or ou d'argent principalement.

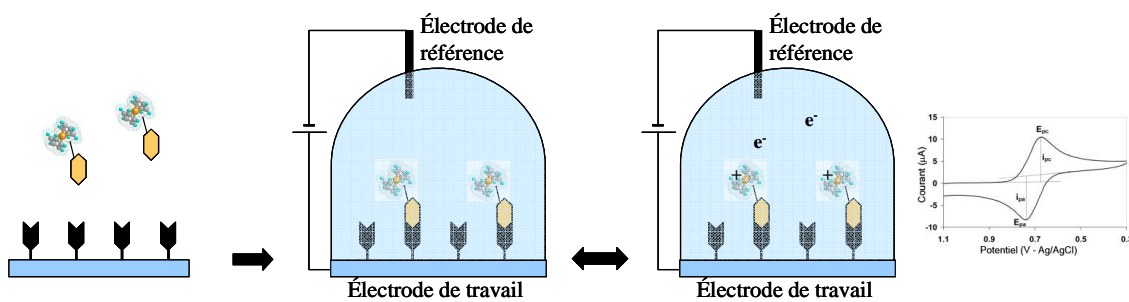


Figure I.2-10 : Représentation schématique de la détection par électrochimie

On peut distinguer trois types de mesures différentes réalisables sur des biocapteurs électrochimiques :

- Une mesure ampérométrique est une mesure du courant électrique associé aux électrons impliqués dans les processus rédox.
- Une mesure potentiométrique permet de détecter un changement de potentiel à une électrode du à la présence d'ions ou à une réaction chimique.
- Une mesure conductimétrique est associée aux changements de conductance dus aux changements dans la solution ionique entre les deux électrodes.

L'attrait des méthodes de détection électrochimiques réside dans le fait que l'on supprime les étages optiques et que l'on peut ainsi envisager de concevoir des systèmes qui s'apparentent aux composants de la microélectronique, très intégrés et compacts. Le système le plus abouti aujourd'hui est sans doute le dispositif mis au point par la société Combimatrix [85]. Celui-ci

contient 12544 plots individuels réalisés en technologie CMOS. Relativement compact, il pèse quelques kilos et peut ainsi être transporté (Figure I.2-11). La détection est réalisée par la mesure de l'activité électrochimique de l'enzyme HRP utilisée comme marqueur. La limite de détection obtenue pour l'hybridation de l'ADN est de 0.375 pM [86].

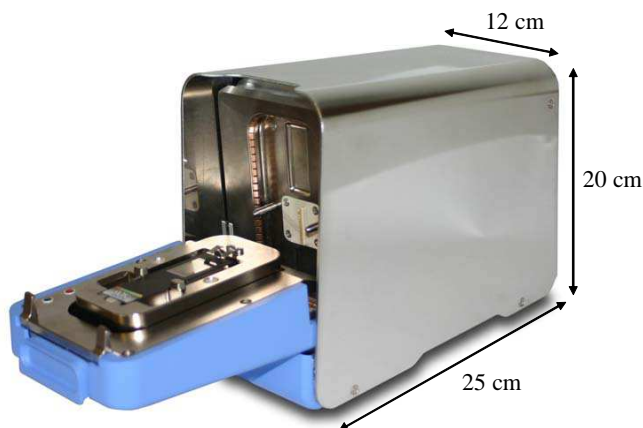


Figure I.2-11 : Dispositif de détection électrochimique de la société Combimatrix

#### I.2.4.2 METHODE DIRECTE

La technique de détection électrochimique directe se base sur l'électroactivité naturelle de certaines molécules biologiques, comme les oligonucléotides présents dans les brins d'ADN [87]. La guanine est décrite comme la base rédox la plus active. L'immobilisation de sondes exemptes de guanine (qui peut être remplacée par l'inosine) peut ainsi être utilisée pour une détection électrochimique [88, 89]. Lors de l'hybridation, l'apparition du signal d'oxydation de la guanine permet la détection de l'ADN. Les limites de détection obtenues par cette méthode sont de l'ordre du nanomolaire [90]. Cependant, la sensibilité de cette technique dépend fortement du nombre de bases composant le brin d'ADN à détecter, et n'est pas utilisable pour d'autres molécules biologiques.

#### I.2.5 METHODES MECANQUES

Une réaction d'hybridation en surface d'un matériau peut perturber les caractéristiques de celui-ci. Cette propriété permet de détecter de manière mécanique la présence de molécules

biologiques et est utilisée par deux familles de dispositifs : les détecteurs à onde acoustique et les cantilevers.

### I.2.5.1 DETECTEURS A ONDE ACOUSTIQUE

Il existe deux types de détecteurs à onde acoustique : les détecteurs à onde acoustique de volume (ou BAW pour Bulk Acoustic Wave) et les détecteurs à onde acoustique de surface (ou SAW pour Surface Acoustic Wave).

Les BAW sont des appareils de mesure qui consistent en un cristal piézoélectrique résonateur pris en sandwich entre une paire d'électrodes, et dans lequel une onde acoustique de volume se propage. La fréquence d'oscillation du cristal varie suite à un changement de masse de celui-ci. Le cristal de quartz, connu pour sa stabilité, est le matériau piézoélectrique le plus utilisé pour la fabrication de BAW : on parle dans ce cas de microbalance à quartz (ou QCM pour Quartz Crystal Microbalance). Ce dispositif fut développé à la fin des années 1950 pour mesurer la masse d'un dépôt rigide et parfaitement solidaire du cristal. A partir des années 1980, la technique a été étendue à la mesure en environnement liquide [91]. Il est ainsi possible de détecter, sans marquage préalable, des molécules biologiques cibles qui s'hybrident à la surface du cristal [92] (Figure I.2-12).

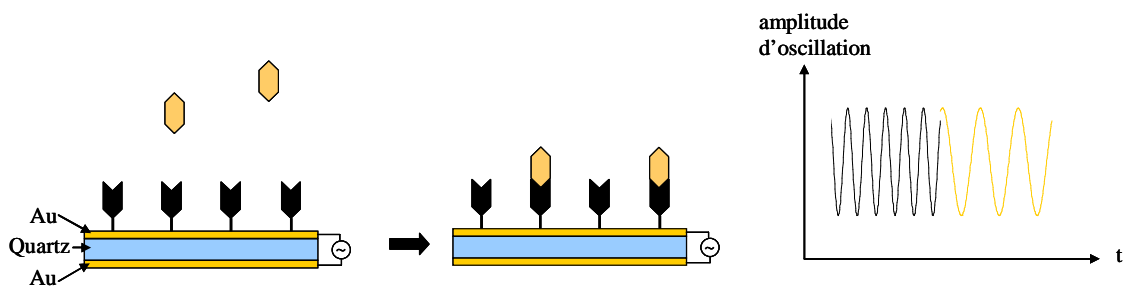


Figure I.2-12 : Représentation schématique de la détection par la microbalance à quartz

Cette méthode de détection reste néanmoins peu sensible pour la détection de l'ADN [93, 94]. Différentes stratégies d'amplification du signal ont ainsi été développées, entre autres par le groupe de Willner [95-97]. L'hybridation d'un brin cible d'ADN suivie de l'hybridation d'un liposome fonctionnalisé avec un brin d'ADN complémentaire de la partie libre du double brin formé permet d'obtenir une limite de détection de 5 pM. Une autre stratégie consiste à réaliser la première hybridation avec un brin cible d'ADN marqué par une biotine. L'interaction

successive avec de l'avidine et un liposome biotinilé permet de réaliser des structures dendritiques et d'obtenir une limite de détection de 0.1 pM.

De plus, cette technique de détection a l'avantage d'être facilement intégrable. La société Technobiochip [98] propose un appareil portable d'à peine 1 kg permettant de détecter la présence d'organismes génétiquement modifiés (Figure I.2-13).



*Figure I.2-13 : μLIBRA, appareil de mesure par QCM d'organismes génétiquement modifiés*

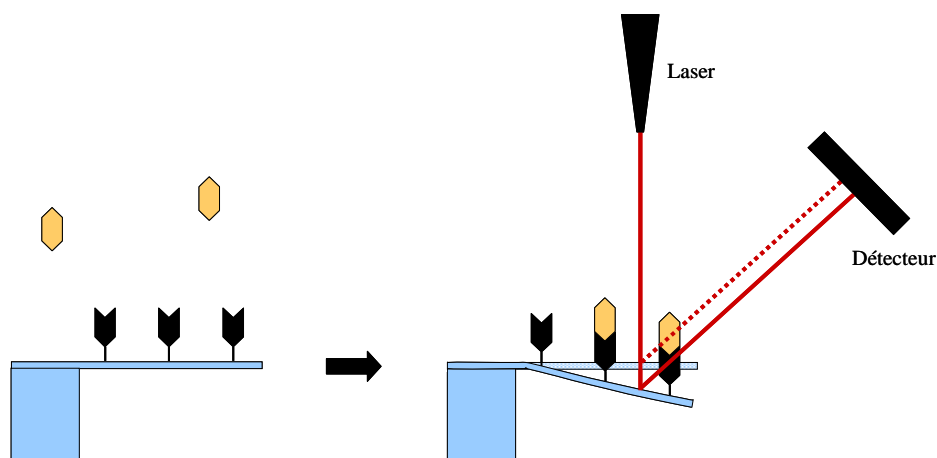
Les SAW sont aussi constitués d'un cristal piézoélectrique, mais ici les deux électrodes sont situées du même côté du cristal et permettent la propagation d'une onde élastique à la surface de celui-ci. Des SAW ont été utilisés dans le but de détecter l'hybridation de l'ADN, avec des limites de détection atteintes de l'ordre du nanomolaire [99-101].

### **I.2.5.2 CANTILEVERS**

Les premières expériences d'études d'interactions de molécules biologiques grâce à des cantilevers ont été réalisées en fonctionnalisant des pointes d'AFM (Atomic Force Microscopy ou Microscopie à Force Atomique) avec une molécule sonde. Les variations de la force d'interaction entre la pointe AFM et la surface sondée permettent de détecter à quels endroits de la surface une molécule cible est présente [102-104]. Cependant, il n'est pas possible de fabriquer et d'utiliser à grande échelle des systèmes de détection utilisant comme cantilevers les pointes AFM. C'est le développement parallèle des microsystèmes électromécaniques (MEMS pour microelectromechanical systems) qui a permis de fabriquer de façon industrielle des cantilevers.

Il existe deux modes de mesure des capteurs à base de cantilevers (Figure I.2-14). Dans le mode statique, la réaction d'hybridation de molécules chimiques a lieu sélectivement sur un côté du cantilever. Cela entraîne un changement de l'énergie libre de surface du cantilever,

provoquant une déflexion de ce dernier. Dans le mode vibrant, le cantilever est excité de telle sorte qu'il vibre à sa fréquence de résonance. L'hybridation des molécules biologiques à la surface du cantilever, va, comme dans le cas de la microbalance à quartz, provoquer un changement de sa fréquence de résonance. Dans les deux cas, la déflexion ou le changement de fréquence de résonance du cantilever peut être mesuré soit par une méthode optique (en mesurant la déflexion d'un laser), soit par une méthode électrique (en incorporant un matériau piézoélectrique à l'extrémité fixe du cantilever).



*Figure I.2-14 : Représentation schématique de la détection par des cantilevers (mode statique et mesure optique)*

Fritz fut le premier, en 2000, à utiliser des microcantilevers pour détecter l'hybridation de l'ADN sans marquage et en temps réel [105]. Depuis, de nombreuses recherches ont été menées dans ce domaine [106-108]. Différentes expériences ont montré qu'il est possible de discriminer les séquences complémentaires d'ADN cibles des séquences partiellement ou totalement mismatchées. De plus la déflexion du cantilever dépend de la densité de greffage sur le cantilever, de la taille du brin d'ADN cible ainsi que de l'efficacité d'hybridation (du à des changements de force ionique du milieu) [109-111].

Cependant, les limites de détection des microcantilevers restent très élevées pour des molécules de masse faible comme l'ADN. Cette limitation peut être contournée en réalisant un marquage préalable de la cible, par exemple avec des nanoparticules d'or, pour atteindre une limite de détection à 0.05 nM [112]. Plusieurs groupes s'intéressent aussi à la fabrication de nanocantilevers. En effet, plus la masse initiale du cantilever est réduite, plus il sera facile de détecter un faible changement de masse du à une interaction biologique [113, 114].

### ***1.2.6 METHODE ELECTRIQUE***

La détection de différents types d'ions de manière électrique en utilisant des transistors à effet de champ (FET) a été décrite pour la première fois par Bergveld en 1970 [115, 116]. La première adaptation de ce type de structure pour détecter des brins d'ADN a été publiée par Souteyrand [117]. Une sonde d'ADN est greffée sur la surface d'un transistor ; lors de l'hybridation, la conductance de ce dernier est alors modifiée par les charges présentes sur le brin d'ADN cible. Cependant cette méthode, qui sera détaillée au I.3, n'a connu un véritable essor que très récemment, avec l'apparition de transistors à base de nanostructures ; celles-ci permettant d'obtenir une limite de détection beaucoup plus faible allant jusqu'à quelques fM [118].

### ***1.2.7 CONCLUSION***

Un problème clé pour de nombreux domaines (du diagnostic médical, de l'analyse environnementale ou de la détection de menaces terroristes) est la détection et la mesure fiable et rapide de la concentration de molécules biologiques d'intérêt dans un échantillon. A l'heure actuelle, l'instrumentation utilisée pour réaliser le protocole de préparation d'échantillon, d'analyse et de détection consiste en un ensemble d'appareils de paillasse, encombrants et nécessitant une alimentation électrique par le secteur. Comme évoqué au chapitre I.1, il existe cependant un besoin pour des instruments d'analyse présentant les caractéristiques suivantes [119]:

- Une utilisation possible hors laboratoire, ce qui implique un appareil portable, robuste et à bas coût.
- Un fonctionnement simplifié permettant une utilisation par un personnel non spécialisé
- La possibilité de multiplexer plusieurs types d'analyse
- La capacité de traiter des échantillons de petite taille
- Le tout en conservant un haut niveau de performance, en terme de limite de détection, de spécificité et de rapidité.

La Figure I.2-15 résume les avantages et inconvénients respectifs des différents types de détection précédemment évoqués. Pour cela nous avons choisi deux points cruciaux qui



peuvent guider le choix d'une méthode de détection particulière : la limite de détection et l'intégration possible du système.

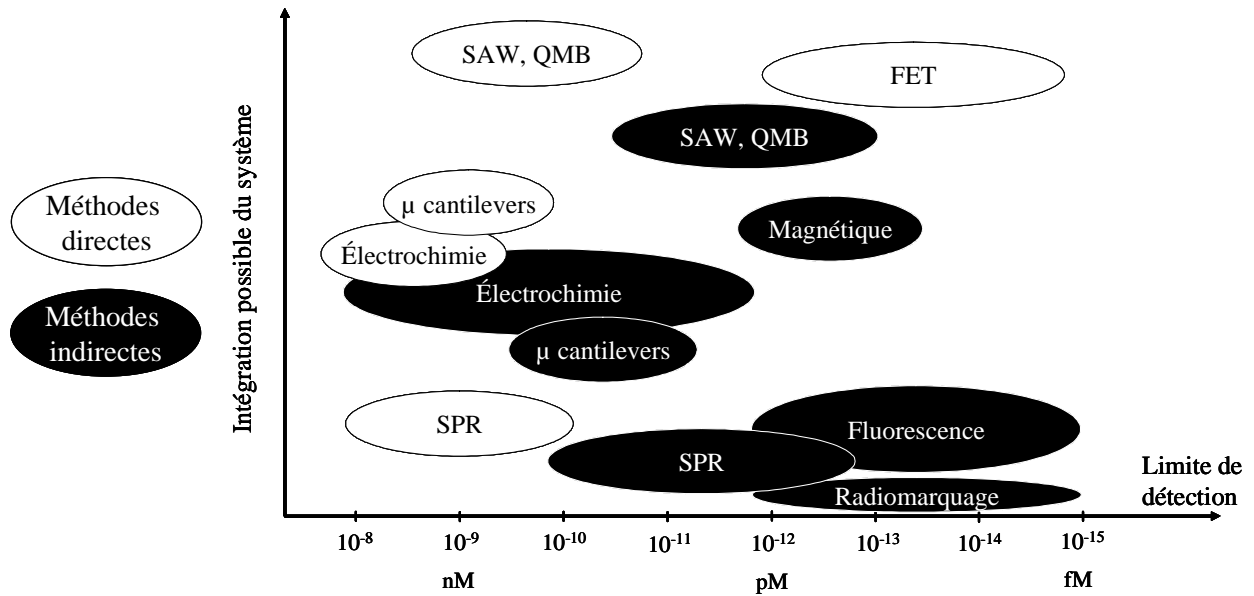


Figure I.2-15 : Comparaison des différentes méthodes de détection.

Les valeurs figurant sur la Figure I.2-15 ont été prises dans la littérature [120, 121] pour une détection d'ADN. Elles permettent de donner une idée des limites de détection atteintes pour chaque méthode, mais une comparaison rigoureuse est quasiment impossible car le modèle biologique utilisé est rarement identique et peut fortement influencer les résultats obtenus [122]. Néanmoins plusieurs remarques peuvent être faites :

- Les méthodes indirectes, qui nécessitent un marquage préalable de la cible, sont généralement plus sensibles mais présentent plusieurs inconvénients majeurs. Cette étape de marquage prend du temps, complexifie le protocole sur un dispositif portable et peut induire un changement des propriétés de certains éléments biologiques comme les protéines. De plus les méthodes optiques avec marquage ne permettent pas un suivi en temps réel de l'hybridation, mais seulement une mesure en point final.
- Les deux méthodes les plus prometteuses en terme d'intégration possible sont les méthodes basées sur une transduction mécanique (ondes acoustiques de surface ou micro-cantilevers), et la méthode de détection électrique utilisant un transistor à effet de champ. Les méthodes mécaniques ne peuvent rivaliser, en terme de limite de détection, avec la fluorescence pour les petites molécules biologiques. Le seul moyen de surmonter cette limitation est de réaliser un marquage préalable des cibles, mais on

induit alors une étape supplémentaire et on perd ainsi en capacité d'intégration du système.

La détection électrique sur transistor à effet de champ nous semble une des méthodes de détection les plus prometteuses. Elle permet en effet une forte intégration du système et une parallélisation des tests, et des études récentes ont montré qu'elle pouvait être très sensible.

### I.3 DETECTION ELECTRIQUE D'EVENEMENTS BIOLOGIQUES

Nous allons décrire plus en détail le principe de la détection électrique de molécules biologiques, et exposer les résultats obtenus jusqu'à la fin de l'année 2006, date à laquelle notre étude a commencé.

#### I.3.1 SUR MICROSTRUCTURES

La détection électrique de molécules chimiques ou biologiques a été décrite pour la première fois par Bergveld en 1970 grâce à des dispositifs que l'on appellera génériquement EOSFET (transistor à effet de champ électrolyte-oxyde-semiconducteur) [115, 116]. Cette méthode de détection se base sur le principe de fonctionnement d'un MOSFET (transistor à effet de champ métal-oxyde-semiconducteur). Un EOSFET est un MOSFET pour lequel la grille métallique est remplacée par une membrane chimique sensible aux molécules à détecter, un électrolyte et une électrode de polarisation (Figure I.3-1).

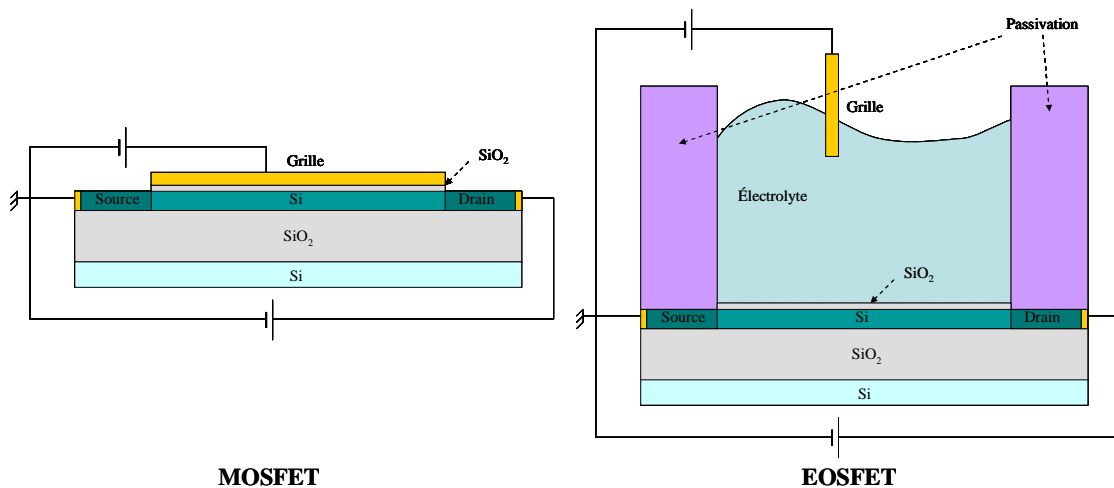


Figure I.3-1 : Schéma de fonctionnement d'un MOSFET et d'un EOSFET

Un EOSFET est constitué d'un substrat semi-conducteur (le plus souvent du silicium) avec deux régions fortement dopées, appelées source et drain, séparées par un canal recouvert d'un isolant et de la membrane chimique. L'immobilisation de molécules cibles chargées sur la membrane chimique résulte en une déplétion ou une accumulation des porteurs de charge dans le canal, provoquant un changement de la conductance mesurée entre la source et le drain. Selon les molécules détectées, on peut classer les EOSFET en plusieurs catégories : les ISFET, les CHEMFET et les BIOFET [123].

Les ISFET sont sensibles aux ions  $H^+$  et donc aux changements de pH. Typiquement le canal de silicium est alors simplement recouvert d'une couche d'isolant  $SiO_2$  ou d'une bi-couche  $SiO_2-Si_3N_4$ ,  $SiO_2-Al_2O_3$  ou  $SiO_2-Ta_2O_5$ . D'intensives recherches ont été menées par le groupe de Bergveld pour comprendre le fonctionnement exact d'un ISFET [124-128] et l'on peut trouver de nombreuses revues sur le sujet [129-132].

Les CHEMFET sont sensibles à des ions autres que  $H^+$  grâce à une membrane chimique recouvrant l'isolant et sensible par exemple aux ions  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$  ou  $F^-$  [133-136].

Les BIOFET sont sensibles à des molécules biologiques grâce au greffage de sondes spécifiques à la surface de la membrane chimique. Les BIOFET peuvent à priori détecter toutes les molécules biologiques répondant aux deux critères suivants :

- Il faut qu'il existe une molécule biologique sonde permettant une hybridation spécifique de la molécule cible à détecter.
- La molécule cible doit être chargée dans les conditions auxquelles l'hybridation est réalisée.

Le type de molécules sondes greffées sur la surface du nanofil détermine les molécules cibles pouvant être détectées, et permet de distinguer différents types de BIOFET [123, 137] : les EnFET, les ImmunoFET et les GenFET.

La première réalisation concrète d'un EnFET (pour transistor à effet de champ à enzymes) sensible à la pénicilline [138] a été proposée par Janata et Moss en 1980. Depuis, de nombreuses recherches ont été menées pour réaliser différents types d'EnFET sensibles à la pénicilline [139, 140], au glucose [141, 142], à l'urée [143-145], et autres [143, 146, 147].

Le concept de l'ImmunoFET (pour transistor à effet de champ immunologique) a été introduit par Schlenk en 1978 [148] et repose sur l'interaction antigène / anticorps.

Le groupe de Souteyrand a été le premier à détecter l'hybridation de l'ADN grâce à un transistor à effet de champ en 1997 [117]. Le principe des GenFET (pour transistor à effet de champ génétique) repose sur la réaction de complémentarité des deux brins (l'hybridation) et sur le fait qu'un brin d'ADN contient une charge négative (apportée par le groupement

phosphodiester) tous les 3.4 Å. Plusieurs autres équipes ont ensuite publié des résultats concernant la détection d'ADN par des BIOFET [149-154]. Toutes ces études ont été réalisées avec des transistors de taille micrométrique et les limites de détection alors obtenues ne pouvaient pas rivaliser avec celles obtenues par les méthodes classiques de détection optique [155].

### I.3.2 SUR NANOSTRUCTURES

Cette limitation sur les limites de détection et les sensibilités obtenues sur les dispositifs planaires peut être surmontée en utilisant des transistors dont le canal est une nanostructure unidimensionnelle ; c'est-à-dire une structure dont le rapport longueur sur diamètre est supérieur à 10, et dont le diamètre est inférieur à 100 nm.

Le premier avantage de ces structures est que l'hybridation de molécules chargées à la surface d'un nano-transistor conduit à une déplétion ou une accumulation des porteurs de charge dans tout le volume du canal, et pas uniquement à sa surface comme dans le cas d'un transistor planaire. En effet les tailles des éléments biologiques à détecter et le diamètre des nanostructures étant comparables, l'immobilisation d'un élément biologique à la surface de la nanostructure va influencer plus fortement la conductance de la nanostructure et ainsi augmenter la limite de détection (Figure I.3-2).

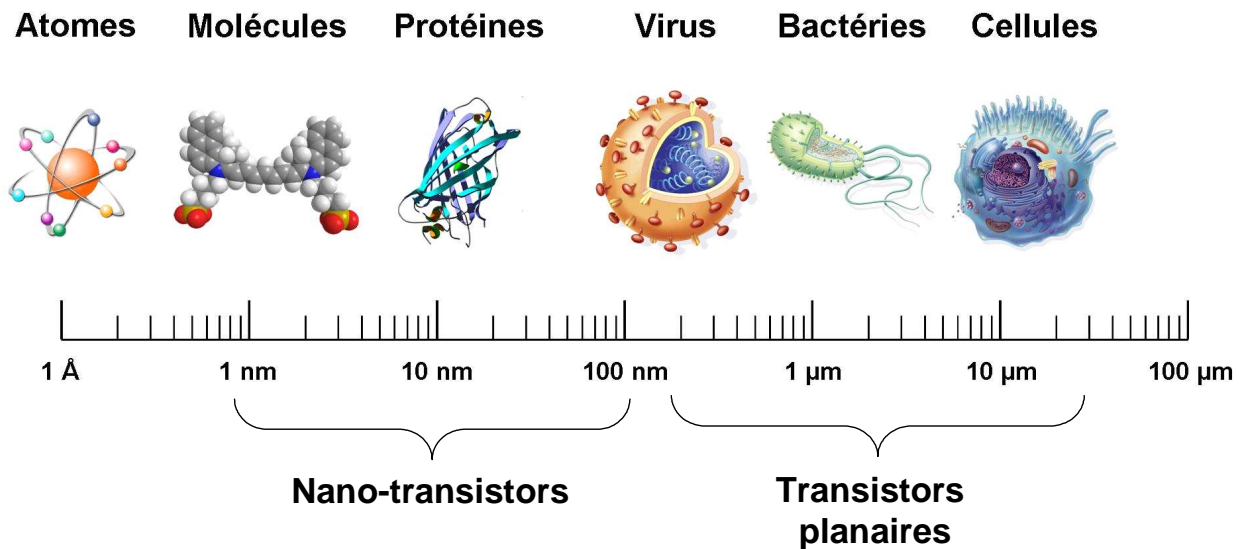
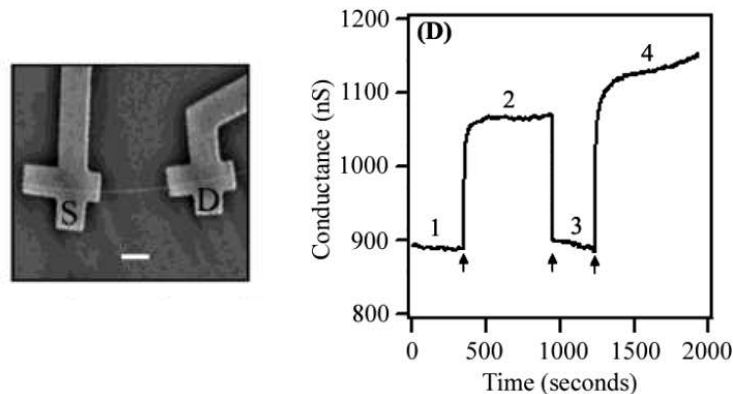


Figure I.3-2 : Tailles des transistors comparées à celles des principales structures chimiques et biologiques

Le deuxième avantage apporté par l'utilisation de nanostructures est que leur petite taille permet d'envisager la création de matrices denses de capteurs.

Les nanostructures utilisées peuvent être soit des nanofils semi-conducteurs (le plus souvent en silicium) [156-158], soit des nanotubes de carbone [159-161].

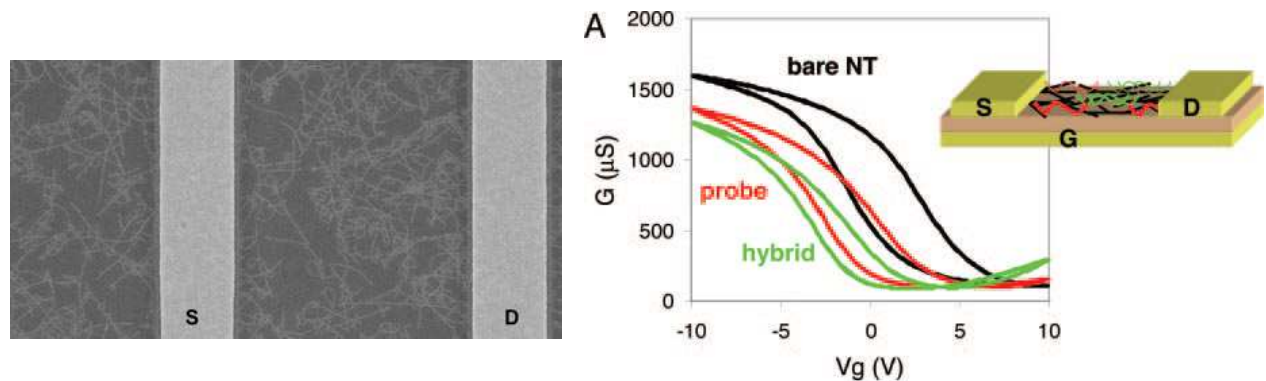
La première utilisation d'un nanofil de silicium dans un ISFET utilisé pour détecter des changements de pH a été publiée en 2001 par le groupe de Lieber [162]. Depuis, ce même groupe a publié de nombreux travaux utilisant les nanofils de silicium dans des dispositifs de type BIOFET pour détecter des molécules biologiques. Les limites de détection avancées sont excellentes, rivalisant avec l'état de l'art des meilleures méthodes de détection avec marquage. L'ajout de 25 pM de streptavidine dans un tampon de base a été détecté grâce à l'immobilisation de biotine sur la surface du nanofil [162]. La limite de détection atteinte pour l'hybridation de brins d'ADN est de 10 fM et il est possible de discriminer un brin d'ADN totalement complémentaire de la cible greffée et un brin d'ADN mutant [118] (Figure I.3-3). Cette équipe a aussi été capable de détecter un virus unique [163], et de multiplexer la détection de plusieurs marqueurs cancéreux [164] avec des limites de détection voisines du femtomolaire. Le groupe de Williams a aussi travaillé sur la détection d'ADN grâce à des nanofils de silicium utilisés comme transistors et a pu détecter un changement de conductance du nanofil suite à un ajout de 25 pM d'ADN cible dans la solution tampon [165, 166].



*Figure I.3-3 : Détection d'ADN sur nanofils de silicium [118] : à gauche image SEM d'un transistor à nanofil de silicium avec source (S) et drain (D) – à droite variation de la conductance d'un nanofil en fonction du temps pendant le passage d'une solution sans ADN (1), avec 100 fM d'ADN mutant (2), sans ADN (3), et 100 fM d'ADN complémentaire (4)*

En parallèle, des études ont aussi été menées en utilisant des nanotubes de carbone comme canal du transistor. L'équipe de Dekker a greffé en 2003 la glucose oxidase sur un nanotube

de carbone, qui a ensuite été utilisé pour détecter des variations de pH ainsi que l'activité enzymatique de la molécule greffée [167]. Au même moment, l'équipe de Star détecte l'hybridation de la streptavidine sur des nanotubes greffés avec de la biotine [168]. La détection de l'ADN sur des nanotubes de carbone a aussi été réalisée, avec des limites de détection atteignant le picomolaire [169, 170] (Figure I.3-4).



*Figure I.3-4 : Détection d'ADN sur nanotubes de carbone [169] : à gauche image SEM du tapis de nanotubes entre les électrodes de source (S) et drain (D) – à droite conductance du nanofil en fonction de Vg avant greffage (noir), après greffage des simples brins d'ADN (rouge) et après hybridation de la cible complémentaire (vert)*

## I.4 CONCLUSION : PROBLEMATIQUE ET STRATEGIE

Notre recherche bibliographique montre que la méthode de détection électrique grâce à des nanostructures offre des perspectives très intéressantes. Elle permet une détection sensible et rapide, sans nécessité de marquage préalable des cibles biologiques à détecter. Cependant deux points très importants restent à étudier pour pouvoir envisager un transfert industriel de cette technique, par exemple pour réaliser des diagnostics au chevet du patient.

Le premier point concerne la compréhension approfondie des phénomènes physiques mis en jeu dans cette méthode de détection [123, 155, 171]. Les travaux réalisés par l'équipe de Lieber montrent qu'il est possible de détecter quelques fM de cibles dans un temps voisin de la minute. Ces résultats sont prudemment contestés par des études théoriques qui montrent que la probabilité est très faible pour qu'en quelques minutes et pour des concentrations de quelques fM, le nanofil ait capturé une molécule [172, 173]. L'équipe de Star constate des variations extrêmement importantes de limites de détection (entre 1 nM et 1 pM, soit 3 ordres

de grandeur) selon les compositions des solutions tampons utilisées, sans qu'ils puissent clairement en expliquer la raison [169]. Une compréhension plus détaillée des phénomènes mis en jeu, à la fois au niveau de la physique des transistors, de l'interface entre l'électrolyte et la nanostructure, et de la mécanique des fluides est nécessaire pour pouvoir imaginer le système le plus sensible possible.

Le deuxième point concerne la fabrication d'un système intégré portable. Celle-ci passe par la possibilité de disposer facilement d'un grand nombre de détecteurs sur une surface réduite ainsi que par la miniaturisation du système de mesure. Les travaux réalisés nécessitent pour la plupart une fabrication préalable des nanostructures, qui sont ensuite reportées sur une puce pour réaliser des contacts électriques. Plusieurs techniques pour déposer des nanostructures de façon contrôlée sur une surface plane ont été développées, qui sont basées sur des méthodes magnétiques [174], diélectrophorétiques [175], microfluidiques [176] ou de Langmuir-Blodgett [177]. Malheureusement aucune de ces techniques ne combine les deux avantages de pouvoir localiser les nanostructures selon leurs propriétés (de dopage par exemple), et d'être suffisamment rapides pour pouvoir positionner un grand nombre de nanostructures en des temps raisonnables. Seules les structures réalisées par Williams [166] selon des procédés de microélectronique peuvent répondre à ces deux attentes.

Suite à ces constatations, nous nous sommes fixés comme objectif d'améliorer la compréhension des phénomènes physiques mis en jeu dans la méthode de détection électrique sur nanostructures en identifiant les différents paramètres influençant la mesure et de concevoir la fabrication d'un dispositif totalement intégré.

---

## CHAPITRE II

### FABRICATION DES EOSFET

---

*Les laboratoires sur puces sont issus d'un rapprochement des micro et nanotechnologies et de la biologie. Plus particulièrement, le développement d'une détection directe électrique intégrée passe par la fabrication de composants issus du monde de la microélectronique : les EOSFET (pour Electrolyte – Oxide – Semiconductor Field Effect Transistor ou Transistor à Effet de Champ Electrolyte – Oxyde – Semiconducteur). Ces composants sont semblables à des Transistors à Effet de Champ Métal – Oxyde – Semiconducteur (ou MOSFET pour Metal – Oxide – Semiconductor Field Effect Transistor) pour lesquels la grille métallique est remplacée par un électrolyte. Le MOSFET est le composant de base de tous les appareils électroniques (ordinateur, téléphone portable ...) actuels. Il est donc fabriqué à très grande échelle par des compagnies comme Intel ou IBM et de nombreuses recherches sont entreprises pour augmenter ses performances.*

*Dans une première partie, nous présentons les différences entre MOSFET et EOSFET et les choix architecturaux que celles-ci impliquent. Après avoir expliqué les trois modes de fabrication que nous avons retenus, nous détaillons les étapes de fabrication des composants dans chaque cas.*



## II.1 DIFFERENCES ENTRE MOSFET ET EOSFET

Dans un premier temps, nous présenterons le principe de fonctionnement d'un MOSFET [178, 179], puis détaillerons ensuite les différences entre MOSFET et EOSFET au niveau du canal du transistor et de ses électrodes de source et drain.

### II.1.1 INTRODUCTION RAPIDE AU MOSFET

Le principe de base des MOSFET a été énoncé la première fois dans les années 1920 par Julius E. Lilienfeld en utilisant l'empilement Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/Cu<sub>2</sub>S [180]. Mais ce n'est qu'en 1960 que le premier transistor basé sur le principe de l'effet de champ voit le jour [181], utilisant déjà les matériaux clés de la microélectronique d'aujourd'hui : le silicium (Si) et son oxyde (SiO<sub>2</sub>). Depuis la taille des transistors a fortement diminué mais le principe de fonctionnement est resté le même. Actuellement, les processeurs d'Intel contiennent 140 millions de transistors de longueur de grille de 45 nm [182].

Le principe de fonctionnement détaillé du MOSFET sera vu au chapitre 3. Nous exposons ici simplement ses propriétés fondamentales afin de comprendre les choix d'optimisation réalisés. Un transistor MOS présente 3 terminaux (en plus de l'électrode de substrat) : une entrée (dite électrode de source), une sortie (électrode de drain) et une électrode de commande (la grille) (Figure II.1-1). La polarisation de la grille va permettre ou non le passage d'un courant entre la source et le drain. On dit qu'il y a création d'un canal de conduction. Le transistor MOS a donc pour objectif d'émuler une fonction créneau (Figure II.1-2). Il assure la transition d'un état bloqué pour lequel le courant de drain ( $I_D$ ) équivaut au courant de fuite ( $I_{OFF}$ ), à un état passant permettant le passage du courant de drain  $I_{ON}$ .

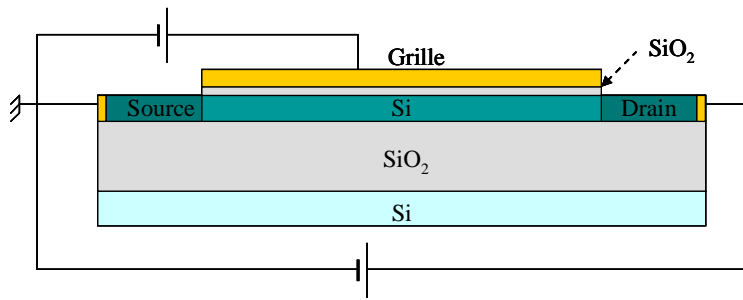


Figure II.1-1 : Schéma d'un MOSFET

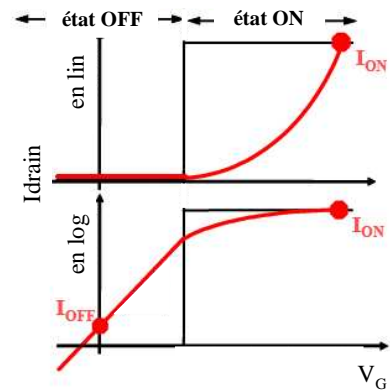


Figure II.1-2 : Fonction créneau

Une optimisation des performances des transistors passe par une maximisation du courant  $I_{ON}$  et une minimisation du courant  $I_{OFF}$ . La miniaturisation de la longueur de grille, et donc de la longueur de canal (impliquant une diminution proportionnelle des autres grandeurs caractéristiques du transistor) est la méthode la plus efficace pour optimiser  $I_{ON}$ . Elle permet à la fois d'améliorer les performances des transistors tout en augmentant la densité de transistors par wafer (en vue d'une réduction des coûts de fabrication).

Nous allons voir que les différences entre les caractéristiques attendues d'un MOSFET et d'un EOSFET conduisent à des choix architecturaux différents au niveau du canal du transistor ainsi qu'au niveau des électrodes de source et drain.

### II.1.2 CANAL DU TRANSISTOR

Les principales recherches effectuées de nos jours sur les transistors MOS consistent en une miniaturisation de la longueur de grille et donc de la longueur de canal. Comme nous l'expliquerons au chapitre 3, dans le cas d'un transistor EOSFET, nous souhaitons au contraire obtenir une longueur de canal relativement importante (typiquement quelques microns). Les dimensions à miniaturiser dans notre cas sont en fait la largeur et l'épaisseur du canal, afin de détecter la plus petite quantité de charge possible.

Ces considérations nous poussent à utiliser comme canal de conduction une nanostructure unidimensionnelle semiconductrice : structure dont le rapport longueur sur largeur est supérieur à 10, la largeur ne dépassant pas quelques dizaines de nanomètres. Il existe deux

types de nanostructures unidimensionnelles pouvant être utilisées dans notre application : les nanotubes (qui sont creux) et les nanofils.

### II.1.2.1 NANOTUBE OU NANOFIL ?

Les nanotubes de carbone ont été identifiés par S. Iijima en 1991 [183]. Leur structure peut être représentée par un feuillet de graphène enroulé sur lui-même et fermé à ses deux extrémités par une demi-sphère. Il existe deux catégories de nanotubes :

- Les nanotubes monofeuillets constitués d'un seul feuillet de graphène
- Les nanotubes multifeuillets constitués de plusieurs feuillets de graphènes enroulés les uns autour des autres.

L'angle d'enroulement du feuillet de graphène sur lui-même donne aux nanotubes de carbone des propriétés différentes. Notamment, en ce qui concerne leurs propriétés électriques, la valeur de cet angle permet de distinguer les nanotubes qui se comportent comme des métaux, des nanotubes qui se comportent comme des semi-conducteurs.

Il existe actuellement deux grandes familles de procédés de synthèse de nanotubes de carbone.

- Les synthèses haute température [184-186] permettent d'obtenir préférentiellement des nanotubes monofeuillets de très grande pureté. Cependant, il est impossible de contrôler la longueur des nanotubes et on récupère en fin de synthèse un amas de nanotubes qu'il faut dissocier et trier.
- Les synthèses par dépôt chimique en phase vapeur [187, 188] permettent d'obtenir des nanotubes alignés verticalement sur un substrat de silicium. Leur longueur peut être contrôlée par le temps de réaction, mais il reste des impuretés à éliminer après réaction.

Des nanotubes de carbone ont été utilisés par plusieurs équipes comme canal d'un EOSFET [170, 189-191]. Ceux-ci peuvent en effet être considérés comme un matériau idéal dans des applications de détection, puisque chaque atome d'un nanotube monofeuillet est situé à la surface, permettant une détection très sensible. De plus les nanotubes de carbone peuvent être fonctionnalisés pour être sensibles aux molécules biologiques ciblées. Cependant, aucun des deux procédés de synthèse ne permet de prévoir l'angle d'enroulement du feuillet de graphène sur lui-même. On obtient ainsi en fin de procédé de synthèse, à la fois des nanotubes métalliques et des nanotubes semi-conducteurs. Il est ensuite difficile de trier les nanotubes selon leurs propriétés électriques pour ne garder que les nanotubes semi-conducteurs qui nous

intéressent dans notre application. Enfin le principe de fonctionnement d'un EOSFET dont le canal est constitué d'un nanotube de carbone est encore mal compris : des études expérimentales ont en effet montré que la conductance d'un nanotube diminue quelque soit la charge de la molécule détectée [192-195] ce qui est en contradiction avec le principe de fonctionnement d'un EOSFET dont le canal est un matériau semi-conducteur classique.

Pour toutes ces raisons, nous avons ainsi choisi d'utiliser un nanofil comme canal de conduction de notre transistor. Il est en effet possible de choisir à l'avance le matériau de fabrication du nanofil afin de lui conférer des propriétés métalliques ou semi-conductrices.

De nombreuses méthodes de fabrication de nanofils existent mais aucune n'est, à l'heure actuelle, industrialisée. De nombreuses recherches sont en cours afin de trouver un procédé de fabrication alliant la production de masse et les très petites dimensions. Les méthodes de fabrication des nanofils peuvent être classées en deux catégories :

- L'approche bottom-up part du plus petit pour aller vers le plus grand.
- L'approche top-down part du plus grand pour aller vers le plus petit.

### **II.1.2.2 APPROCHE BOTTOM-UP**

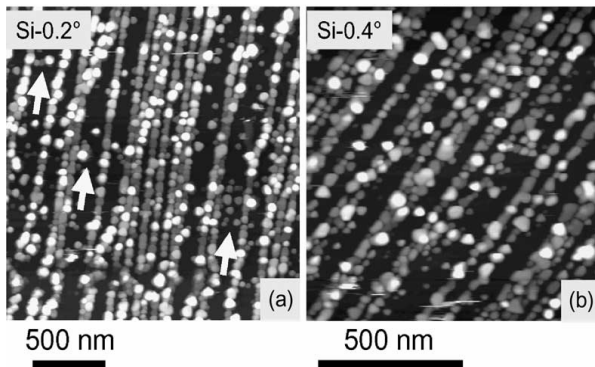
L'approche bottom-up (ou technique ascendante) est une méthode de fabrication qui consiste à assembler des atomes ou des molécules jusqu'à obtenir une structure complète. On peut faire le parallèle dans la vie courante avec la construction d'une maison.

Dans cette partie, nous allons développer différentes techniques de fabrication de nanofils utilisant cette approche.

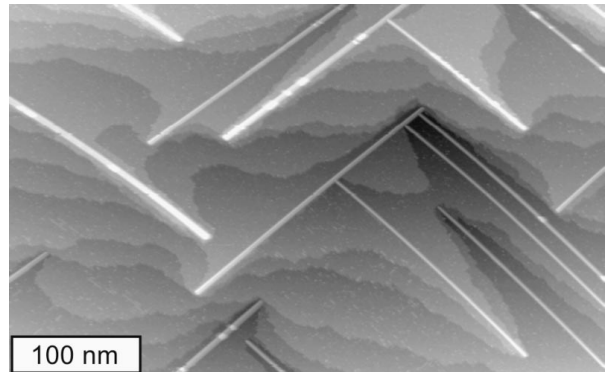
#### **i. L'auto-assemblage en surface**

Les techniques d'auto-assemblage en surface ont été employées dès les années 1990 pour obtenir un grand nombre de nanostructures en surface, parfaitement ordonnées, de forme simple et de même taille. Le principe est d'utiliser une surface qui présente de manière localisée et périodique, une forte adsorption sélective. Ces points d'adsorption sélective peuvent être dus à des défauts de la surface. L'objectif est donc d'obtenir des « défauts naturels » régulièrement espacés, tels que des bords de marche [196, 197] ou des désaccords paramétriques [198, 199]. Lors du dépôt d'un matériau (sous vide ou par voie

électrochimique) dans certaines conditions, ces défauts servent de points d’ancrage pour la croissance de nanofils sur la surface (Figure II.1-3 et Figure II.1-4).



**Figure II.1-3 : Images AFM de nanofils d’Au sur surface vicinale de silicium [197]**



**Figure II.1-4 : Image STM de nanofils d’Ho sur Si(001) induits par un désaccord paramétrique [199]**

## ii. La synthèse VLS

La technique VLS (Vapor Liquid Solid) consiste à faire croître les nanofils à partir d’un catalyseur, le plus souvent en or, en présence d’un gaz précurseur du silicium [200-202]. Des gouttelettes d’or sont déposées à la surface d’un substrat de silicium qui est porté à une température supérieure à 363°C afin que l’or forme un alliage liquide avec le silicium. Le gaz précurseur du silicium, typiquement le silane, est transporté à la surface des gouttelettes. L’or catalyse la réaction de dissociation du silane, les atomes de silicium formés diffusent dans la gouttelette liquide, puis précipitent sous la gouttelette, permettant la croissance verticale du nanofil de silicium. La Figure II.1-5 illustre le processus de fabrication d’un nanofil par la méthode VLS. Il est possible de réaliser par cette méthode des nanofils métalliques ou semi-conducteurs dopés ou non [203], dont le diamètre minimum est de 10 nm (celui-ci étant gouverné par la taille de la gouttelette d’or) et de plusieurs microns de long (Figure II.1-6).

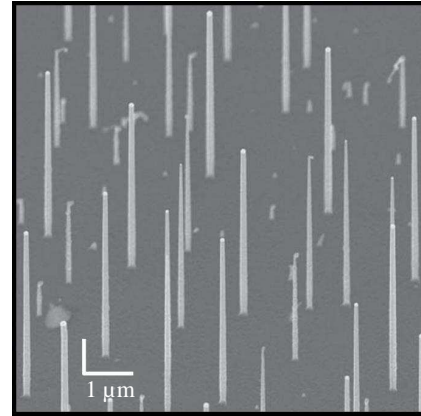
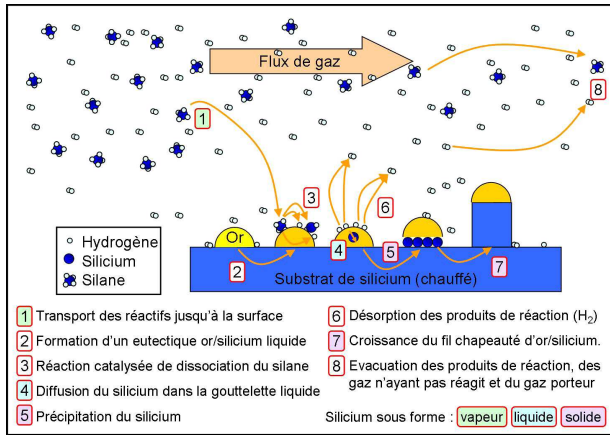


Figure II.1-5 : Processus de fabrication de nanofils par VLS

Figure II.1-6 : Image MEB de nanofils de silicium réalisés par croissance VLS catalysée par Au [202]

### iii. L'utilisation de matrices poreuses

L'alumine nanoporeuse permet d'effectuer des matrices 3D de pores parfaitement cylindriques organisés en un réseau hexagonal de type nid d'abeilles, comme illustré sur la Figure II.1-7.

Ce réseau, appelé « template », peut être rempli d'un matériau semi-conducteur ou métallique par voie électrochimique, par injection haute pression ou par évaporation [204-206]. On obtient ainsi, après dissolution de la matrice d'alumine, un réseau compact de nanofils de diamètre identique et orientés verticalement à la surface (Figure II.1-8)

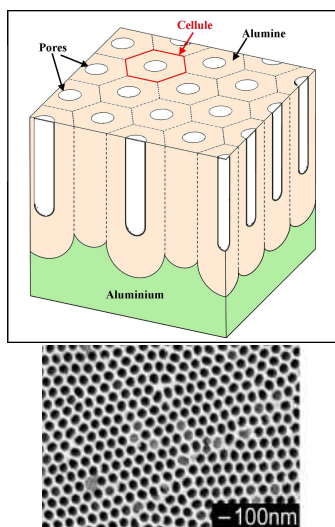


Figure II.1-7 : Schéma et image MEB de l'alumine nanoporeuse organisée en nid d'abeilles [206]

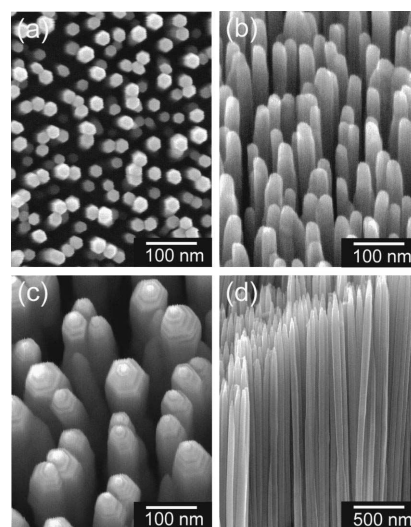


Figure II.1-8 : Nanofils de ZnO [205]

### II.1.2.3 APPROCHE TOP-DOWN

L'approche top-down (ou technique descendante) est une méthode de fabrication qui consiste à réduire un objet macroscopique jusqu'à une échelle nanoscopique. On peut faire le parallèle avec un artiste qui sculpte de la pierre.

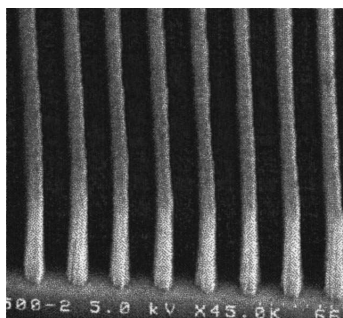
Dans cette partie, nous allons développer différentes techniques de fabrication de nanofils utilisant cette approche.

#### i. Les lithographies haute résolution

A l'heure actuelle, la lithographie UV ou deep UV est la seule capable de produire en masse des composants sub-microniques. Mais ces technologies classiques sont aujourd'hui confrontées à d'importants défis technologiques pour réaliser des composants à l'échelle de la dizaine de nanomètres.

Plusieurs techniques de lithographie haute résolution dont le procédé repose sur une insolation de la résine à travers un masque, ont fait leur apparition. Ces technologies conservent l'avantage de pouvoir réaliser des composants rapidement, cependant les limites de résolution atteintes restent souvent relativement élevées et les coûts de production peuvent être prohibitifs.

La lithographie par ultraviolets extrêmes (ou par rayons X mous) utilise une source de longueur d'onde 13 nm. Elle permet à l'heure actuelle d'atteindre des résolutions de l'ordre de 20 nm [207]. De nombreux points technologiques (source, optique) liés au fait que les rayons X mous sont absorbés par la quasi-totalité des matériaux et des gaz restent à résoudre pour espérer diminuer cette résolution.



*Figure II.1-9 : Nanofils en résine de 80 nm de large obtenus par lithographie par ultraviolets extrêmes [208]*



La lithographie par rayons X [209, 210], d'une longueur d'onde d'environ 1 nm, permet d'obtenir des lignes de 15 nm de large dans une résine (Figure II.1-10). Pour pallier à l'absence d'optique adaptée aux rayons X, il est nécessaire d'avoir une excellente résolution du masque, les motifs étant transférés à l'échelle 1. De plus la source de rayons X est assurée par un synchrotron, dont le coût est très élevé.

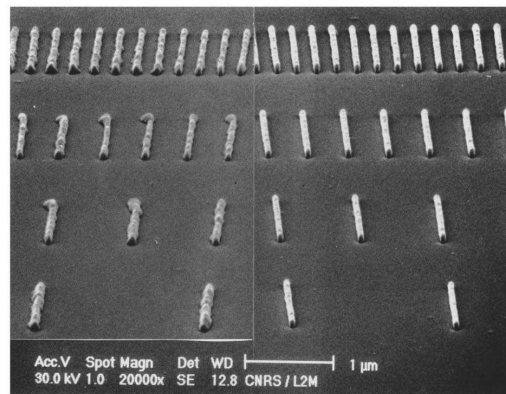


Figure II.1-10 : Nanofils en résine de 35nm de large obtenus par lithographie par rayons X [210]

Enfin, une des technologies les plus utilisées à l'heure actuelle pour réaliser des nanofils par l'approche top-down est la lithographie par faisceau d'électrons localisés. Cette méthode ne nécessite pas de masque intermédiaire. Le faisceau d'électrons atteint la résine avec un diamètre de sonde fin, permettant l'écriture sur la résine. Il est piloté par un ordinateur pour insoler le motif programmé. Cette lithographie permet d'atteindre une résolution très élevée allant jusqu'à des motifs de 10 nm [211]. Toutefois cette méthode est très lente comparée à la technique de transmission à travers un masque, ce qui la rend incompatible avec une production industrielle de masse.

## ii. Les lithographies douces

Face à l'incapacité des méthodes de lithographie haute résolution à répondre aux exigences de l'industrie de la microélectronique en terme de coût, rapidité et résolution, de nouvelles formes de lithographies, appelées lithographies douces, sont apparues. L'idée est d'allier la résolution des meilleures technologies de lithographie avec une réplique rapide et à bas coût des motifs.

La nano-impression a vu le jour dans les années 90, elle est la plus connue de ces techniques de lithographies douces. Son principe est très simple. Il consiste à utiliser un moule dont le



motif a été préalablement défini par une technique de lithographie haute résolution pour déformer physiquement une couche de polymère thermoplastique par pression. Cette opération est effectuée à haute pression et à une température supérieure à la température de transition vitreuse du polymère. Après le pressage, le système est refroidi. Le film de polymère porte en négatif les motifs du moule qui doivent donner lieu à un contraste d'épaisseur raisonnable pour la suite du procédé de fabrication [212, 213].

Cette technique combine de nombreux avantages, tels qu'une résolution inférieure à 10 nm (Figure II.1-11), un coût de production bas et une possibilité de production de masse. Certains problèmes restent cependant à résoudre, comme la possibilité d'imprimer des petits et grands motifs simultanément, la difficulté d'aligner plusieurs niveaux de lithographie ou encore la réalisation de structures complexes.

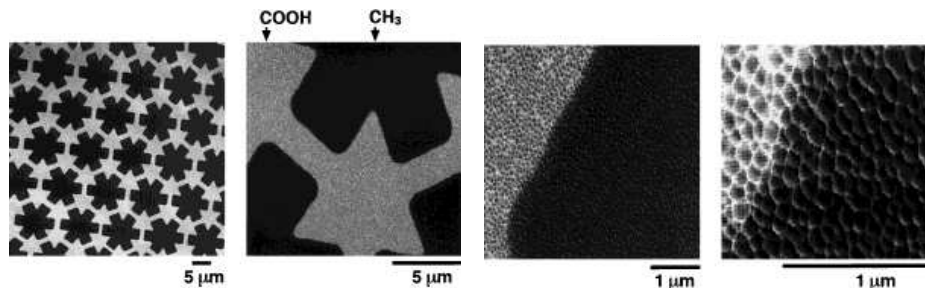
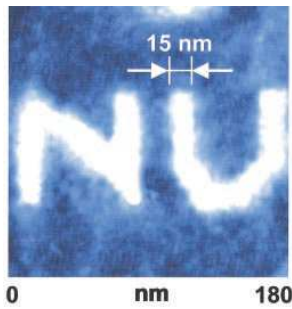


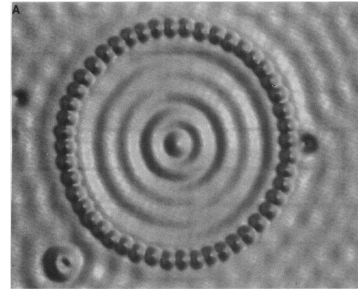
Figure II.1-11 : Surface d'or patternée par une monocouche auto-assemblée [213]

### iii. La lithographie par microscopie en champ proche

La lithographie par microscopie en champ proche (AFM, STM) consiste à utiliser l'interaction pointe / échantillon pour modifier les surfaces à l'échelle atomique en gravant, déposant ou déplaçant des atomes. Elle a permis de fabriquer des structures avec des dimensions allant de l'échelle atomique jusqu'à environ 100 nm [214-217], ce qui en fait actuellement la technique la plus efficace, en terme de résolution, dans le domaine de la fabrication de nanofils (Figure II.1-12 et Figure II.1-13). Elle est cependant très lourde à mettre en œuvre et ne permet pas une production en grande quantité.



*Figure II.1-12 : Lettres écrites par des molécules de MHA sur surface d'or par DPN [214]*



*Figure II.1-13 : Cercle de 142.6 Å réalisé par 48 atomes de Fe sur une surface de Cu grâce à une pointe STM [216]*

#### II.1.2.4 CHOIX D'UNE METHODE DE REALISATION

Les différentes techniques utilisant une approche bottom-up permettent de fabriquer rapidement d'importantes quantités de nanofils de diamètre très petit et dont les propriétés sont bien contrôlées. Des nanofils fabriqués par croissance VLS ont été utilisés comme canal d'un EOSFET pour détecter de faibles quantités de protéines [162, 218], d'ADN [118] ou même une particule de virus unique [163]. Cependant deux étapes très importantes dans le cadre du transfert des procédés de fabrication des EOSFET à l'échelle industrielle ne sont pas encore maîtrisées. Il s'agit de l'étape de transfert des nanofils sur une surface plane, et de celle de reprise de contact aux extrémités du nanofil.

Pour la suite de notre étude, nous avons donc choisi de réaliser des nanofils par une méthode top-down, qui permet de contrôler les dimensions, le positionnement, et le dopage des nanofils réalisés. Les techniques de lithographie par microscopie en champ proche sont très lourdes à mettre en œuvre, et les techniques de lithographie douce posent des difficultés pour aligner les différents niveaux de lithographie. L'institut de microélectronique de Singapour a développé une technique qui définit des lignes de silicium relativement larges par lithographie UV, cette largeur étant ensuite réduite par oxydation thermique [219, 220]. Cette technique a pour avantage un faible temps de réalisation, puisque l'insolation UV est réalisée globalement à travers un masque. L'université de Caltech utilise quant à elle une méthode de transfert appelée SNAP [221-223]. Cette méthode permet un transfert simple de nanofils métalliques ou semi-conducteurs sur un substrat de silicium à partir d'une matrice GaAs / AlGaAs (créée par épitaxie par jets moléculaires) gravée sélectivement. Son principal inconvénient est que la réalisation de nanofils de longueurs différentes nécessite de nombreuses étapes.

Dans le cadre de cette étude, nous avons choisi de réaliser les nanofils par la lithographie par faisceau d'électrons localisés, plus communément appelée lithographie e-beam. Cette technique allie l'avantage d'être très versatile puisqu'elle ne nécessite pas de masque à celui d'offrir une résolution atteignant classiquement la dizaine de nanomètres. Son principal inconvénient est qu'elle est relativement lente. Cependant nous verrons que la surface à insoler par e-beam étant relativement réduite dans nos dispositifs, cette limitation n'est pas une contrainte dans notre cas. Récemment plusieurs groupes ont choisi cette méthode pour réaliser le canal d'un EOSFET capable de détecter des protéines [224, 225] ou de l'ADN [166, 226].

### ***II.1.3 ELECTRODES DE SOURCE ET DRAIN***

#### **II.1.3.1 CONTRAINTES IMPOSEES PAR UNE UTILISATION DANS UN ELECTROLYTE**

Les deux principaux objectifs d'optimisation des transistors MOS en industrie sont une amélioration de ses performances et une augmentation de la densité de production par substrat de base. Pour satisfaire cette deuxième demande, les industriels fabriquent des transistors dont les électrodes de source et de drain sont de plus en plus petites et dont les reprises de contact sont très rapprochées du canal du transistor. L'encombrement total d'un transistor de longueur de grille 45 nm fabriqué par Intel est de  $0,348 \mu\text{m}^2$ .

Dans le cas de transistors EOS, il faut prévoir lors de la fabrication d'un dispositif que son canal devra être en contact avec un fluide alors que les reprises de contact sur ses électrodes de source et de drain devront être à l'air. Il faut donc déporter les reprises de contact loin du nanofil qui forme le canal. On ne souhaite pas imposer de contraintes importantes au niveau de l'apport des fluides sur le canal ; pour cela on décide de placer les reprises de contact des électrodes de source et de drain à environ 1 cm du canal du transistor. Cela réduit bien sûr le nombre de dispositifs que l'on peut mettre sur une puce, mais ce n'est pas critique pour les études à réaliser.

De plus, il faut prévoir sur toute la longueur des électrodes de source et de drain une passivation importante, afin de ne pas créer de courts-circuits à travers l'électrolyte entre l'électrode de source et celle de drain. Cette passivation doit avoir une épaisseur importante (plusieurs centaines de nanomètres) et résister aux différents fluides qui seront utilisés comme électrolytes (tampon phosphate, solutions de NaCl).

### **II.1.3.2 CONTRAINTES IMPOSEES PAR LA FONCTIONNALISATION CHIMIQUE**

Contrairement aux transistors MOS, la fabrication des transistors EOS n'est pas uniquement une suite d'étapes microélectroniques. Une étape de fonctionnalisation chimique peut être nécessaire afin de rendre le canal sensible aux éléments que l'on souhaite détecter. Cette étape pose des contraintes à prendre en compte lors de la fabrication microélectronique des composants : en effet tous les matériaux à la surface de la puce doivent être compatibles avec les traitements chimiques que la puce doit subir. Plus particulièrement, la passivation doit être suffisamment résistante, et nous choisirons de préférence des métaux nobles tels que l'or ou le platine, qui sont relativement inertes chimiquement.

## **II.2 BRIQUES TECHNOLOGIQUES COMMUNES**

Trois modes de fabrication ont été développés pour réaliser les composants utilisés dans cette étude. Quelque soit le mode de fabrication, le substrat de départ est identique. Ses caractéristiques seront détaillées dans un premier temps. Puis la première étape, commune aux trois modes et qui consiste à amincir le silicium de surface du substrat, sera expliquée.

### ***II.2.1 MODES DE FABRICATION***

Dans le monde de la microélectronique, il existe deux approches différentes mais complémentaires pour fabriquer des transistors : le mode collectif ou le mode puce à puce.

#### **II.2.1.1 LE MODE COLLECTIF**

Les industries phares de la microélectronique, Intel, IBM ou STMicroelectronics fabriquent leurs composants collectivement sur des disques de silicium de 300 mm de diamètre appelés wafer. Chaque lot de fabrication est composé de 25 wafers qui subissent les mêmes étapes au même moment.

### II.2.1.2 LE MODE PUCE A PUCE

Les organismes de recherche tels que le CNRS ou le CEA possèdent des salles blanches dites souples grâce auxquelles il est possible de fabriquer des dispositifs sur des disques de silicium plus petits (50 ou 100 mm) ou directement sur des puces prédécoupées à la taille désirée (typiquement quelques cm<sup>2</sup>).

### II.2.1.3 AVANTAGES ET INCONVENIENTS

Dans cette partie, nous souhaitons lister les avantages et inconvénients respectifs des deux modes de fabrication, qui ne sont pas indépendants les uns des autres.

#### i. Capacité de production

Le mode de fabrication collectif permet d'obtenir de façon parallèle un très grand nombre de puces, chacune comportant plusieurs dispositifs unitaires qui peuvent être différents. Sur un wafer de 300 mm de diamètre, on peut obtenir plus des centaines de puces (dans le cas de puces carrées de 1 cm de côté) et plusieurs millions de dispositifs.

Par nature, le mode de fabrication puce à puce ne permet pas d'obtenir un très grand nombre de composants rapidement, puisque l'objectif est de fabriquer une puce après l'autre.

#### ii. Versatilité

Le mode puce à puce permet de faire évoluer le procédé de fabrication d'une puce à l'autre pour obtenir les meilleures caractéristiques possibles, alors que dans le mode collectif toutes les plaques de silicium subissent les mêmes étapes au même moment. Il est donc nécessaire de fabriquer un autre lot de 25 plaques pour apporter des modifications.

#### iii. Performances

Les composants obtenus par une fabrication collective montrent généralement de meilleures performances que ceux obtenus par une fabrication puce à puce. En effet, comme ils subissent les mêmes étapes au même moment, les composants sont très reproductibles. De plus, des

règles très strictes d'utilisation des équipements et des matériaux (les matériaux contaminants tels que l'or sont interdits) garantissent une contamination quasiment nulle des composants.

iv. Contraintes techniques

Afin de garantir des performances optimisées sur les composants, les salles blanches industrielles imposent de nombreuses contraintes techniques lors de la fabrication des composants : certains matériaux (comme l'or) sont interdits, certaines étapes comme le lift-off ne sont pas jugées assez performantes pour être utilisées. Dans les salles blanches souples, c'est à chaque utilisateur de définir les contraintes techniques qu'il souhaite s'imposer selon l'application et les performances qu'il souhaite obtenir.

v. Coût

Selon le nombre de composants souhaités, l'une ou l'autre des approches peut s'avérer avantageuse. Pour fabriquer un petit nombre de composants, il vaut mieux utiliser un mode de fabrication puce à puce : moins de substrat de base et moins de quantité de matériaux à déposer permettent d'obtenir des composants pour un faible coût total. Si l'on souhaite au contraire obtenir un grand nombre de composants, le mode de fabrication collectif est le plus approprié grâce à sa capacité de production importante qui permet de réduire le coût unitaire d'une puce.

#### **II.2.1.4 CONCLUSIONS SUR LE MODE DE FABRICATION**

Au vu des avantages et inconvénients respectifs des deux modes de fabrication, nous avons décidé de réaliser trois architectures différentes.

La première architecture utilise un mode de fabrication puce à puce dans une salle blanche souple du CNRS (Nanofab – Institut Néel). Le travail de thèse a consisté à concevoir l'architecture et le design des composants ainsi qu'à les réaliser.

La deuxième architecture utilise un mode de fabrication hybride : toutes les premières étapes sont réalisées selon un mode collectif sur des wafers de 200 mm de diamètre dans les salles blanches de recherche industrielle du CEA-LETI. Seule la dernière étape, plus difficile à

transférer à cause des contraintes techniques imposées par ce mode de fabrication, a été réalisée sur les puces découpées. Le travail de thèse a dans ce cas consisté à concevoir l'architecture et le design des composants et à superviser les étapes de fabrication.

Enfin la troisième architecture utilise un mode de fabrication totalement collectif et compatible avec les procédés utilisés dans les salles blanches industrielles.

La Figure II.2-1 permet de clarifier le vocabulaire utilisé. Un lot est composé de 25 wafers, un wafer étant un disque de silicium, de 200 mm de diamètre dans notre cas. Chaque wafer peut être découpé en carrés de 2 cm de côté appelés puces. Enfin chaque puce contient plusieurs (entre 25 et 130) dispositifs. Chacun de ces dispositifs est un EOSFET dont l'architecture sera décrite pour chaque mode de fabrication utilisé.

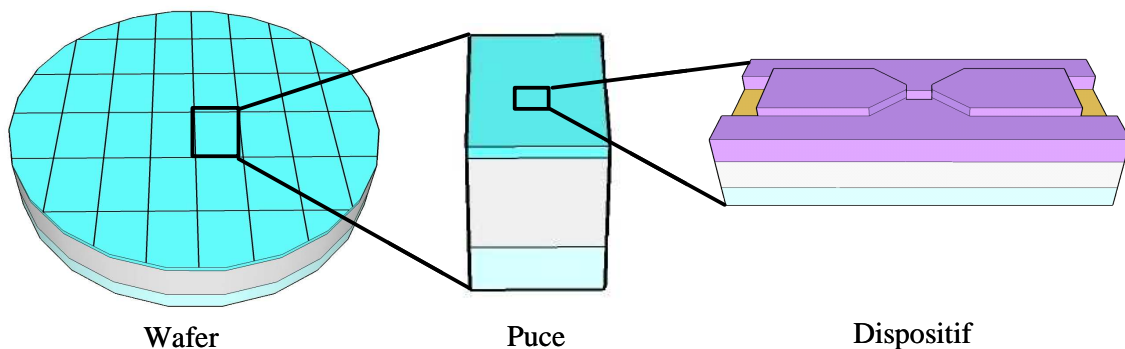


Figure II.2-1 : Vocabulaire

Quelque soit l'architecture étudiée, le choix du substrat de départ, ainsi que la première étape qui consiste à amincir le silicium de surface sont identiques et celle-ci est réalisée dans les salles blanches de recherche industrielle du CEA-LETI.

## II.2.2 CHOIX DU SUBSTRAT

Les différentes architectures étudiées sont réalisées à partir de substrats *Unibond<sup>TM</sup> SOI* fournis par la société *SOITEC*. La technologie utilisée (basée sur l'oxydation thermique, l'implantation ionique et le clivage de plaques de silicium) permet d'obtenir des substrats comportant une fine couche d'oxyde de silicium enterré qui offre une parfaite isolation électrique entre la couche active monocristalline de silicium (sur laquelle sera gravée le circuit) et le substrat de silicium massif (servant de support mécanique). De tels substrats

permettent d'obtenir des transistors de meilleure qualité grâce au silicium monocristallin de surface. De plus, un nombre moindre d'étapes technologiques est nécessaire puisqu'il n'y a pas à réaliser les caissons d'isolation entre les composants, contrairement aux technologies développées sur des substrats de silicium massif.

L'épaisseur de la couche de silice isolante (appelée BOX pour Buried Oxide) dans les substrats utilisés est de 400 nm, la couche de silicium de surface mesurant quant à elle 205 nm d'épaisseur. Afin de pouvoir graver des nanofils dans le silicium de surface, il est nécessaire de diminuer l'épaisseur de cette couche.

### **II.2.3 AMINCISSEMENT DU FILM**

Nous souhaitons obtenir une épaisseur finale de silicium de surface de 50 ou 25 nm. L'amincissement du film de silicium est réalisé par des étapes d'oxydation et de désoxydation successives. En effet, la croissance d'une couche de 100 nm d'oxyde thermique consomme 44.5 nm de silicium. Nous réalisons donc des cycles d'oxydation thermique sous O<sub>2</sub> en présence d'acide chlorhydrique (HCl) suivie d'une désoxydation à l'acide fluorhydrique (HF) pour ajuster au mieux l'épaisseur à la cible recherchée. La dispersion maximale obtenue en fin de procédé est d'environ 4 nm.

## **II.3 FABRICATION PUCE A PUCE**

Dans un premier temps, nous avons réalisé des composants selon un procédé puce à puce qui possède les avantages d'être rapide et peu coûteux. Cette première génération de composants nous a permis de mettre en place les différents éléments nécessaires à la réalisation des tests que nous détaillerons au chapitre suivant.

Cette étape nous a permis d'intégrer à l'architecture classique des MOSFET les contraintes dictées par une utilisation future des composants en milieu liquide, mais en s'affranchissant des celles liées à une fabrication sur un wafer entier. Les principales difficultés résident dans le fait que tous les matériaux en surface du composant doivent résister aux traitements chimiques imposés à la puce et que les contacts de source et de drain doivent être isolés pour ne pas créer de court-circuit à travers le fluide dans lequel la puce est testée.



La Figure II.3-1 résume les différentes étapes technologiques de la réalisation de ces prototypes rapides, qui sont ensuite décrites précisément dans les parties suivantes.

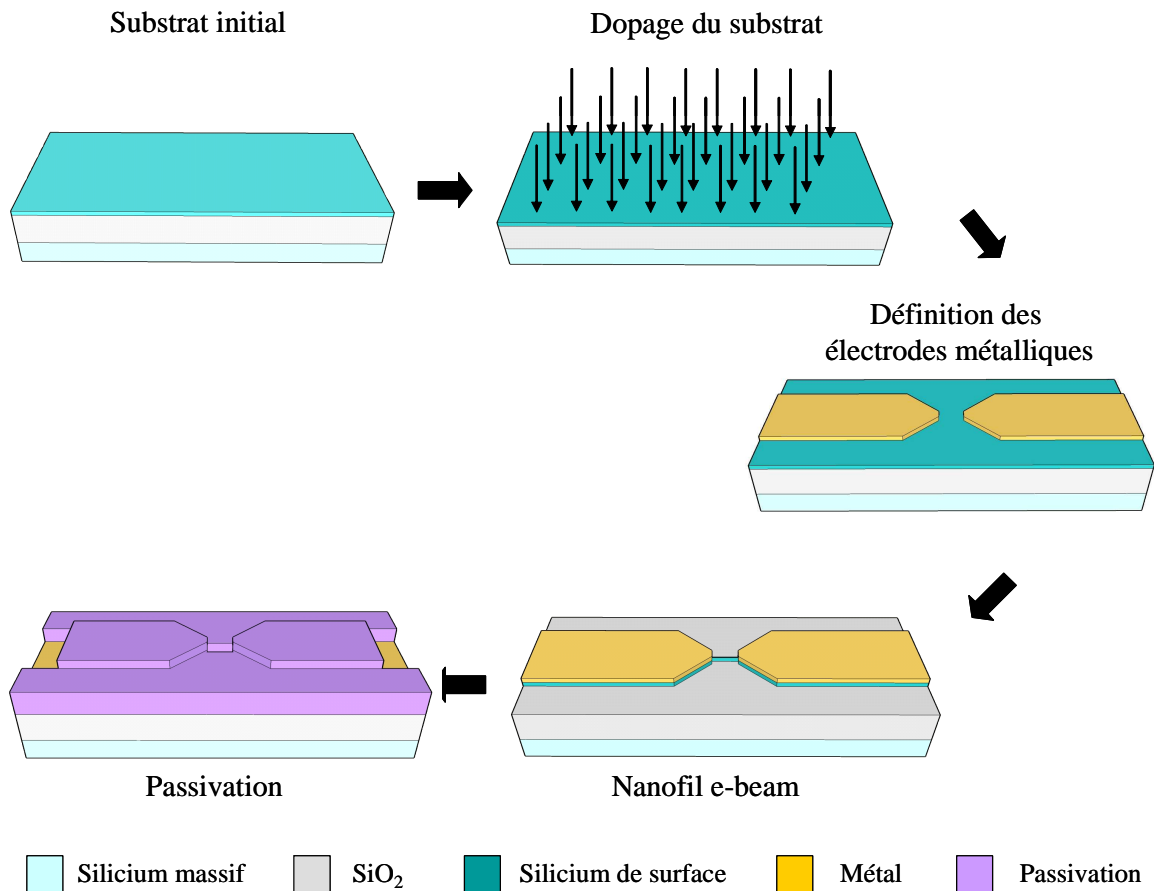


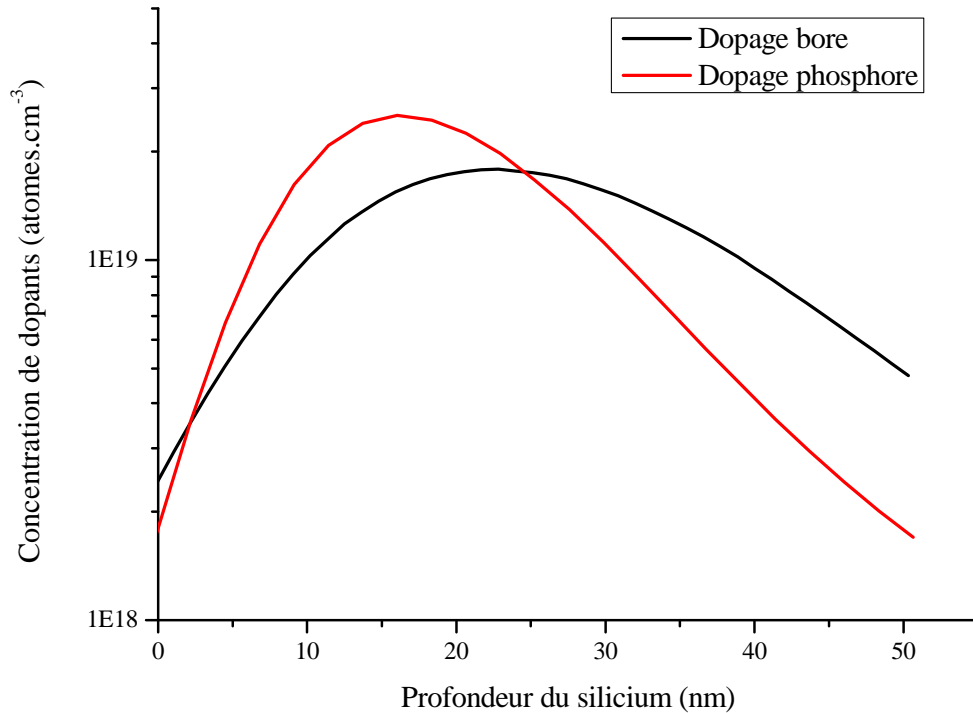
Figure II.3-1 : Principales étapes technologiques de la fabrication puce à puce

### II.3.1 DOPAGE DU SUBSTRAT

Les composants sont réalisés à partir des substrats SOI décrits au paragraphe précédent, et dont le silicium de surface a été aminci à 50 nm. Les électrodes de source et de drain mesurant environ 1  $\mu\text{m}$ , il est important que le silicium en contact avec le métal soit fortement dopé afin de diminuer les résistances d'accès jusqu'au canal.

Afin de simplifier le procédé de fabrication, les substrats sont entièrement dopés avant la découpe des puces individuelles. Le canal du transistor sera donc lui aussi fortement dopé, de même type que le dopage utilisé pour les source et drain. Les substrats subissent une implantation ionique soit de type bore, de dose  $7 \times 10^{13}$  atomes. $\text{cm}^{-2}$  et d'énergie 6 keV, soit de type phosphore, de dose  $6 \times 10^{13}$  atomes. $\text{cm}^{-2}$  et d'énergie 16 keV. Un logiciel développé par

les laboratoires du CEA-LETI permet de prévoir les concentrations en dopants selon les conditions d'implantation. Les résultats de la Figure II.3-2 montrent que l'on obtient suite à ces procédés une concentration de dopants comprise entre  $2 \times 10^{18}$  et  $2 \times 10^{19}$  atomes.cm<sup>-3</sup> dans l'épaisseur du silicium.



**Figure II.3-2 : Simulation de la distribution de la concentration de dopants selon la profondeur du silicium pour un dopage bore (dose  $7 \times 10^{13}$  atomes.cm<sup>-2</sup> - énergie 6 keV) et un dopage phosphore (dose  $6 \times 10^{13}$  atomes.cm<sup>-2</sup> - énergie 16 keV)**

Un recuit rapide (15 s) à 950°C sous atmosphère N<sub>2</sub> permet d'uniformiser la concentration en dopants dans le silicium. On obtient ainsi au final une concentration de donneur ou d'accepteur égale à  $5 \times 10^{18}$  atomes.cm<sup>-3</sup> dans le silicium de surface.

Le substrat utilisé est donc un substrat SOI dont l'épaisseur d'oxyde enterré est de 400 nm, et dont le silicium de surface a été aminci à 50 nm et dopé à une concentration de  $5 \times 10^{18}$  atomes.cm<sup>-3</sup> de type n ou p. Ces substrats sont ensuite découpés à la scie pour obtenir des puces individuelles de 20x20 mm<sup>2</sup>. Nous allons maintenant décrire les étapes de fabrication réalisées sur une puce. Un protocole détaillé de fabrication est disponible en Annexe A.

## **II.3.2 METALLISATION DES CONTACTS**

### **II.3.2.1 PREPARATION DE LA PUCE**

La première étape à réaliser sur les puces individuelles est de définir par lithographie UV des contacts métalliques qui correspondent aux électrodes de source et de drain. Pour cela, on dépose à la tournette une résine positive sur la puce individuelle. Cette résine est insolée grâce à un insolateur deep-UV puis développée chimiquement. L'insolateur utilisé est le modèle *MJB3* de la marque *Karl Suss* dont la longueur d'onde est de 248 nm. L'objectif est d'avoir de la résine uniquement aux endroits où l'on ne souhaite pas avoir de métal.

Afin d'assurer une résistance de contact la plus faible possible, il est important que le métal déposé sur les électrodes de source et de drain soit en contact direct avec le silicium. Or le silicium n'est pas stable à l'air, et forme une fine couche (1 à 2 nm) de silice appelée oxyde natif. Il est donc nécessaire de plonger les puces dans un bain d'acide fluorhydrique (HF) juste avant de déposer le métal sur celles-ci afin d'éliminer cette couche de silice native.

### **II.3.2.2 DEPOT DU METAL**

Suite à cette étape, différentes couches de matériaux sont déposées grâce à un évaporateur par canon à électron. La technique de dépôt par évaporation par faisceau d'électron consiste à diriger un faisceau d'électrons à haute énergie sur le matériau contenu dans un creuset. Celui-ci chauffe le matériau jusqu'à sa température d'évaporation. Le creuset étant refroidi par de l'eau, seule la surface du matériau est en fusion alors que le matériau en contact avec les parois du creuset reste solide. Ceci élimine les problèmes de contamination par le creuset et permet de déposer des couches de très grande pureté ; d'autant plus que le niveau de vide maintenu dans la chambre d'évacuation est très élevé (environ  $5 \times 10^{-7}$  mbar).

Cette technique de dépôt de métal a cependant deux inconvénients majeurs qui empêchent son utilisation dans les salles blanches de microélectronique qui travaillent sur wafer entier. Les dépôts réalisés par cette technique ne sont pas très conformes. De plus, si une trop forte puissance est utilisée, des gouttelettes de métal peuvent être éjectées hors du creuset et se déposer sur le substrat.

Dans notre procédé technologique, une couche de 5 nm de titane puis une couche de 100 nm d'or sont successivement évaporées sur la puce. La couche de titane est une couche

d'accroche qui permet d'assurer l'adhésion de l'or sur le silicium. Le matériau visible à la surface de la puce est de l'or, qui est un des matériaux les plus inertes chimiquement. La présence de ce matériau en surface permet de rendre les dispositifs compatibles avec les traitements chimiques détaillés dans le chapitre 4. D'autres essais ont aussi été réalisés avec des couches d'accroche différentes (nickel ou chrome) ainsi qu'avec du platine pour remplacer l'or en surface, le platine étant lui aussi inerte chimiquement. Aucune différence sur les caractéristiques électriques à l'air ou en milieu fluide n'a été observée sur les dispositifs réalisés avec différents types de matériaux.

### II.3.2.3 DEFINITION DES ELECTRODES METALLIQUES

Les puces sont ensuite plongées dans un bain d'acétone, ce qui permet de dissoudre la résine qui n'avait pas été insolée. Le métal présent au-dessus de la résine est emporté par la dissolution de la résine. Ce procédé est appelé un lift-off ; il ne peut fonctionner que si les flancs de la résine sont accessibles à l'acétone ; il faut ainsi que l'épaisseur de la résine soit supérieure à celle du métal déposé et que le dépôt métallique ne soit pas conforme, ce qui est le cas d'un dépôt par évaporation thermique.

Les différentes étapes de cette technique de métallisation permettent d'obtenir une résolution finale au micron près sur les électrodes métalliques. Cette résolution est suffisante pour les applications visées, sachant que les électrodes métalliques mesurent environ 150  $\mu\text{m}$  de largeur et 1 cm de longueur.

La Figure II.3-3 représente un dispositif unique présent sur la puce. A cette étape, il comporte deux électrodes métalliques lithographiées au dessus du silicium fortement dopé de surface.

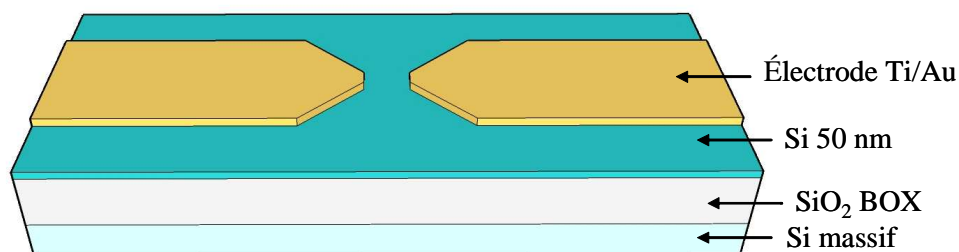


Figure II.3-3 : Electrodes métalliques de source et drain

### II.3.3 NANOFILS E-BEAM

#### II.3.3.1 INSOLATEUR UTILISE

Les puces sont ensuite insolées pour définir des nanofils dans le silicium de surface. Pour cela, la puce est recouverte de résine positive poly(méthylmethacrylate) ou PMMA, connue pour sa haute résolution intrinsèque. Les puces sont ensuite insolées grâce à un système hybride MEB / E-beam *Léo 1530* piloté par un système *RAITH Elphy plus*. Ce logiciel permet de dessiner le motif que l'on souhaite insoler sur l'ordinateur et assure la conversion des données numériques de l'ordinateur en informations analogiques exploitables par le MEB et inversement.

#### II.3.3.2 STRATEGIE D'ALIGNEMENT

La densité de nanofils insolés par puce accessible par cet équipement est relativement réduite. En effet, il est nécessaire d'aligner cette étape de lithographie électronique à l'étape précédente de lithographie optique qui a permis d'obtenir les électrodes métalliques. La stratégie d'alignement utilisée, décrite en détail dans l'Annexe A, impose de positionner le nanofil au centre d'un carré de  $500 \times 500 \mu\text{m}^2$  vide de tout autre nanofil.

La Figure II.3-4 présente une photo optique en champ sombre réalisée suite à l'insolation des nanofils. On peut constater sur cette photo que le nanofil obtenu est bien centré sur les électrodes métalliques réalisées à l'étape précédente.

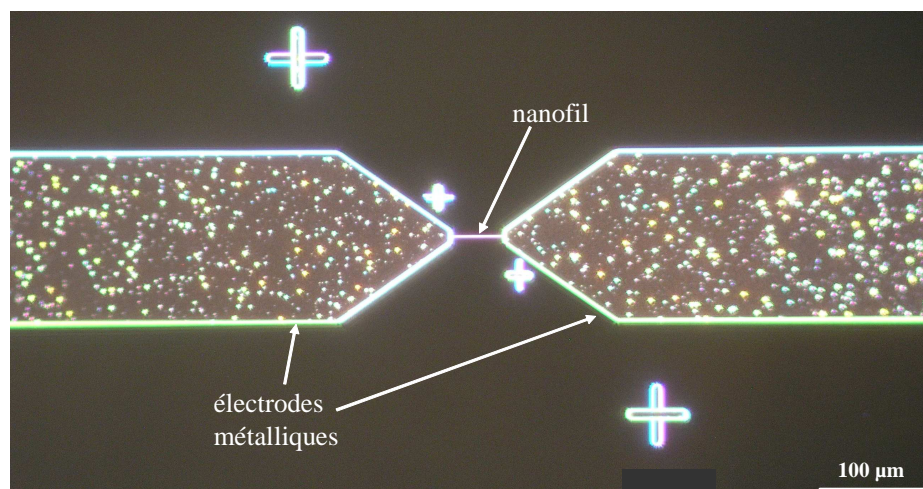


Figure II.3-4 : Photo optique en champ sombre d'un nanofil de 50 nm par 100 nm

### II.3.3.3 MODE DE TRANSFERT

La résine insolée est ensuite développée pour ne révéler que le futur nanofil. Une fine couche d'aluminium est ensuite déposée sur toute la puce, avant de réaliser un lift-off. L'aluminium va être emporté par la résine sauf au niveau du nanofil.

Il est alors possible de graver le silicium de surface grâce à une gravure ionique réactive (ou RIE) dans un bâti *Plasys*. Lors de cette gravure anisotrope, le nanofil est protégé par l'aluminium, et les électrodes métalliques en or ne sont pas attaquées. L'échantillon est introduit dans une enceinte reliée à un système de pompage. Du gaz SF<sub>6</sub> est introduit dans celle-ci et est transformé en un plasma réactif par l'intermédiaire d'une alimentation RF. Les espèces ionisées réagissent avec la surface de l'échantillon et les produits de réaction sont extraits par le système de pompage. Un suivi de la gravure par détection laser est possible. En plaçant le laser sur la zone de l'échantillon que l'on souhaite graver (ici sur le silicium), on détecte un changement de réflectivité lors du changement de matériau (ici lorsque l'on arrive sur la silice du substrat).

En fin de gravure, il ne reste plus qu'à graver chimiquement l'aluminium pour obtenir le nanofil de silicium.

Il aurait été possible de diminuer le nombre d'étapes à réaliser pour obtenir le nanofil de silicium en utilisant une résine négative. Cependant les résines négatives électrosensibles à notre disposition ont une résolution bien inférieure à la résine PMMA utilisée. C'est pourquoi nous avons privilégié ce procédé de fabrication des nanofils.

La Figure II.3-5 récapitule les principales étapes de réalisation du nanofil sur un dispositif unique présent sur la puce. A la dernière étape, il comporte un nanofil de silicium fortement dopé raccordé par deux électrodes métalliques lithographiées au dessus du silicium fortement dopé de surface.

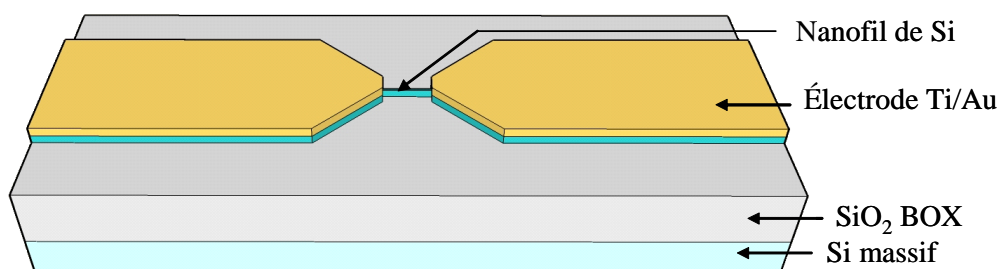


Figure II.3-5 : Gravure du nanofil de silicium

## II.3.4 PASSIVATION

### II.3.4.1 CHOIX DE LA COUCHE DE PASSIVATION

Une passivation des électrodes métalliques de source et de drain est obligatoire si l'on souhaite utiliser les dispositifs dans un environnement fluide, afin d'empêcher les courts-circuits entre la source et le drain par l'électrolyte. La couche de passivation utilisée doit pouvoir être déposée en couche suffisamment épaisse (quelques centaines de nanomètres) et résistante aux différents produits chimiques utilisés pour fonctionnaliser les surfaces (ces produits chimiques seront détaillés au chapitre 4).

Des dépôts de couches de diélectrique tels que du  $\text{SiO}_2$  ou du  $\text{Si}_3\text{N}_4$  répondent aux deux exigences pré-citées. Cependant, la technique de transfert par lift-off pour des couches de diélectrique est mal adaptée ; en effet les dépôts de diélectrique conduisent à des dépôts beaucoup plus conformes que ceux de métaux. Les flans de la résine sont ainsi difficilement accessibles pour réaliser un lift-off. Un procédé de transfert par gravure sélective est envisageable, mais de nombreuses étapes sont nécessaires afin de protéger correctement l'oxyde du substrat sur lequel repose le nanofil (afin de ne pas décoller le nanofil) pendant la gravure.

Notre choix s'est donc porté sur une couche de passivation réalisée par une résine polyimide, plus particulièrement la résine PI2723 de *HD Microsystems*. Cette résine présente l'avantage d'être photosensible, de pouvoir être déposée facilement en couche de quelques microns, et d'être résistante, après recuit, à la plupart des acides et des solvants couramment utilisés en chimie.

### II.3.4.2 ALIGNEMENT

La résine PI2723 est photosensible, elle peut donc être insolée à travers un masque sur l'insolateur de modèle *MJB3* de la marque *Karl Suss* utilisé pour définir les électrodes métalliques. On souhaite que les électrodes métalliques soient entièrement recouvertes de résine de passivation, excepté aux extrémités du dispositif qui ne seront pas en contact avec le fluide, et qui serviront à reprendre le contact électrique sur la source et le drain. Il faut aussi réaliser une ouverture de la passivation au niveau du nanofil pour que celui-ci soit en contact avec le fluide.

L'objectif est d'aligner le plus précisément possible le masque utilisé à cette étape sur la puce, afin d'ouvrir la passivation aux endroits désirés. L'alignement se fait manuellement sur l'insolateur grâce à un microscope optique. On estime que la précision obtenue est un désalignement maximum de 2  $\mu\text{m}$ . La résolution de la résine étant d'environ 1  $\mu\text{m}$ , il est nécessaire lors du dessin du masque de prendre en compte ce désalignement éventuel de 3  $\mu\text{m}$  au niveau du nanofil. En effet si l'ouverture au niveau du nanofil est exactement de la même longueur que le nanofil, et que l'on est décalé à cause de la précision d'alignement ou de la résolution de la résine, on va ouvrir la résine sur une des électrodes métalliques, provoquant ainsi un possible court-circuit dans l'utilisation finale.

Le dessin du masque prend ainsi en compte un désalignement possible de 3  $\mu\text{m}$  de chaque côté du nanofil. La dimension de l'ouverture sur le nanofil correspond à la longueur du nanofil diminuée de 6  $\mu\text{m}$ . Cette contrainte nous oblige à avoir des nanofils relativement longs, entre 25 et 50  $\mu\text{m}$ .

### II.3.4.3 DISPOSITIF FINAL

Après le dépôt, l'insolation et le développement de la résine, la puce est recuite sur une plaque chauffante afin de rendre la résine résistante chimiquement. La Figure II.3-6 représente un dispositif unique présent sur la puce. Il comporte un nanofil de silicium fortement dopé raccordé par deux électrodes métalliques lithographiées au dessus du silicium. Le tout est passivé par la résine qui est ouverte en bord d'électrodes pour définir les plots de reprise de contact et sur le nanofil pour que celui-ci soit en contact avec le fluide. La Figure II.3-7 est une photo réalisée grâce à un microscope optique d'un dispositif final, où l'on voit l'ouverture de la passivation sur le nanofil.

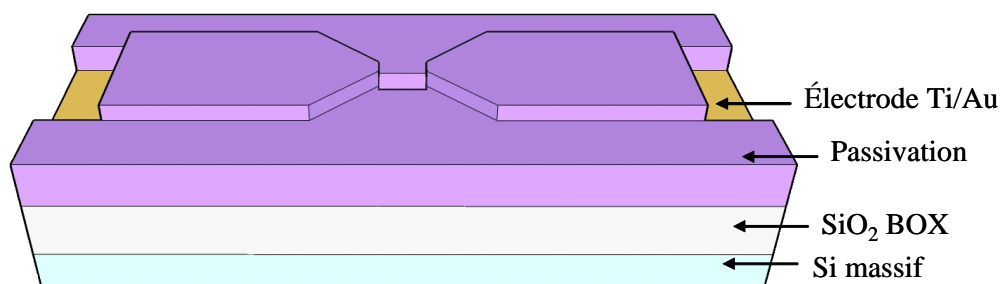
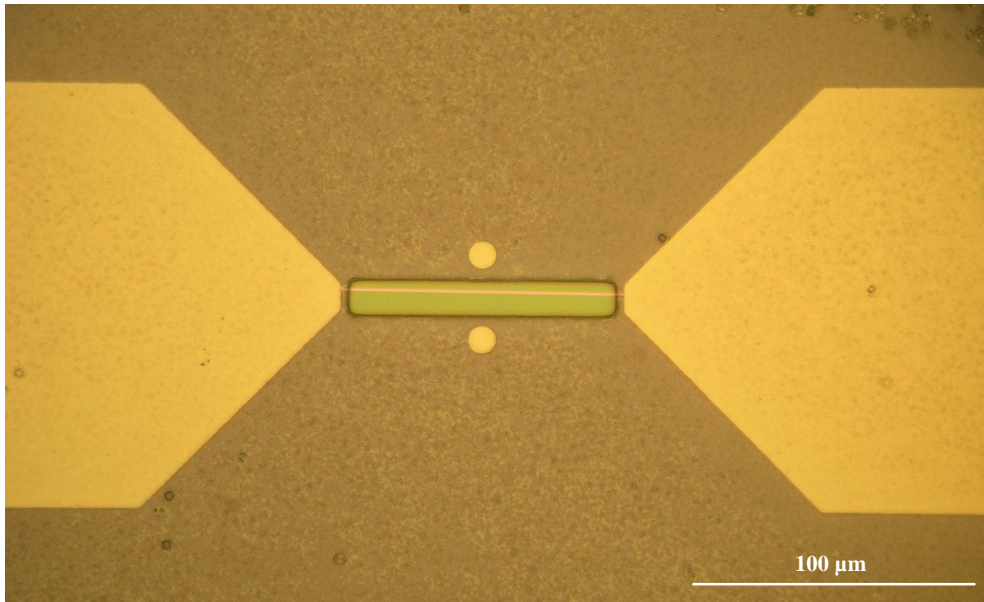


Figure II.3-6 : Schéma d'un dispositif final





*Figure II.3-7 : Photo optique d'un dispositif final*

## **II.4 FABRICATION HYBRIDE**

Après avoir développé une architecture complète pour fabriquer des prototypes grâce à un procédé puce à puce, nous avons réalisé les premiers tests de fonctionnement en milieu fluide afin de valider les choix technologiques réalisés. Suite à ces tests, la majorité des étapes de fabrication ont été adaptées afin de fabriquer des composants de manière parallèle sur 25 substrats de base. Cela nous permet d'obtenir plus rapidement un grand nombre de dispositifs. Seule la dernière étape a été réalisée selon le mode puce à puce.

Même si la fonctionnalité finale des composants reste identique, de nombreuses étapes ont été modifiées, soit pour répondre aux exigences de fabrication dans une salle blanche industrielle de microélectronique, soit pour améliorer les caractéristiques du dispositif.

La Figure II.4-1 résume les différentes étapes technologiques de la réalisation de ces puces sur wafer, qui sont ensuite décrites précisément dans les parties suivantes. Une description détaillée du design de ces puces est de plus disponible en Annexe B.

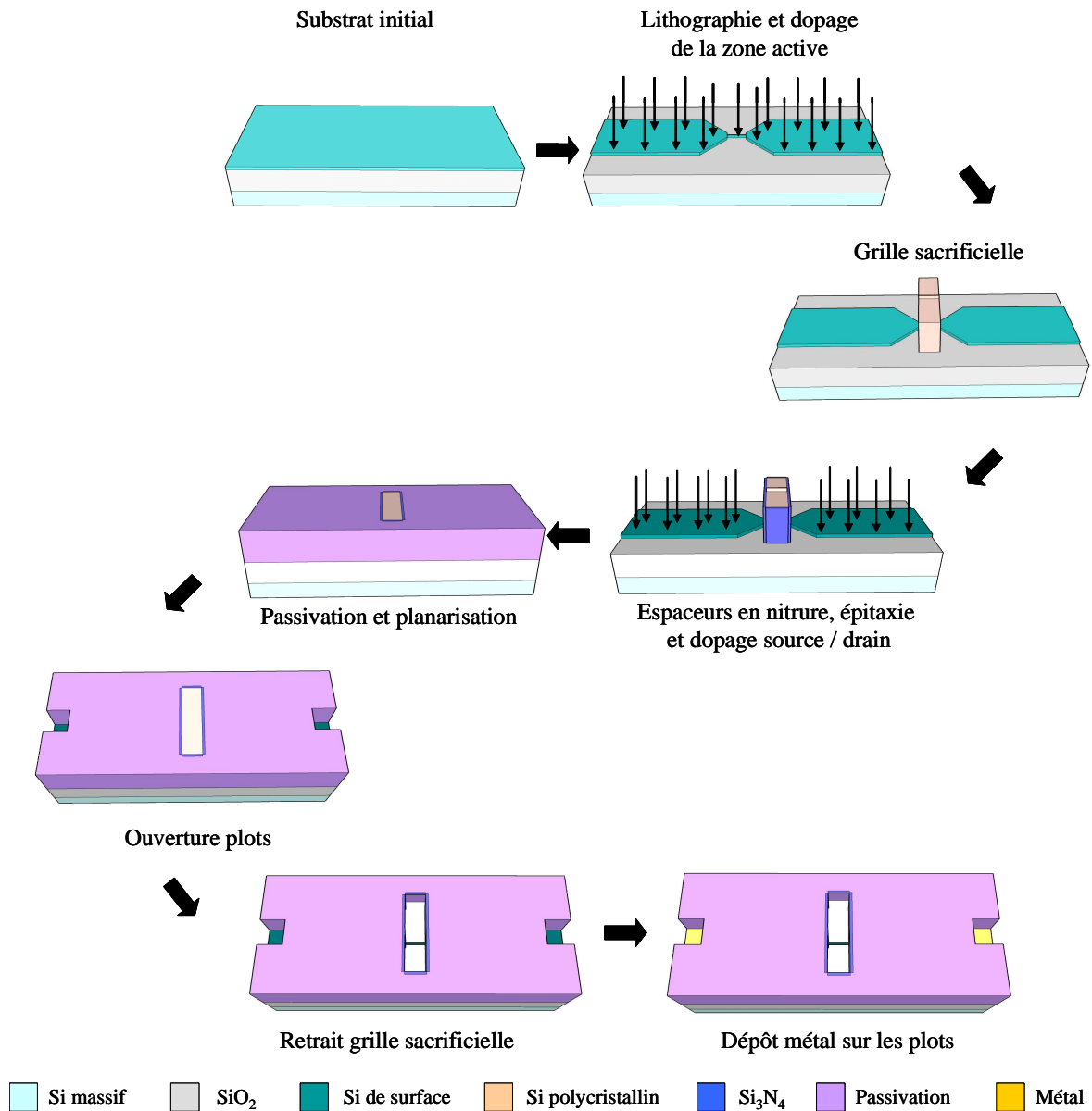


Figure II.4-1 : Principales étapes technologiques de la fabrication hybride

## II.4.1 DEFINITION DE LA ZONE ACTIVE

### II.4.1.1 EQUIPEMENTS UTILISES

Les substrats de départ sont des disques (wafer) de SOI de 200 mm de diamètre dont le silicium de surface a été aminci à 25 nm. Le choix est fait ici de commencer à graver dans le silicium les électrodes de source et de drain, ainsi que le nanofil, en une seule étape de lithographie. En effet, il est impossible de définir les électrodes de source et de drain en

déposant dès le début du procédé du métal, car les étapes suivantes utilisent des équipements dans lesquels la présence de métal est interdite, pour des questions de contamination.

Une résine négative sensible aux rayons UV profonds et aux électrons est déposée sur chaque wafer. Elle est tout d'abord insolée grâce à des rayonnements en ultraviolet profond (DUV) afin de définir les motifs dont toutes les dimensions sont supérieures à 300 nm ; c'est-à-dire les électrodes de source et drain. L'insolateur utilisé, qui fait partie des plus performants présents en industrie actuellement, permet une insolation par projection à travers un masque (avec une réduction d'échelle de 4) à une longueur d'onde de 248 nm. La résine est ensuite insolée par un faisceau d'électrons (e-beam) pour définir les nanofils. Cette technique permet d'insoler des nanofils de 50 nm de largeur. Ces deux insolutions sont réalisées dans l'équipement *LEICA VB6A*.

Il faut noter que l'insolation par faisceau d'électrons n'est pas, à l'heure actuelle, utilisée pour produire industriellement des composants microélectroniques, principalement à cause du temps d'exposition qui est relativement long si l'on souhaite insoler de nombreux motifs. Cependant dans notre cas, la densité de structures à graver en e-beam est relativement faible (environ 130 nanofils par puce). Les 40 puces présentes sur chaque plaque de SOI ont ainsi pu être insolées en une heure.

#### **II.4.1.2 STRATEGIE D'ALIGNEMENT**

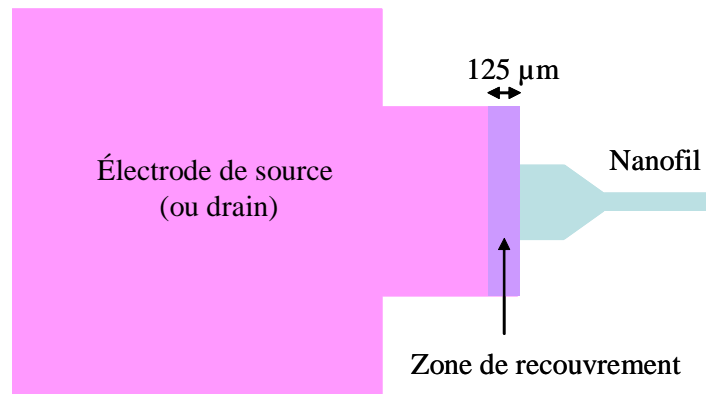
L'insolateur e-beam utilisé n'est pas associé à un MEB, la stratégie d'alignement mise en place est donc différente de celle utilisée pour les prototypes rapides.

En tout début de procédé, on insole sur chaque plaque de SOI, des marques d'alignements utilisées tout au long du procédé.

Les marques pour la lithographie e-beam sont des trous carrés de section  $10 \times 10 \mu\text{m}^2$  de profondeur 800 nm positionnés sur chaque puce. Leur détection repose sur le fait que les électrons rétro-diffusés restent piégés dans le trou. Un contraste d'intensité apparaît entre le trou et les parties hautes.

Les marques pour la lithographie optique sont constituées d'un réseau de traits de 8  $\mu\text{m}$  de large avec un pas de 16  $\mu\text{m}$  et de 120 nm de profondeur dans le silicium du substrat. Leur détection se fait par diffraction optique dans le réseau de franges des marques. Contrairement aux marques e-beam, ces dernières sont au nombre de 4 sur la plaque.

Avant chaque insolation, la détection de ces marques d'alignement permet d'obtenir un désalignement maximum entre 2 niveaux d'insolation égal à 125 nm. Les dessins des différents motifs prennent donc en compte ce désalignement possible. Par exemple, à cette étape, nous avons dessiné les électrodes de drain et de source insolées en lithographie optique, et les nanofils insolés en lithographie électronique de telle sorte que les motifs se recouvrent sur au moins 125 nm (Figure II.4-2).



*Figure II.4-2 : Recouvrement des motifs : en rose zone insolée par lithographie optique, en bleu zone insolée par lithographie électronique, en violet zone insolée par les deux lithographies*

### II.4.1.3 METHODE DE TRANSFERT

Après l'insolation de la résine, celle-ci est développée afin qu'elle protège uniquement les futurs emplacements du nanofil et des électrodes de source et de drain.

On procède alors à une gravure ionique réactive (RIE) de la résine. Les différents paramètres de gravure (débit, pression, puissance) sont ajustés afin d'obtenir une gravure isotrope. Les flancs de résine sont ainsi réduits de 10 nm de chaque côté de la structure, et plus particulièrement autour du nanofil. Une gravure anisotrope du silicium de surface est ensuite réalisée.

Un nanofil dessiné à 50 nm de largeur suite à la lithographie électronique, mesurera grâce à cette technique 30 nm de largeur suite à la gravure du silicium de surface. Les Figure II.4-3 et Figure II.4-4 représentent respectivement un schéma 3D d'un dispositif unique présent sur la puce et une image MEB de ce dispositif. A cette étape il comporte une zone active en silicium qui correspond au nanofil connecté par les électrodes de source et drain.

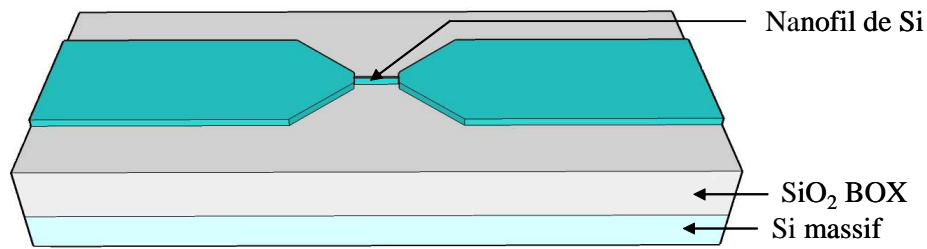


Figure II.4-3 : Schéma 3D d'un dispositif

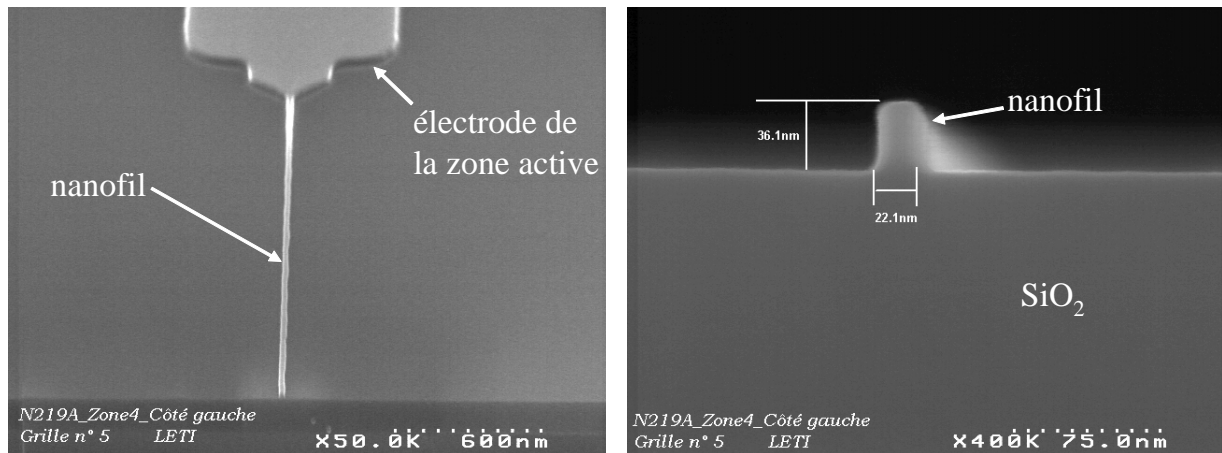


Figure II.4-4 : Images MEB d'un dispositif

## II.4.2 DOPAGE LOCALISE

### II.4.2.1 DOPAGE DU CANAL

Nous avons développé cette architecture de telle sorte qu'il soit possible de localiser le dopage des source et drain par rapport au dopage du nanofil (qui est le canal du transistor) ce qui a pour avantage de mieux contrôler les caractéristiques électriques du transistor. Ceci est réalisé grâce à la présence d'une grille sacrificielle qui sera décrite au II.4.2.2. On peut ainsi décider de doper faiblement ou fortement le canal du transistor, avec un dopage de type n ou p. Les quatre scénarios de dopage utilisés sont résumés dans le Tableau II.4-1. Après implantation, un recuit rapide (15 s) à 950°C sous atmosphère N<sub>2</sub> permet d'uniformiser la concentration en dopants dans le silicium.

Type de dopants	Arsenic		Bore	
Dose (atomes.cm <sup>-2</sup> )	6x10 <sup>10</sup>	1.5x10 <sup>13</sup>	8x10 <sup>10</sup>	2.5x10 <sup>13</sup>
Energie (keV)	15	15	4	4
Concentration de dopants (atomes.cm <sup>-3</sup> )	1x10 <sup>16</sup>	5x10 <sup>18</sup>	1x10 <sup>16</sup>	5x10 <sup>18</sup>

Tableau II.4-1 : Différents scénarios de dopage du canal

### II.4.2.2 DEPOT ET GRAVURE DE LA GRILLE

#### i. Dépôt de la grille

Suite au dopage de la zone active, on oxyde thermiquement celle-ci sur 10 nm avant de déposer 800 nm de silicium polycristallin. Cette épaisseur de silicium est destinée à réaliser une grille sacrificielle qui a pour but de protéger le nanofil de silicium pendant la suite du procédé de fabrication. On souhaite ainsi garder cette épaisseur sur le nanofil de silicium et la graver sur le reste de la puce, comme représenté sur la Figure II.4-5.

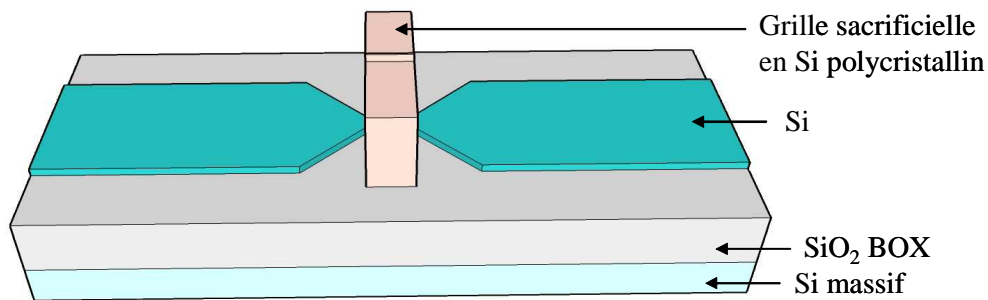


Figure II.4-5 : Schéma 3D d'un dispositif suite à la gravure de la grille

Dans les salles blanches de microélectronique du LETI, on sait graver classiquement des épaisseurs de 200 nm de grille. Or, il est important dans notre procédé d'avoir une épaisseur beaucoup plus importante afin de conserver à la fin du procédé une épaisseur suffisante de passivation, comme nous le verrons au II.4.3.2. Nous avons donc du développer un procédé personnalisé pour graver 800 nm de silicium polycristallin en s'arrêtant dans 10 nm d'oxyde thermique [227]. Deux problèmes principaux sont apparus lors de cette étape : l'apparition

d'espaceurs parasites au pied de la zone active et l'altération de la zone active en bord de grille (phénomène appelé trenching).

ii. Problèmes lors de la gravure

Lorsque l'on a gravé la zone active, on a légèrement gravé la silice présente sous la zone active. Le passage de marche entre la zone active et la silice est donc augmenté, et rend difficile l'attaque du silicium présent au pied de la zone active. On peut donc voir apparaître des espaceurs de silicium amorphe au pied de la zone active (Figure II.4-6).

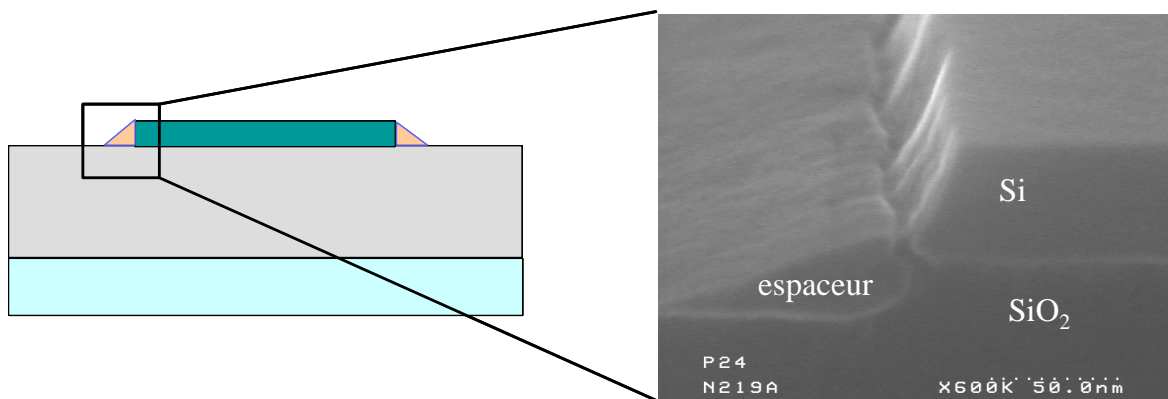


Figure II.4-6 : Schéma et image MEB des espaceurs

Le deuxième problème est appelé le trenching. Lorsque l'on grave la grille autour de la zone protégée par la résine, on a tendance à surgraver à l'aplomb de la résine. Cela peut conduire à une gravure totale de la zone active aux extrémités du nanofil (Figure II.4-7).

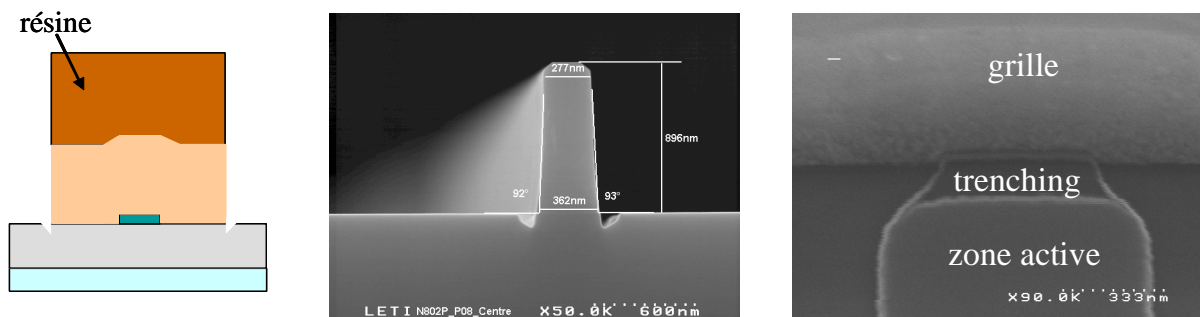


Figure II.4-7 : Schéma et images MEB du trenching

iii. Stratégie de gravure

Ces deux problèmes ont été résolus en jouant sur les temps respectifs des différentes étapes de la gravure. Le procédé final de gravure est basé sur 4 étapes qui ont chacune un rôle différent :

- Le Break Through (BT) sert à graver l'oxyde natif en surface du silicium
- Le Main Etch (ME) permet de graver le silicium polycristallin
- Le Soft Landing (SL) a pour but d'éviter l'attaque de l'oxyde thermique en réduisant la vitesse de gravure par rapport au Main Etch, et en augmentant la sélectivité par rapport au SiO<sub>2</sub>.
- L'Over Etch (OE) est très sélectif par rapport au SiO<sub>2</sub> et a pour but de finir la gravure des résidus de silicium.

Le Tableau II.4-2 résume les vitesses d'attaque de chacune des étapes sur une pleine plaque de silicium. L'étape de 5 secondes de Break Through permet dans chaque cas d'enlever la silice native.

	BT (60s)	BT (5s) + ME (60s)	BT (5s) + SL (60s)	BT (5s) + OE (60s)
V <sub>Si</sub> (nm/min)	87	210	110	29
V <sub>SiO<sub>2</sub></sub> (nm/min)	84	25	10	0.5

*Tableau II.4-2 : Vitesses de gravure de chacune des étapes de gravure*

Le procédé de gravure de la grille a été optimisé en jouant sur les temps respectifs de chaque étape de gravure. Après gravure, il ne reste pas d'espaceurs en bord de zone active et aucun problème de trenching n'est observé.

**II.4.2.3 DIMINUTION DES RESISTANCES D'ACCES**

Grâce à la présence de la grille sacrificielle, il est maintenant possible de doper les électrodes de source et drain du dispositif sans doper le canal. Pour cela, on commence par déposer du nitrure sur les dispositifs et à le graver. Une fine épaisseur de nitrure va rester sur les flancs de la grille, formant un espaceur isolant autour de la grille.



Afin de diminuer les résistances d'accès jusqu'au canal, il est intéressant de réaliser une épitaxie du silicium définissant les électrodes de source et de drain. Grâce à la présence de l'espaceur, cela est possible sans créer de court-circuit avec la grille. Cela nous permet d'obtenir une épaisseur moyenne de silicium de 45 nm. Une implantation ionique (de type n ou p selon les dispositifs) est ensuite réalisée pour obtenir des électrodes de source et de drain fortement dopées (environ  $1 \times 10^{19}$  atomes. $\text{cm}^{-3}$ ), ce qui permet d'augmenter la conductivité du silicium.

### **II.4.3 PASSIVATION**

#### **II.4.3.1 DEPOT DE DIELECTRIQUE**

Différentes couches de diélectriques sont successivement déposées sur les dispositifs. Celles-ci ont pour but d'isoler électriquement les électrodes de source et de drain afin d'empêcher les courts-circuits par l'électrolyte lorsque l'on utilise les dispositifs dans un environnement fluide. Ces couches doivent de plus être résistantes aux différents produits chimiques utilisés pour fonctionnaliser les surfaces.

Grâce à la présence de la grille sacrificielle qui protège le nanofil, nous pouvons envisager dans cette architecture des dépôts de diélectrique tels que du  $\text{SiO}_2$  ou du  $\text{Si}_3\text{N}_4$  qui pourront être gravés sans risque de décoller le nanofil. Les différentes couches de diélectrique sont déposées par un dépôt chimique en phase vapeur.

On dépose tout d'abord 50 nm de nitrure à basse pression (LPCVD : Low Pressure Chemical Vapour Deposition) et relativement haute température ( $725^\circ\text{C}$ ). Ce type de procédé permet d'obtenir un dépôt très uniforme et conforme avec un bon passage de marche.

La méthode de dépôt chimique en phase vapeur assistée par plasma (PECVD : Plasma Enhanced Chemical Vapour Deposition) permet ensuite de déposer 300 nm d'oxyde appelé TEOS. Cet oxyde est obtenu par la dissociation du tetraethylorthosilicate (ou TEOS) et peut par cette technique être déposé à basse température ( $400^\circ\text{C}$ ) tout en gardant une bonne conformité du dépôt.

Un plasma haute densité (HDP CVD : High Density Plasma Chemical Vapour Deposition) est utilisé pour obtenir une couche de 200 nm d'oxyde dopé au phosphore (oxyde PSG : phospho-silicate glass). Ce procédé permet d'obtenir un oxyde de très grande qualité, et le

dopage au phosphore permet de le rendre hygroscopique, c'est-à-dire qu'il absorbe l'humidité de l'air.

Enfin une dernière couche d'oxyde TEOS de 700 nm est déposée par PECVD.

La Figure II.4-8 correspond à deux images MEB d'un dispositif passivé : la première à gauche avant planarisation, la seconde après planarisation.

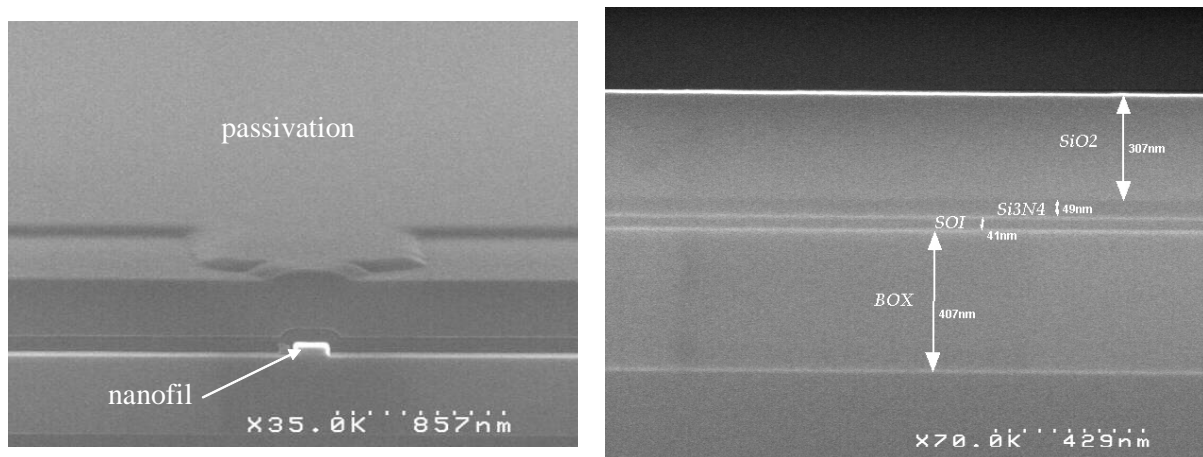


Figure II.4-8 : Images MEB d'un dispositif passivé

### II.4.3.2 PLANARISATION

L'objectif est maintenant de graver les différentes couches de diélectrique aux extrémités des électrodes de source et de drain, afin de pouvoir reprendre un contact ; ainsi que au dessus du nanofil pour pouvoir retirer la grille sacrificielle et libérer le nanofil.

Pour cela, nous allons tout d'abord procéder à une planarisation (ou polissage) mécano-chimique (CMP : Chemical Mechanical Planarization). La CMP est un processus combinant un mélange de gravure chimique et de polissage mécanique à abrasif libre. Le rodage mécanique seul cause trop de dégâts sur les surfaces. La gravure humide étant isotropique, elle ne permet pas quant à elle d'obtenir une bonne planarisation. La CMP combine ces deux effets afin d'obtenir une surface plane de bonne qualité.

Dans notre cas, le procédé de CMP permet de planariser les épaisseurs de diélectrique en s'arrêtant sur la grille en silicium présente au-dessus du nanofil. Suite à ce procédé de planarisation, nous souhaitons conserver une épaisseur totale de diélectrique suffisamment importante (typiquement quelques centaines de nanomètres) sur les électrodes de drain et de

source pour assurer une bonne passivation. C'est pour cela qu'il était nécessaire d'avoir une épaisseur de grille importante (Figure II.4-9).

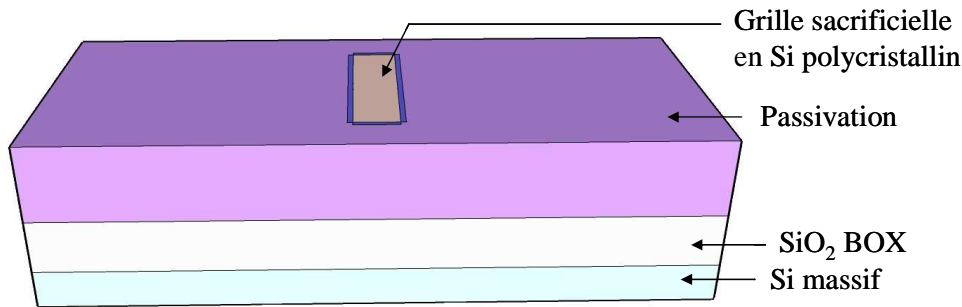


Figure II.4-9 : Schéma 3D de la CMP

### II.4.3.3 OUVERTURE PLOTS ET GRILLE

Les couches de passivation présentes sur les extrémités des électrodes de source et de drain sont gravées suite à une insolation en ultraviolet profond pour définir des plots de reprise de contact. Le désalignement induit par cette lithographie n'est pas critique puisque les plots mesurent  $300 \times 300 \mu\text{m}^2$ . Une gravure ionique réactive est utilisée pour éliminer les couches d'oxyde, et le nitrure est ensuite attaqué chimiquement.

Grâce au procédé de CMP réalisé sur les dispositifs, la grille sacrificielle présente au dessus du nanofil de silicium est maintenant accessible. Aucun procédé lithographique supplémentaire n'est nécessaire pour libérer le nanofil de silicium, ce qui permet de ne pas rajouter de désalignement entre la passivation et les extrémités du nanofil. Le silicium polycristallin de cette grille est simplement éliminé par une attaque chimique (TMAH).

La Figure II.4-10 représente respectivement un schéma 3D d'un dispositif unique présent sur la puce. A cette étape il comporte une canal en silicium dopé qui correspond au nanofil connecté par les électrodes de source et drain en silicium fortement dopé. Ces dernières sont entièrement passivées sauf à leurs extrémités. Enfin, on oxyde thermiquement le nanofil de silicium.

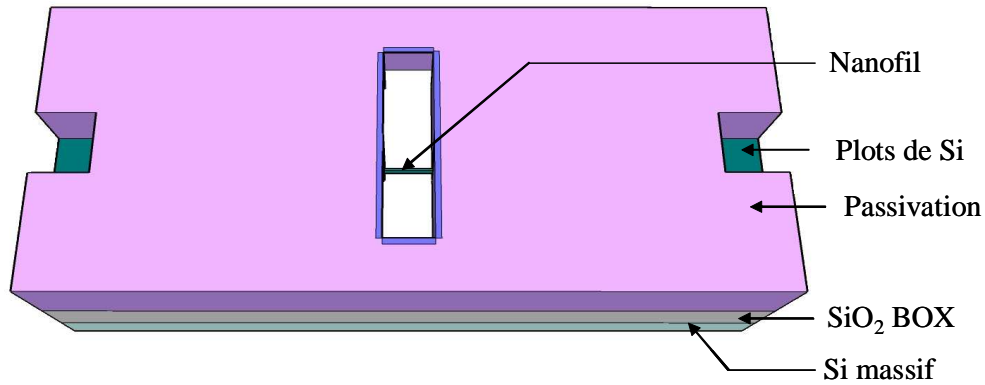


Figure II.4-10 : Schéma 3D d'un dispositif passivé suite à l'ouverture des plots et au retrait de la grille

#### II.4.4 METALLISATION

A ce stade du procédé de fabrication des dispositifs, la seule caractéristique manquante est un dépôt de métal sur les électrodes de source et de drain. Le métal que nous souhaitons déposer doit être compatible avec les fonctionnalisations chimiques détaillées au chapitre 4. Notre choix se porte donc vers les métaux nobles, à savoir l'or ou le platine. Or les métaux nobles en chimie sont des métaux contaminants pour la microélectronique. Vouloir métalliser les dispositifs avec l'un de ces métaux dans une salle blanche industrielle de microélectronique impose de nombreuses contraintes dont nous souhaitons nous affranchir dans un premier temps.

C'est pourquoi nous avons décidé d'arrêter la fabrication sur plaque entière après les étapes de gravure de la grille et des plots de reprise de contact. Les substrats sont donc ensuite découpés pour obtenir les puces individuelles. Nous réalisons alors une lithographie en ultraviolet profond avec le même équipement que celui utilisé pour fabriquer les dispositifs puce à puce. Suite à l'élimination de l'oxyde natif présent sur le silicium par un traitement à l'acide fluorhydrique (HF), nous évaporons par canon à électrons 5 nm de titane et 100 nm d'or. Un transfert par lift-off permet d'obtenir une couche d'or sur les plots de reprise de contact libérés de la passivation. La présence d'or sur ces plots est indispensable pour obtenir une bonne reprise de contact comme nous le verrons au chapitre suivant.

La Figure II.4-11 représente un schéma 3D d'un dispositif unique dont les plots sont métallisés.

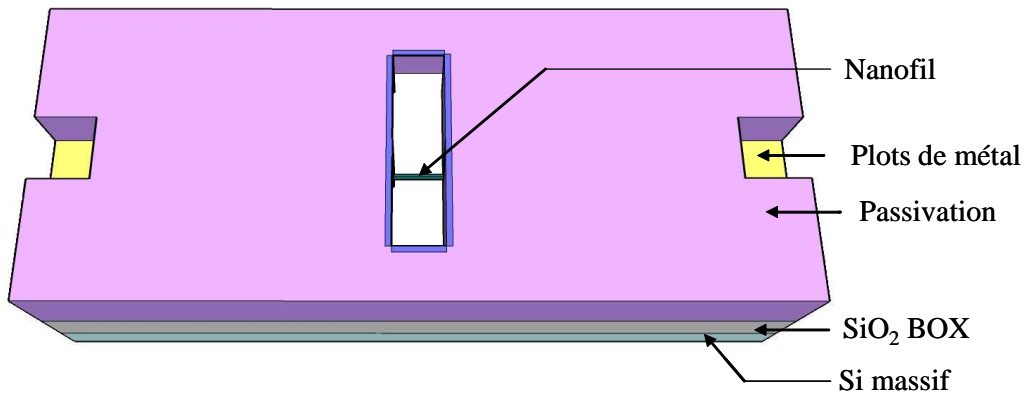


Figure II.4-11 : Schéma 3D d'un dispositif final

## II.5 VERS UNE FABRICATION INTEGRALEMENT SUR WAFER

Le point faible de la précédente architecture développée reste le dépôt du métal sur les plots. Celui-ci présente en effet trois inconvénients majeurs. En terme de temps de fabrication, il est beaucoup plus long d'avoir à réaliser cette étape puce à puce, plutôt que sur un wafer entier. De plus, la quasi-totalité des électrodes de source et de drain étant déjà passivées, on ne peut déposer du métal que sur environ 3% de la longueur de l'électrode. La présence de métal est donc ici utile pour obtenir une bonne reprise de contact, mais ne permet pas de diminuer significativement la résistance d'accès jusqu'au canal du transistor. Enfin, le dépôt de métal tel qu'il est réalisé ne permet pas d'avoir le meilleur contact ohmique possible entre métal et silicium : il est en effet préférable de réaliser une siliciuration avant de déposer le métal.

L'objectif de cette dernière architecture est ainsi d'intégrer la métallisation de la puce au niveau du wafer, en ajoutant une étape de siliciuration et de dépôt métallique avant la passivation. Le défi est de parvenir à graver cette couche métallique, qui n'est pas constituée d'un métal usuellement utilisé dans les salles blanches industrielles de microélectronique.

### II.5.1 CHOIX DU METAL

Les premières étapes de fabrication des composants sont identiques à celles réalisées pour la fabrication hybride, jusqu'aux étapes d'épitaxie et dopage localisé des électrodes de source et de drain.

Nous réalisons ensuite une étape de siliciuration des électrodes de source et de drain afin de réaliser une bonne reprise de contact entre le silicium et le métal. Une épaisseur de 6 nm de nickel est déposée sur les substrats, qui sont ensuite chauffés à 300°C pendant un temps assez court (90 s). Ce recuit permet d'activer une réaction entre le nickel et le silicium, formant une couche d'environ 13 nm de siliciure de nickel (NiSi). Le nickel n'ayant pas réagi (celui en contact avec la silice) est ensuite éliminé chimiquement. Lors de cette étape, la grille sacrificielle en silicium est protégée sur le dessus par une couche d'oxyde, et sur les côtés par les espaceurs en nitrure et n'est donc pas siliciurée.

Trois couches successives de métaux sont ensuite déposées : 30 nm de titane (Ti), 60 nm de nitrure de titane (TiN) et 100 nm de platine (Pt). La couche de titane est une couche d'accroche qui permet d'assurer l'adhésion du TiN et du Pt sur le siliciure de nickel. La couche de nitrure de titane est une couche barrière qui empêche la diffusion du platine dans les couches inférieures de matériaux. Enfin le choix du métal de surface, le platine, est un compromis entre un métal inerte chimiquement et un métal accepté dans les salles blanches industrielles du CEA-LETI. En effet, l'or est plus adapté à une fonctionnalisation chimique ultérieure des composants car le platine peut catalyser certaines réactions ; mais seul le platine était disponible car déjà utilisé pour former des siliciures de platine.

### **II.5.2 GRAVURE DU METAL**

Le défi de cette fabrication totalement sur wafer est de réussir à graver les différentes couches de matériaux déposés, et plus particulièrement le platine qui n'est jamais utilisé tel quel en microélectronique et pour lequel il n'existe donc aucune expérience de gravure. L'objectif est de ne laisser les matériaux que sur les électrodes de source et de drain.

Une élimination chimique en eau régale du platine a été envisagée, mais elle a donné lieu à des attaques latérales très importantes et qui sont pour le moment inexplicables.

Nous avons donc essayé de graver le platine par un procédé de gravure en sec. Or le platine ne réagit pas à la gravure ionique réactive (RIE), mode de gravure en sec le plus utilisé. Nous avons donc envisagé d'utiliser un autre mode de gravure en sec : la gravure par faisceau d'ions (IBE).

### **II.5.3 PASSIVATION**

La suite du procédé de fabrication des composants, à savoir les étapes de dépôt de couches de passivation, la planarisation, l'ouverture de la passivation au niveau des plots de reprise de contact et enfin le retrait de la grille sacrificielle, restent identiques aux étapes décrites dans la fabrication hybride. La seule contrainte réside dans le choix du mode de dépôt du nitrure de silicium. Cette première couche de passivation est déposée à haute température dans le cas de la fabrication hybride. Dans le cas d'une fabrication entièrement sur wafer, la métallisation étant réalisée avant la passivation, de telles températures de dépôt ne sont pas envisageables. Le nitrure de silicium est donc déposé par la technique PECVD à une température de 350°C, ce qui conduit à un dépôt de qualité équivalente. Seule la stoechiométrie du nitrure de silicium est quelque peu modifiée : on dit qu'il s'agit d'un dépôt de SiN et pas de Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>.

## **II.6 CONCLUSION**

La fabrication puce à puce nous a permis d'obtenir rapidement et à bas coût une petite quantité de composants. Ces composants ont été utiles pour mettre en place le banc de mesure électrique et fluide que nous allons détailler dans le prochain chapitre. Ils ont aussi permis une validation du principe de fonctionnement d'un EOSFET en tant que capteur pH.

Dans un deuxième temps, les composants réalisés par la technique hybride nous ont permis de réaliser la plupart des expériences décrites dans la suite de cette étude. Un plus grand nombre de composants, dont les propriétés étaient optimisées, étaient disponibles.

La fabrication totalement intégrée sur wafer a été réalisée en parallèle des tests sur les composants de deuxième génération. Ces composants n'ont pas pu, par manque de temps, être testés électriquement. La mise au point de cette architecture était néanmoins primordiale dans l'optique d'un éventuel transfert industriel des composants puisqu'elle a permis de prouver que l'on pouvait réaliser des composants fonctionnels avec une technologie compatible avec celle utilisée de nos jours dans certaines salles blanches industrielles.

---

## CHAPITRE III

### CARACTERISATION DES EOSFET

---

*De par sa fabrication, un EOSFET est un composant électronique dont la physique de fonctionnement présente des similitudes avec celle d'un MOSFET qui est bien connue à l'heure actuelle. L'utilisation de ce dispositif électronique dans un environnement fluide fait de plus intervenir la physique des interactions entre une surface solide et un électrolyte. Afin de réaliser une détection la plus efficace possible avec un EOSFET il est nécessaire de comprendre son principe de fonctionnement et ses caractéristiques principales sans fonctionnalisation préalable.*

*Dans une première partie nous développons le principe de fonctionnement d'un EOSFET en le décomposant en deux sous-systèmes : le MOSFET et l'interface électrode – électrolyte qui seront successivement décrits. Puis nous détaillons les différentes méthodes de mesure pouvant être utilisées pour caractériser les EOSFET. Enfin le comportement des EOSFET en milieu liquide ainsi que l'influence de certains paramètres sont présentés.*



## III.1 ETUDE THEORIQUE D'UN EOSFET

### III.1.1 STRUCTURE D'UN EOSFET

Un EOSFET est constituée d'un canal semi-conducteur et de 3 électrodes (en plus de l'électrode de substrat). Les électrodes de source et de drain situées aux extrémités du canal permettent, par l'application d'une tension  $V_D$  sur l'électrode de drain, la circulation d'un courant dans le canal semi-conducteur. Le canal, recouvert d'un oxyde, est plongé dans un électrolyte auquel on applique un potentiel à l'aide d'une électrode métallique que l'on appellera grille.

Afin d'éviter les courants de fuite des électrodes de source et de drain vers l'électrolyte, celles-ci sont recouvertes d'une couche isolante, et les reprises de contact sont déportées loin du canal semi-conducteur (Figure III.1-1).

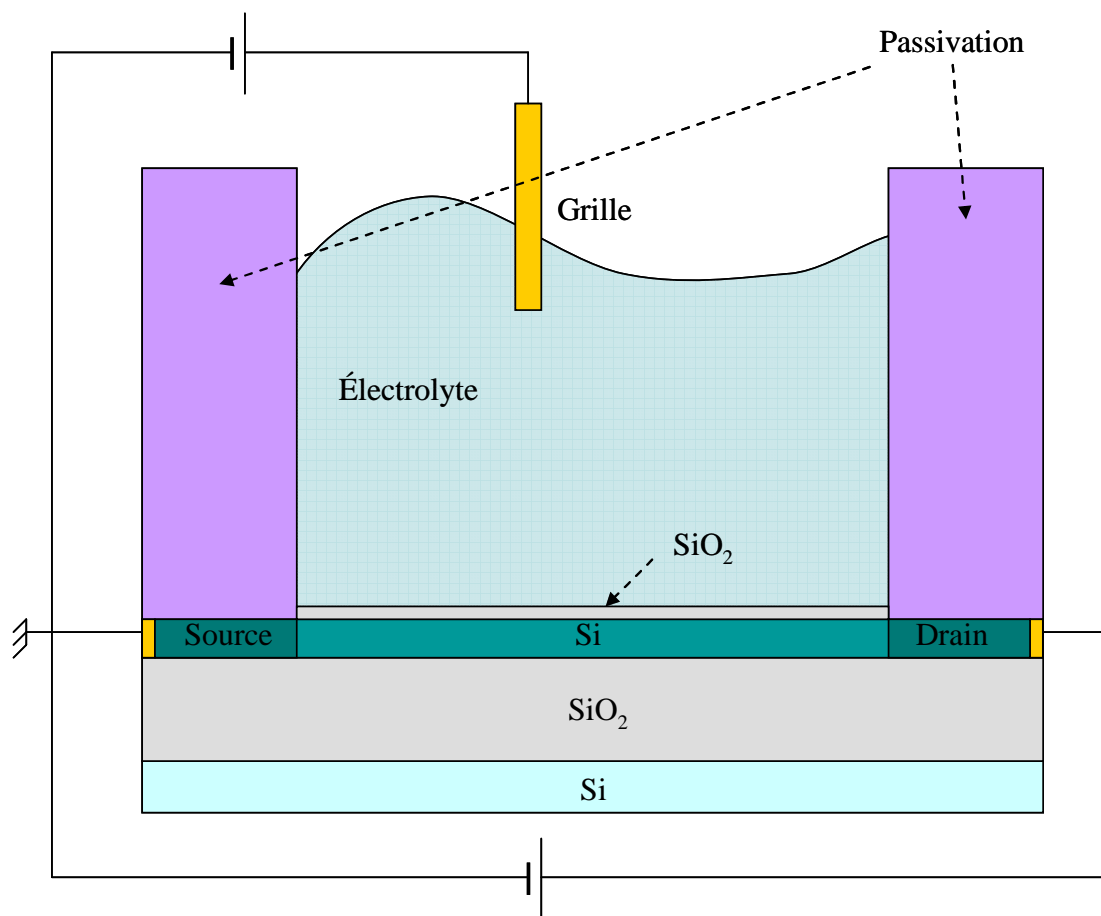


Figure III.1-1 : Structure d'un EOSFET

L'électrode de source est connectée à la masse. Une tension  $V_D$  est appliquée à l'électrode de drain qui permet au courant de circuler entre la source et le drain. La densité de porteurs de charges dans le canal du transistor est modulée

- par l'application d'une tension  $V_G$  sur la grille
- par la composition, la concentration en sels et le débit de l'électrolyte présent entre la grille et le canal du transistor
- et par les réactions chimiques ou biologiques qui ont lieu à la surface de l'isolant [228].

Un EOSFET peut ainsi être vu comme la combinaison de deux sous-systèmes (Figure III.1-2) :

- Un sous-système électrique dans lequel le canal du transistor serait directement en contact avec une électrode métallique, c'est-à-dire un transistor à effet de champ métal-oxyde-semi-conducteur (MOSFET)
- Un sous-système dans lequel la grille métallique est en contact avec un électrolyte, lui-même en contact avec la silice qui recouvre le canal de conduction.

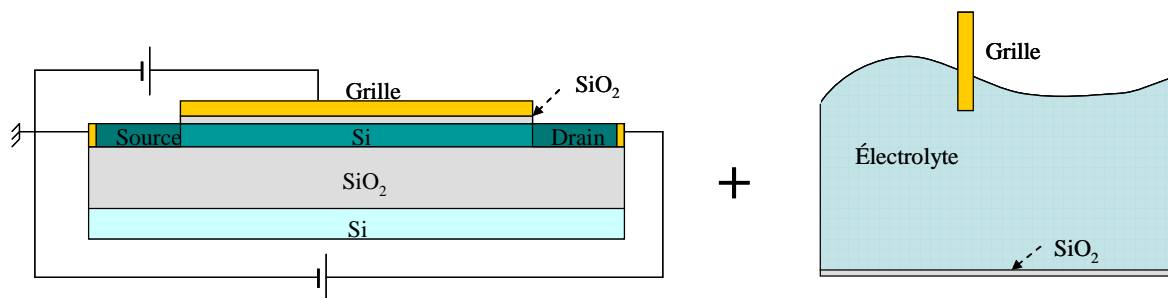


Figure III.1-2 : Décomposition d'un EOSFET en deux sous-systèmes

Dans la suite, après avoir décrit séparément chacun des deux sous-systèmes, nous donnerons et expliquerons les équations gouvernant le fonctionnement d'un EOSFET.

### III.1.2 ETUDE DU MOSFET

Le comportement d'un transistor MOS est bien connu [178, 179]. Nous présentons dans cette première partie un modèle simplifié permettant de décrire le fonctionnement d'un transistor idéal.

### III.1.2.1 STRUCTURE ET PRINCIPE DE FONCTIONNEMENT

Comme nous l'avons vu précédemment, le transistor MOS classique sur substrat SOI (pour Silicon On Insulator ou Silicium Sur Isolant) est constitué d'un canal semi-conducteur et comporte 3 électrodes (en plus de l'électrode de substrat). Deux réservoirs de porteurs situés aux extrémités du canal de conduction constituent les électrodes de source et de drain. Le canal est de plus recouvert d'une fine couche d'oxyde isolant sur laquelle est déposée une couche conductrice appelée électrode de grille (Figure III.1-3).

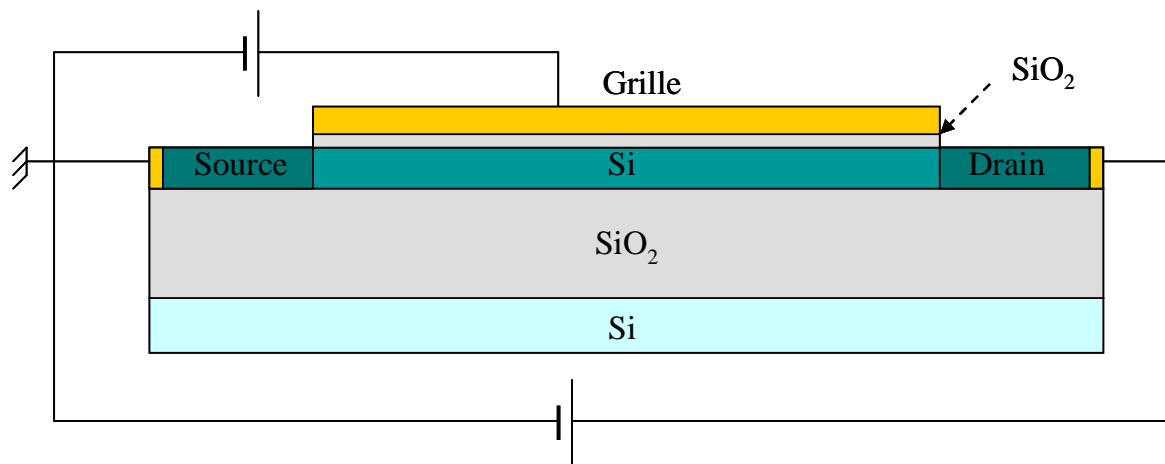


Figure III.1-3 : Structure d'un MOSFET

Les électrodes de substrat et de source sont généralement connectées à la masse alors que sur l'électrode de drain est appliquée une tension  $V_D$  qui permet au courant de circuler entre la source et le drain. La densité de porteurs de charges dans le canal du transistor, et donc l'intensité du courant entre les électrodes de source et de drain, est modulée par l'application d'une tension  $V_G$  sur l'électrode de grille.

### III.1.2.2 DIFFERENTS TYPES DE MOSFET

Selon les dopages respectifs du canal du transistor et des réservoirs de porteurs que sont les électrodes de source et de drain, on distingue 4 types différents de transistors MOS (Tableau III.1-1).

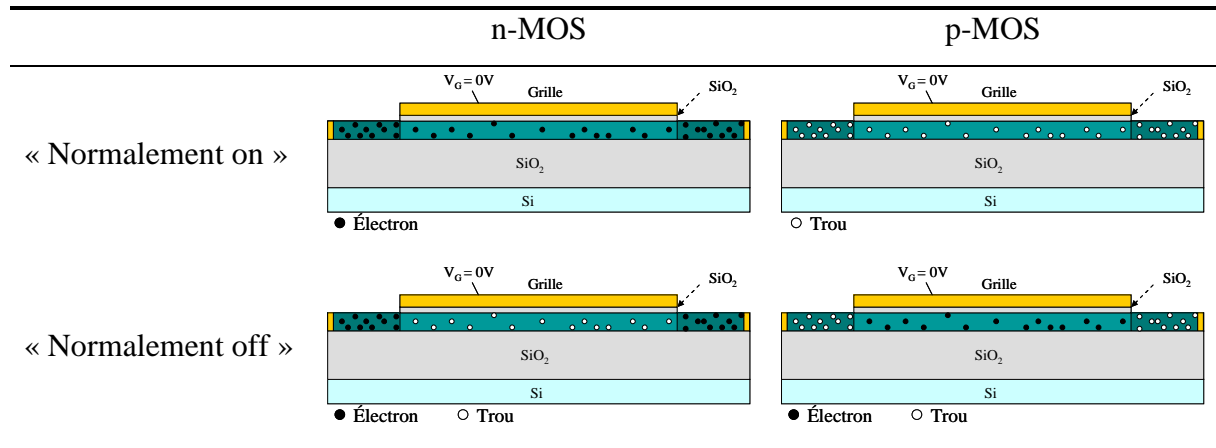


Tableau III.1-1 : Différents types de transistor MOSFET

Si les réservoirs de source et de drain contiennent majoritairement des porteurs de type n, le canal de conduction sera constitué d'électrons, et l'on dit que l'on a un transistor n-MOS. Au contraire, s'ils contiennent majoritairement des porteurs de type p, le canal de conduction sera constitué de trous, et l'on a un transistor p-MOS.

Pour chacun de ces deux types de transistors, on peut distinguer deux comportements selon le dopage du canal. Si, avec une polarisation nulle de l'électrode de grille, il y a un courant de conduction entre la source et le drain, on dit que le transistor est « normalement on » : on a alors un transistor à appauvrissement. C'est le cas pour un transistor de type n-MOS dont le canal de conduction est dopé avec des porteurs de type n. Si au contraire, le courant entre la source et le drain est nul avec une polarisation nulle de la grille, on dit que le transistor est « normalement off » : on a un transistor à enrichissement.

Dans la suite de cette partie, nous allons détailler le fonctionnement d'un transistor de type n-MOS à enrichissement (c'est-à-dire dont le canal est faiblement dopé avec des porteurs de type p) qui est le type de dispositif que l'on a le plus utilisé et caractérisé dans la suite de notre étude.

### III.1.2.3 REGIMES DE FONCTIONNEMENT

La Figure III.1-4 présente les régimes de fonctionnement d'un transistor de type n-MOS en fonction de la polarisation de la grille.

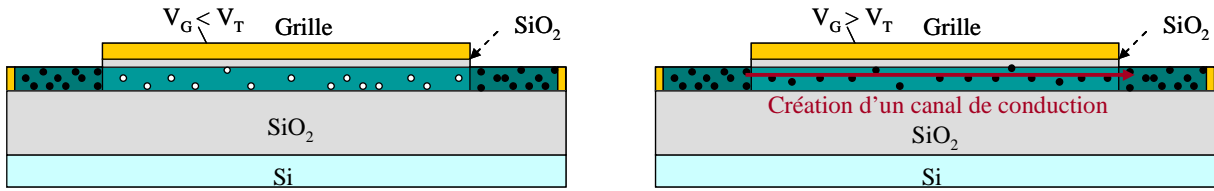


Figure III.1-4 : Régimes de fonctionnement du transistor n-MOS à enrichissement

En l'absence de toute polarisation, l'ensemble source-canal-drain est constitué de deux diodes pn têtes bêtes et aucun électron ne peut passer de la source vers le drain : le transistor est « normalement off ».

Afin de créer une couche d'inversion de type n dans le canal, il est nécessaire de polariser la grille à une tension positive  $V_G$  (par rapport à la source) supérieure à la tension de seuil  $V_T$  de la capacité MOS. Celle-ci a pour expression :

$$V_T = V_{FB} - \frac{Q_{dep}}{C_{ox}} + 2\phi_f \quad (III-1)$$

Dans cette expression, trois termes peuvent être distingués.

- Le terme  $V_{FB}$  est appelée la tension de bandes plates et correspond à la tension qu'il faut appliquer à la grille pour que la chute de potentiel dans le semi-conducteur  $\psi_{Si}$  soit nulle (Figure III.1-5).

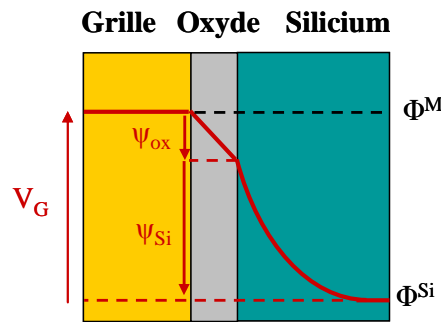


Figure III.1-5 : Diagramme des potentiels d'une structure MOSFET

D'après la Figure III.1-5, le potentiel appliqué à la grille  $V_G$  se décompose en trois contributions, l'une due à la différence des travaux de sortie du métal de grille  $\Phi^M$  et du silicium  $\Phi^{Si}$  ; la seconde due à la chute de potentiel dans l'oxyde  $\psi_{ox}$  ; la troisième due à la chute de potentiel dans le semi-conducteur  $\psi_{Si}$ .

Ainsi dans le cas d'un transistor MOS, la tension de bandes plates est égale à :

$$V_{FB} = \Phi^M - \Phi^{Si} - \psi_{ox} \quad (III-2)$$

La chute de potentiel dans l'oxyde est due à la présence de charges d'origines diverses (procédés de fabrication, défauts d'interface, contaminations accidentelles, introduction volontaire) et peuvent être localisées dans l'oxyde et à l'interface oxyde / semi-conducteur. On peut ainsi exprimer cette chute de potentiel par :

$$\psi_{ox} = \frac{Q_{ox} + Q_{ss}}{C_{ox}} \quad (III-3)$$

où  $Q_{ox}$  et  $Q_{ss}$  sont respectivement les charges localisées dans l'oxyde et à l'interface oxyde / semi-conducteur, et  $C_{ox}$  est la capacitance de l'oxyde.

- Le terme  $(-Q_{dep}/C_{ox})$  correspond à la tension nécessaire pour désertir le canal des porteurs de type p. Dans ce terme,  $Q_{dep}$  correspond à la charge de déplétion maximale dans le substrat.
- Enfin, le terme  $2\phi_f$  correspond à la tension nécessaire pour amener la structure en régime d'inversion forte,  $\phi_f$  étant le niveau de Fermi du semi-conducteur qui dépend du dopage du canal.

La Figure III.1-6 présente les régimes de fonctionnement d'un transistor de type n-MOS (pour lequel  $V_G$  est supérieur à  $V_T$ ) en fonction de la polarisation de drain  $V_D$ . Lorsque le drain est polarisé positivement par rapport à la source à une tension  $V_D$ , un courant de drain  $I_D$  circule alors dans le canal. En raison de la polarisation du drain, la capacité MOS est moins polarisée côté drain que côté source, l'épaisseur de la couche d'inversion dans le canal est donc plus importante côté source que côté drain. Cette variation d'épaisseur de la couche d'inversion pour une polarisation de grille  $V_G$  donnée dépend de la polarisation de drain  $V_D$ .

On définit quatre régimes de fonctionnement selon la valeur de  $V_D$  par rapport à une valeur particulière de tension de seuil appelée tension de saturation et notée  $V_{Dsat}$ .

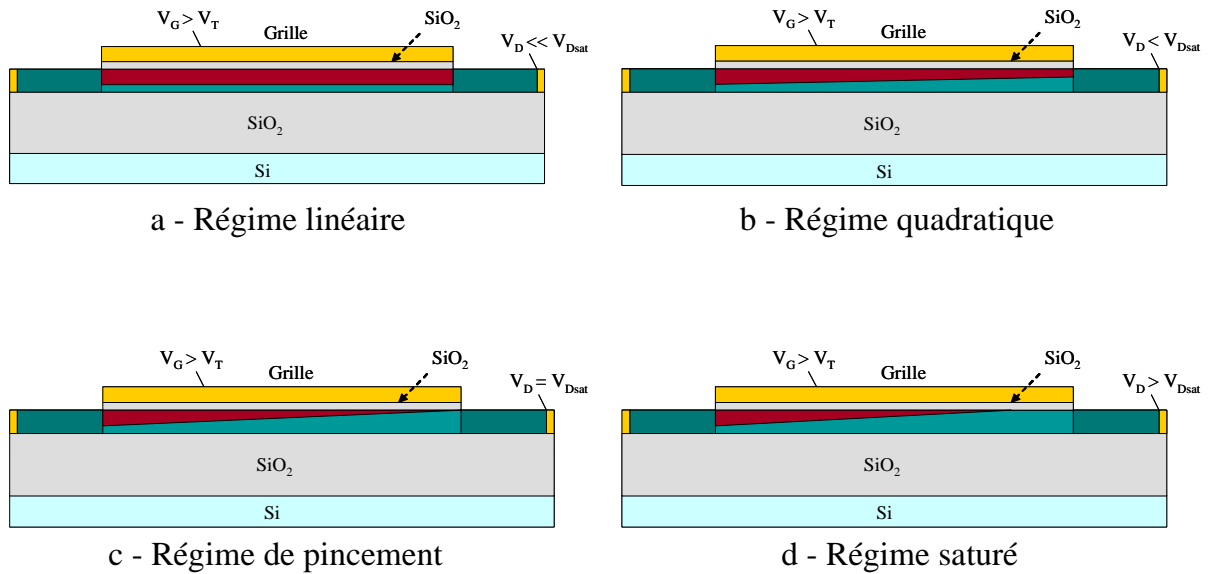


Figure III.1-6 : Régimes de fonctionnement du MOSFET

- Pour  $V_D \ll V_{Dsat}$ , la tension de drain est faible et l'épaisseur de la couche d'inversion dans le canal est quasiment constante. Le courant de drain varie proportionnellement à la tension de drain  $V_D$ , le transistor fonctionne en régime linéaire.
- Pour  $V_D < V_{Dsat}$ , la variation de la tension de polarisation de la capacité MOS le long du canal devient importante. La variation du courant de drain en fonction de la tension de drain n'est plus linéaire mais quadratique.
- Pour  $V_D = V_{Dsat}$ , on a ce que l'on appelle le régime de pincement. La capacité MOS n'est plus en inversion du côté drain, le courant de drain correspondant est appelé courant de saturation  $I_{Dsat}$ .
- Pour  $V_D > V_{Dsat}$ , la région voisine de l'électrode de drain n'est plus en inversion. Le point de pincement se déplace vers la source, la longueur du canal de conduction est ainsi réduite. La variation de longueur relative reste faible et le courant de drain reste ainsi constant et égal à  $I_{Dsat}$ , on dit que l'on est en régime saturé.

#### III.1.2.4 EXPRESSIONS ANALYTIQUES DES PRINCIPALES CARACTERISTIQUES

La Figure III.1-7 représente les caractéristiques théoriques  $I_D - V_D$  d'un transistor n-MOS à enrichissement pour différents  $V_G$  supérieurs à la tension de seuil  $V_T$ . On distingue clairement

sur ces courbes le régime de fonctionnement ohmique (qui comporte le régime linéaire et le régime quadratique) du régime saturé par la courbe en pointillés bleus. La Figure III.1-8 représente la caractéristique théorique  $I_D - V_G$  du même transistor tracée en échelle linéaire.

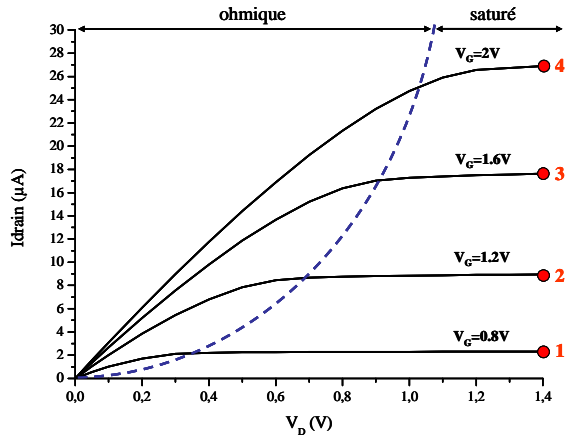


Figure III.1-7: Caractéristiques  $I_D - V_D$

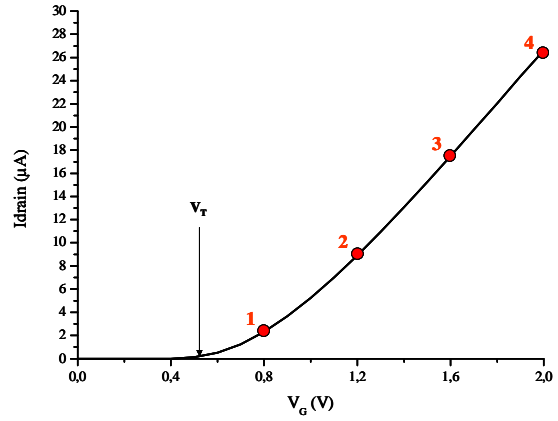


Figure III.1-8 : Caractéristique  $I_D - V_G$

La couche d'inversion de type n décrite précédemment ne disparaît pas complètement lorsque la tension  $V_G$  est inférieure à la tension de seuil  $V_T$ . La présence d'électrons résiduels dans le canal donne lieu à un courant de drain qui est principalement dû à un courant de diffusion et dont l'expression est la suivante :

$$I_D = \frac{Z\mu_p C_{ox}}{L} \phi_T^2 \exp\left(\frac{V_G - V_T}{(1 + C_{dep}/C_{ox})\phi_T}\right) \left(1 - \exp\left(-\frac{V_D}{\phi_T}\right)\right) \quad (\text{III-4})$$

avec  $L$  et  $Z$  respectivement la longueur et la largeur du canal,  $\mu_p$  la mobilité des porteurs,  $C_{ox}$  la capacitance de l'oxyde,  $C_{dep}$  la capacitance de la couche de déplétion, et :

$$\phi_T = \frac{kT}{q} \approx 26mV (\text{à } T = 300K) \quad (\text{III-5})$$

Lorsque la tension de polarisation de la grille  $V_G$  dépasse la tension de seuil  $V_T$ , l'expression du courant de drain  $I_D$  dépend du régime dans lequel le transistor se trouve.

- Pour  $V_D < V_G - V_T$ , on se trouve en régime ohmique. Le courant de drain est donné par l'expression suivante :

$$I_D = \frac{Z\mu_p C_{ox}}{L} \left(V_G - V_T - \frac{V_D}{2}\right) V_D \quad (\text{III-6})$$



Pour des tensions de drain faibles, c'est-à-dire pour  $V_D \ll V_G - V_T$ , on peut simplifier dans l'équation ( III-6 ) le terme  $V_D/2$ . On se trouve dans le régime linéaire et le courant de drain varie proportionnellement à la tension  $V_D$ . Les pentes des caractéristiques  $I_D - V_D$  et  $I_D - V_G$  sont fonctions de la géométrie du transistor par  $L$ ,  $Z$  et  $C_{ox}$  et de la tension de polarisation de la grille  $V_G$ . Pour des tensions de drain plus élevées, l'évolution du courant de drain est quadratique avec  $V_D$ .

- Pour  $V_D \geq V_G - V_T$ , on se trouve dans le régime de saturation. Le courant de drain devient indépendant de la polarisation de drain, et son expression prend la forme suivante :

$$I_{Dsat} = \frac{Z\mu_p C_{ox}}{2L} (V_G - V_T)^2 \quad (III-7)$$

### III.1.3 ETUDE DE L'INTERFACE ELECTRODE – ELECTROLYTE

A l'interface entre une électrode et un électrolyte, l'excès de charges contenu à la surface de l'électrode polarisée est contre-balançé par un excès de charges ioniques, de signe opposé, dans la solution. Le métal étant un excellent conducteur, l'excès de charges présent à sa surface est contenu dans une couche de très faible épaisseur, typiquement inférieure à l'angström. Au contraire, la solution ionique est un bien moins bon conducteur, ainsi l'excès de charge dans la solution existe dans une couche d'épaisseur beaucoup plus grande. Cette construction ressemble à une capacité et est connue sous le nom de double couche électrique [229] (Figure III.1-9).

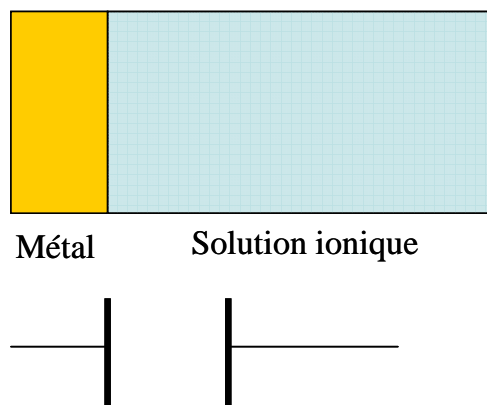


Figure III.1-9 : Schéma de la double couche électrique à l'interface métal – électrolyte

La double couche électrique est composée d'une couche compacte et d'une couche diffuse. La couche compacte est en contact direct avec l'électrode polarisée et est principalement composée de molécules d'eau absorbée et de contre-ions. Les charges électriques à l'intérieur de cette couche compacte sont immobiles à cause des interactions électrostatiques fortes avec la surface de l'électrode. La couche diffuse, située après la couche compacte, est beaucoup plus large que cette dernière et est composée d'un excès de contre-ions qui sont à la fois soumis à l'attraction due à l'électrode polarisée, mais aussi à une diffusion brownienne (Figure III.1-10).

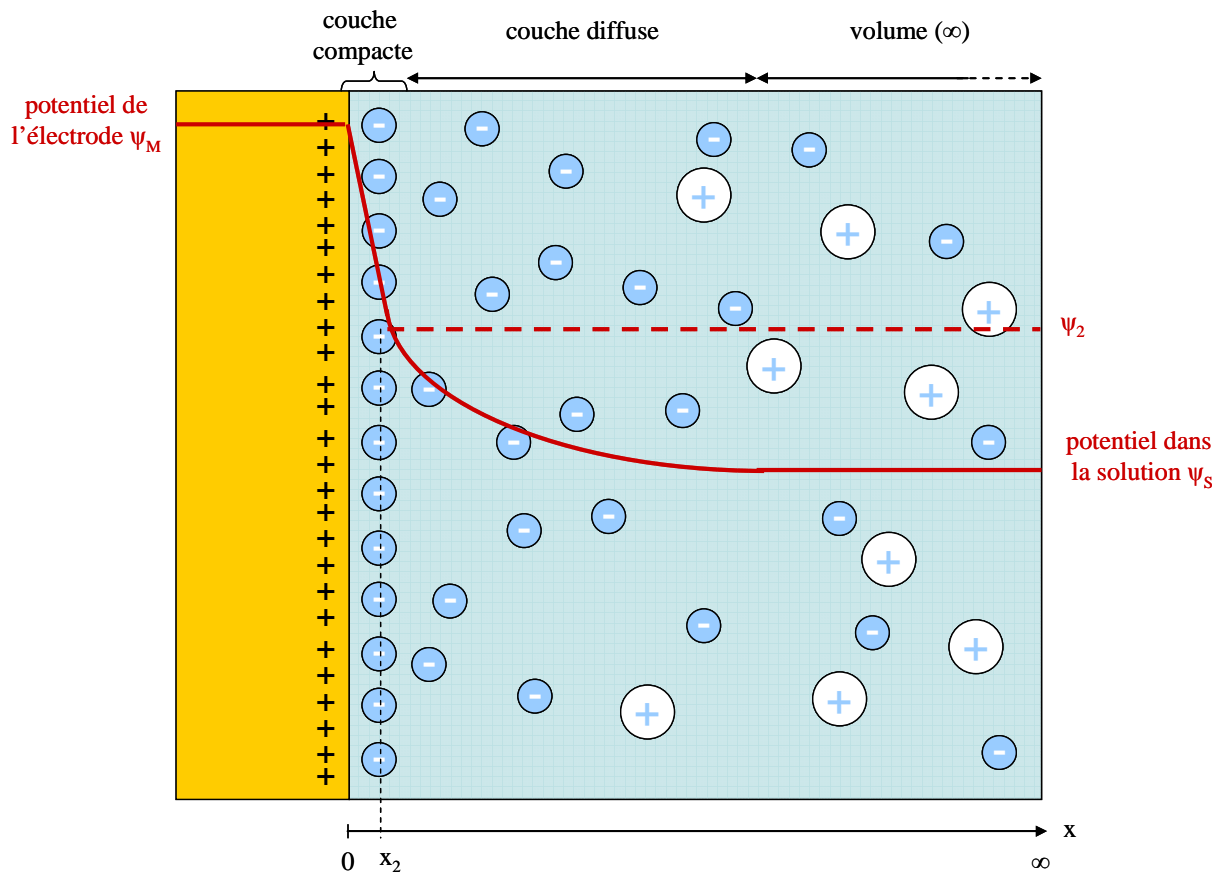


Figure III.1-10 : Représentation schématique de la double couche par la théorie de Gouy-Chapman-Stern

Ainsi la capacité de double couche  $C_{dl}$  (pour double layer en anglais ou double couche) peut être représentée par deux capacités en série, celle de la couche compacte  $C_c$  et celle de la couche diffuse  $C_d$  :

$$\frac{1}{C_{dl}} = \frac{1}{C_c} + \frac{1}{C_d} \quad (III-8)$$

Dans la suite de cette étude, nous négligerons la présence de la couche compacte à l'interface entre l'électrode et l'électrolyte car la chute de potentiel a principalement lieu dans la couche diffuse. Gouy et Chapman proposent comme valeur de la capacité de la couche diffuse pour un électrolyte binaire z-z :

$$C_d = \left( \frac{2\varepsilon\varepsilon_0 z^2 q^2 n^0}{kT} \right)^{1/2} \cosh\left( \frac{zq\psi_m}{2kT} \right) \quad (III-9)$$

où  $\varepsilon_0$  est la permittivité du vide,  $\varepsilon$  est la permittivité relative de l'électrolyte,  $z$  est le nombre de charge de l'espèce ionique,  $q$  est la charge élémentaire,  $n^0$  est la concentration en ion dans la solution (en nombre d'ions par  $m^3$ ),  $k$  est la constante de Boltzmann,  $T$  la température absolue, et  $\psi_m$  le potentiel à l'interface électrode – électrolyte (si on considère le potentiel dans le volume de la solution comme étant nul,  $\psi_s = 0$ ).

Celle-ci peut être simplifiée dans le cas des faibles potentiels (si  $\psi_m \ll \phi_T \approx 26mV$ ), ce qui permet d'obtenir comme expression linéarisée de la capacité de la double couche :

$$C_d = \sqrt{\frac{2\varepsilon\varepsilon_0 z^2 q^2 n^0}{kT}} \quad (III-10)$$

On définit alors la longueur de Debye  $\lambda_D$  qui correspond à l'épaisseur de la couche diffuse :

$$\lambda_d = \sqrt{\frac{\varepsilon\varepsilon_0 kT}{2z^2 q^2 n^0}} \quad (III-11)$$

### III.1.4 FONCTIONNEMENT D'UN EOSFET

#### III.1.4.1 DIFFERENTS TYPES D'EOSFET

Un EOSFET est un MOSFET dont l'électrode de grille est remplacée par une couche de fonctionnalisation chimique (et éventuellement un greffage de sondes biologiques), un électrolyte et une électrode de polarisation plongée dans l'électrolyte. L'EOSFET permet ainsi de détecter une activité chimique ou biologique à la surface du transistor par un effet de champ entre les charges apportées par les molécules chimiques ou biologiques et le canal de conduction du transistor. La fonctionnalisation chimique ou le greffage biologique en surface de l'EOSFET permet de déterminer la détection spécifique réalisée. Deux types de phénomènes peuvent ainsi avoir lieu à la surface du canal de conduction :

- Un phénomène surfacique a lieu lorsque le nombre de charges à détecter présentes dans l'électrolyte n'est pas limitant. Dans le cas d'un changement de pH de la solution par exemple, c'est toute la surface du canal de conduction qui va subir un changement, on peut ainsi définir une charge surfacique uniforme et un potentiel de surface à l'interface électrolyte – oxyde.
- Un phénomène local a lieu lorsqu'au contraire, le nombre de charges à détecter présentes dans l'électrolyte est très faible. C'est le cas lorsque l'on souhaite détecter une très faible quantité de molécules biologiques. Dans ce cas, la charge apportée par les molécules biologiques à la surface du canal de conduction est localisée en des points précis, qui correspondent aux points où une interaction avec une molécule biologique a lieu avec une sonde préalablement greffée. On ne peut plus parler de charge surfacique, ni de potentiel de surface constant.

Les deux parties suivantes détaillent le principe de fonctionnement d'un EOSFET, tout d'abord dans le cas d'une détection d'un phénomène surfacique, puis dans celui d'une détection d'un phénomène local.

#### III.1.4.2 DETECTION D'UN PHENOMENE SURFACIQUE

Cette partie permet de déterminer les expressions analytiques du courant de drain d'un EOSFET en fonction de ses différents paramètres dans le cas où le phénomène à détecter est surfacique. Dans ce cas il est possible de définir une charge de surface, ainsi qu'un potentiel à l'interface électrolyte – oxyde. Les différents régimes de fonctionnement d'un EOSFET en fonction de la polarisation de la grille et de l'électrode de drain sont identiques à ceux détaillés pour le MOSFET. Seule l'expression de la tension de bandes plates,  $V_{FB}$ , est modifiée pour tenir compte de la présence de l'électrolyte.

La Figure III.1-11 présente la variation des potentiels le long de la structure EOSFET. Dans cette figure,  $\psi_{Si}$  est la chute de potentiel externe dans le silicium,  $\psi_{ox}$  est la chute de potentiel dans l'oxyde,  $\psi_0$  est la chute de potentiel due à la double couche à l'interface électrolyte / oxyde [124, 228].

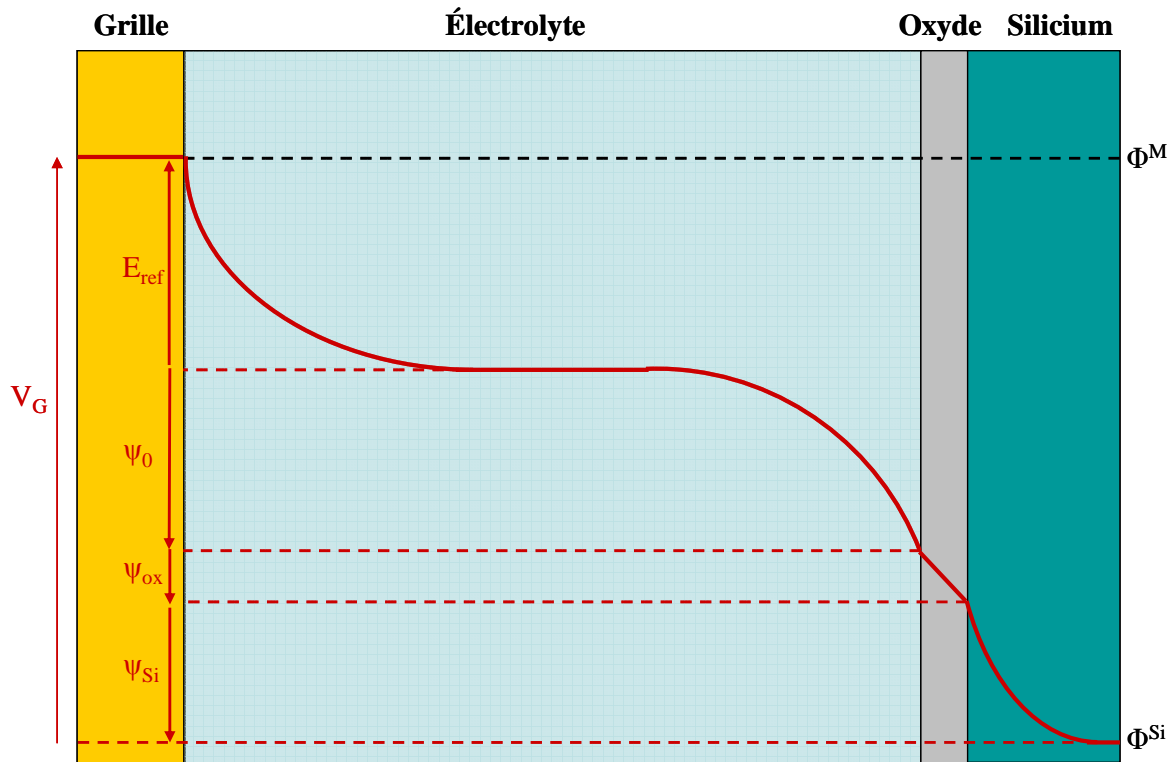


Figure III.1-11 : Schéma des potentiels d'une structure EOSFET

La différence de potentiel  $V_G$ , appliquée à l'électrode métallique plongée dans l'électrolyte par rapport à la face arrière du dispositif, se décompose en cinq contributions :

- La chute de potentiel à l'interface de l'électrode métallique et de l'électrolyte due à la double couche et notée  $E_{ref}$  [230]
- La chute de potentiel à l'interface de l'oxyde et de l'électrolyte due à la double couche et notée  $\psi_0$
- La chute de potentiel dans l'oxyde  $\psi_{ox}$
- La chute de potentiel dans le semi-conducteur  $\psi_{Si}$
- Le travail de sortie du silicium  $\Phi^{Si}$  (le travail de sortie du métal de grille étant contenu dans la définition de  $E_{ref}$ )

On peut ainsi définir la tension de bandes plates d'une structure EOSFET par :

$$V_{FB-EOS} = E_{ref} - \psi_0 - \Phi^{Si} - \frac{Q_{ox} + Q_{ss}}{C_{ox}} \quad (III-12)$$

où  $Q_{ox}$  et  $Q_{ss}$  sont respectivement les charges localisées dans l'oxyde et à l'interface oxyde / semi-conducteur, et  $C_{ox}$  est la capacitance de l'oxyde.

Dans ce modèle on néglige la contribution des potentiels aux interfaces entre l'oxyde et l'électrolyte et entre le métal de grille et l'électrolyte et qui sont dus à une orientation préférentielle des dipôles d'eau.

En introduisant l'expression ( III-12 ) de la tension de bandes plates d'un EOSFET dans l'expression ( III-1 ) de la tension de seuil de la capacité MOS, on obtient la tension de seuil d'un EOSFET :

$$V_{T-EOS} = E_{ref} - \psi_0 - \Phi_{Si} - \frac{Q_{ox} + Q_{ss}}{C_{ox}} - \frac{Q_{dep}}{C_{ox}} + 2\phi_f \quad (III-13)$$

En remplaçant dans les équations présentées au III.1.2.4 le terme  $V_T$  par  $V_{T-EOS}$ , on obtient les expressions du courant  $I_D$  selon le régime de fonctionnement pour un EOSFET.

La structure de l'EOSFET peut de plus dans ce cas être représentée par le schéma équivalent de la Figure III.1-12 où  $C_d^{m/e}$  est la capacité de double couche entre le métal de l'électrode d'or et l'électrolyte,  $R_e$  est la résistance de l'électrolyte,  $C_d^{ox/e}$  est la capacité de double couche entre l'électrolyte et l'oxyde,  $C_{ox}$  est la capacité de l'oxyde et  $C_s$  la capacité du silicium [228].

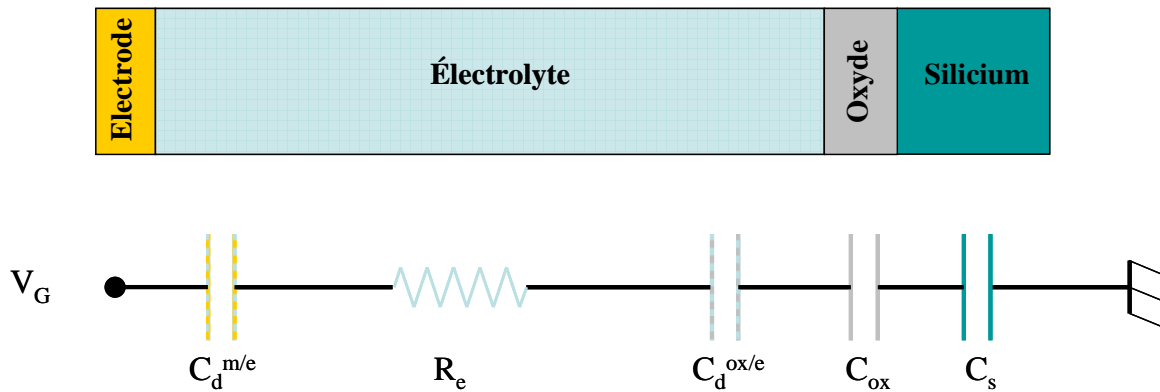


Figure III.1-12 : Circuit équivalent de la structure EOSFET

En continu, la présence de l'oxyde empêche tout courant de traverser la structure. Il n'y a donc pas de chute de potentiel due à la présence de la résistance de l'électrolyte  $R_e$ . L'équation détaillée de la capacité de double couche obtenue dans la partie précédente permettent, dans certains cas, d'obtenir une expression du potentiel  $\psi_0$  en fonction du phénomène détecté, ce qui permet d'avoir une réponse en sensibilité sur  $\Delta V_T$ . Un exemple

d'une telle modélisation dans le cas d'un EOSFET utilisé en tant que capteur de pH sera présenté dans le prochain chapitre.

### III.1.4.3 DETECTION D'UN PHENOMENE LOCAL

Le modèle développé dans le cas d'une détection d'un phénomène surfacique n'est plus valable si on considère que les phénomènes qui se produisent sont des phénomènes locaux. Dans le cas d'un EOSFET utilisé pour détecter de l'ADN par exemple, si la concentration d'ADN cible à détecter est faible, il se peut que des réactions d'hybridation n'aient lieu qu'en quelques points de la surface du canal de conduction. Dans un tel cas, il n'est pas possible de définir un potentiel global à l'interface électrolyte – oxyde, et les équations analytiques proposées précédemment ne sont plus valables puisque la variation de la tension de seuil entre avant et après hybridation ne peut pas être modélisée par une variation de potentiel  $\psi_0$ . Dans ce cas on peut cependant faire plusieurs remarques sur les paramètres des dispositifs :

- Le dispositif doit avoir une largeur la plus petite possible pour augmenter sa sensibilité. Ce phénomène peut être expliqué en envisageant une conduction par chemin de percolation (Figure III.1-13). Dans le cas de dispositifs à canaux larges, le courant peut facilement trouver un chemin de conduction dans lequel il ne « voit » pas la charge apportée par la molécule biologique. Dans le cas de dispositifs à canaux étroits, au contraire, il est possible que la charge apportée influence toute la largeur du canal, le chemin de conduction du courant « voit » ainsi forcément la charge. Cet effet a été décrit dans le cadre d'étude de dispositifs mémoires [231].

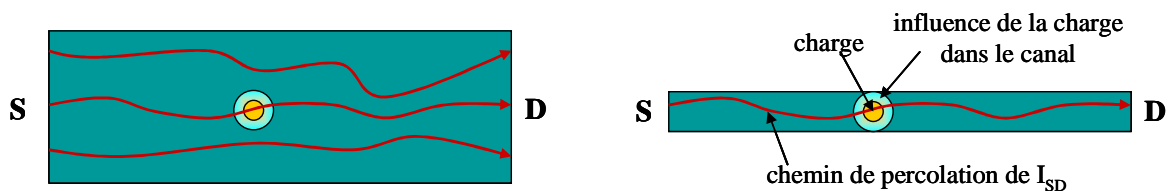


Figure III.1-13 : Chemins de percolation de  $I_{SD}$  dans le cas d'un dispositif à canal large (gauche) et à canal étroit (droit)

- Le dispositif doit aussi avoir une épaisseur la plus fine possible, afin de pouvoir avoir un dispositif en déplétion totale (sur substrat SOI). La présence d'une charge à la surface pourra ainsi influencer le dispositif dans toute son épaisseur.

- La longueur du dispositif ne doit, quant à elle, pas être forcément la plus petite possible. En effet, dans le cas de dispositif à canal court, une partie importante du canal n'est pas contrôlée par ce qui se passe au-dessus du canal de conduction mais par les électrodes de source et de drain. Il se peut donc que la présence de charges au-dessus du canal de conduction dans une partie du dispositif qui est en réalité contrôlée par la source ou le drain n'influence que peu le courant de drain. De plus l'augmentation de la longueur du canal permet d'augmenter la probabilité de capture de molécules biologiques à sa surface.

Ces phénomènes nous ont conduits à fabriquer des dispositifs dont les canaux sont étroits (de l'ordre de la cinquantaine de nanomètres) pour que toute la largeur du dispositif soit influencée par la présence d'une charge, fins (25 nm) pour être en déplétion totale, et longs (typiquement quelques microns) pour que les effets de canaux courts soient négligeables.

Dans la suite de ce chapitre, nous abordons des propriétés communes à tous les types d'EOSFET, en commençant par la mise en place d'un banc de mesure électrique et fluide automatisé pour réaliser les différents tests, le choix d'une méthode de mesure permettant une détection sensible pour finir par l'analyse des paramètres pouvant influencer la mesure mais qui ne sont pas liés à une détection spécifique.

## **III.2 BANC DE MESURE**

### ***III.2.1 BANC DE MESURE ELECTRIQUE***

La mise en place du banc de mesure électrique peut se décomposer en deux étapes :

- l'interface entre la puce et le monde macroscopique
- les différents appareils de mesure utilisés et les logiciels associés

#### **III.2.1.1 INTERFACE DISPOSITIFS – APPAREILS DE MESURE**

Afin d'éviter des étapes fastidieuses et longues de packaging électrique, nous avons choisi d'utiliser un testeur sous pointes *PA200* de *Suss MicroTec* (Figure III.2-1). Celui-ci est composé de :



- Un socle métallique sur lequel est positionnée la puce. Celle-ci est maintenue grâce à une aspiration sous vide. Le socle métallique peut être polarisé afin d'imposer une tension en face arrière de la puce. Celui-ci est motorisé et ses déplacements sont contrôlés par ordinateur avec une résolution de  $0.5\ \mu\text{m}$  en X et Y, et de  $0.25\ \mu\text{m}$  en Z.
- Une carte à pointes comportant 50 pointes en CuBe positionnées face à face.
- Un microscope et une caméra reliée à un écran de contrôle qui permettent de vérifier le positionnement des plots de reprise de contact de la puce sous les pointes de la carte à pointes.

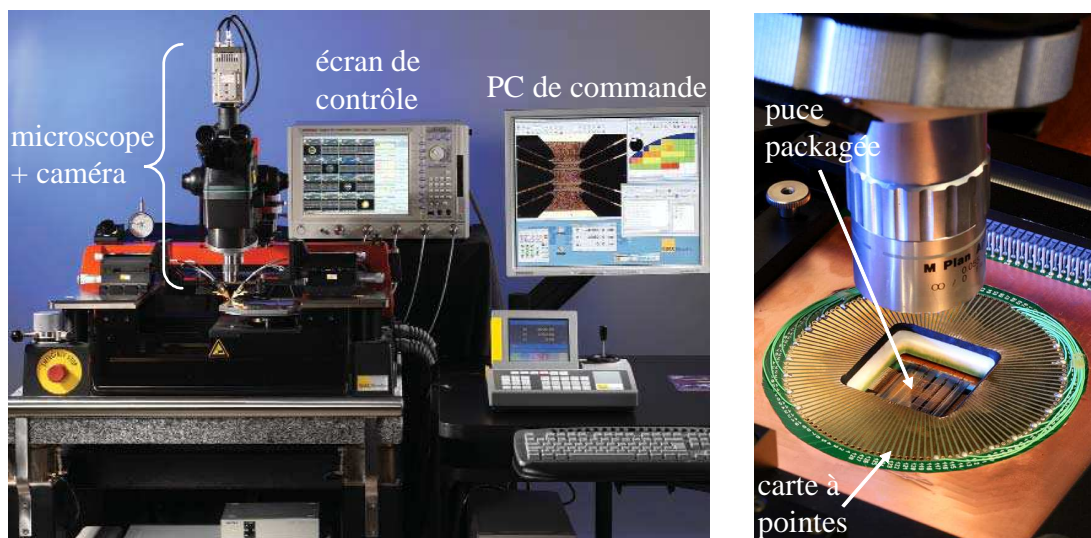


Figure III.2-1 : Testeur sous pointes PA200 et zoom sur la carte à pointes

### III.2.1.2 APPAREILS ET LOGICIELS DE MESURE

La carte à pointes est, dans tous les cas, connectée au multiplexeur *Keithley 2700* équipé d'une carte *7702* par l'intermédiaire d'une nappe de fils. Celui-ci permet ainsi de sélectionner facilement le dispositif que l'on souhaite tester et de réaliser un multiplexage de la mesure sur plusieurs dispositifs en parallèle.

Nous disposons aussi d'un nano-ampèremètre, le *Keithley 2400*, qui permet d'imposer une tension continue et de mesurer le courant en ce point. Celui-ci est utilisé pour exciter la grille du dispositif.

Les différents groupes travaillant sur la mesure d'EOSFET utilisent quatre types d'appareils de mesure qui permettent de mesurer le courant de drain du transistor. Ces appareils de

mesure peuvent être classées en deux catégories : la mesure de courant en continu (nano-ampèremètre [219, 223, 232], ohmmètre [232] et analyseur de paramètres de semi-conducteur [166, 225]) et la mesure de courant par modulation d'amplitude (lock-in [118, 162, 164, 233]). Les résultats obtenus avec les différentes méthodes sont similaires, et il n'y a, à priori, aucune méthode préférentielle. Le manque d'information quant à la motivation du choix de l'appareil de mesure dans les publications ne permet pas de trancher entre les deux principes de mesure. Nous avons donc choisi de réaliser deux chaînes de mesure électronique afin de comparer les méthodes de mesure.

La première chaîne de mesure comporte ainsi un nano-ampèremètre à 2 voies, le *Keithley 2602*. Chacune des voies est reliée à une des électrodes de source et de drain et permet d'imposer une tension continue et de mesurer le courant en ce point. Un logiciel commercial, *Lab Tracer 2*, permet de piloter par ordinateur les tests à réaliser et d'obtenir les résultats des mesures sous forme de fichier texte.

La deuxième chaîne de mesure comporte quant à elle un *lock-in SR830* qui permet d'imposer une tension sinusoïdale de fréquence donnée, et de mesurer la réponse à cette excitation en tension exactement à cette fréquence, permettant ainsi un meilleur filtrage du bruit. Il est utilisé avec un amplificateur de courant *Keithley 428* qui permet d'amplifier le courant à mesurer avec un gain compris entre  $10^3$  et  $10^{10}$ . Le fonctionnement détaillé du lock-in est détaillé en Annexe C. Nous avons établi le cahier des charges d'un logiciel réalisé par la société *Saphir* qui permet d'automatiser les tests en choisissant les différents paramètres du lock-in et de l'amplificateur.

### **III.2.2 BANC DE MESURE FLUIDIQUE**

La mise en place du banc de mesure fluidique peut elle aussi se décomposer en deux étapes :

- l'interface entre la puce et le monde macroscopique
- les différents appareils de délivrance de fluide et le logiciel associé

#### **III.2.2.1 INTERFACE DISPOSITIFS – APPAREILS DE DELIVRANCE**

Il est nécessaire de réaliser un packaging de la puce afin de pouvoir mettre les nanofils en contact avec l'électrolyte, tout en laissant les plots d'or aux extrémités de la puce à l'air. Pour

cela, on utilise une membrane adhésive biocompatible et résistante aux électrolytes (EDI, NaCl), généralement utilisée lors de tests d'hybridation d'ADN sur puces (*GeneFrame*®, *ABGene*) de 250  $\mu\text{m}$  d'épaisseur. Des bandes de cette membrane de quelques mm de largeur permettent de définir les murs des canaux fluidiques. Un capot en verre transparent recouvre les canaux fluidiques. Des capillaires en verre (*Polymicro*) de 75  $\mu\text{m}$  de diamètre interne et 150  $\mu\text{m}$  de diamètre externe sont insérés à l'entrée et la sortie du canal. Par l'entrée du canal, on insère aussi un fil d'or de 200  $\mu\text{m}$  de diamètre. Les capillaires et le fil d'or sont fixés par la colle *Vitralit 8191* qui est réticulée par une insolation de 20 secondes sous des rayons UV (Figure III.2-2).

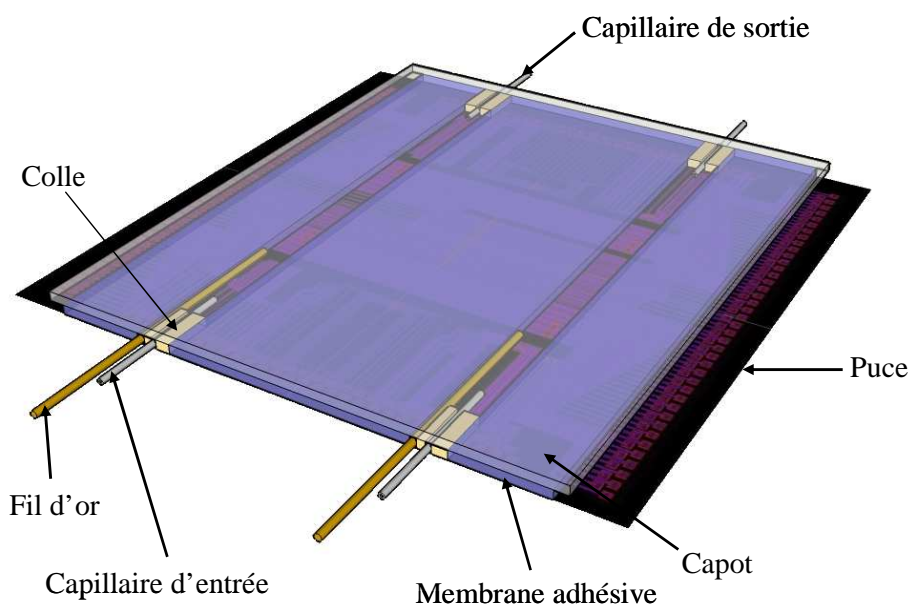


Figure III.2-2 : Schéma d'une puce packagée

Le fil d'or est utilisé comme électrode de grille pour polariser l'électrolyte dans lequel est plongé le dispositif. Cette électrode n'est pas une réelle électrode de référence dont le potentiel est stable dans le temps. Pour avoir une telle électrode, il faut en effet utiliser un système rédox avec une concentration constante (tamponnée ou saturée) de chacun des membres du couple rédox. L'électrode de référence par excellence est l'électrode standard à hydrogène mais elle est impossible à mettre en œuvre en pratique. L'électrode de référence la plus utilisée en pratique lorsqu'on souhaite l'intégrer dans un packaging fluide compact est l'électrode Ag / AgCl qui peut être obtenue en chlorurant un fil d'argent. Cependant le potentiel de cette électrode par rapport à l'électrode standard à hydrogène dépend de la concentration en  $\text{Cl}^-$  dans la solution :

$$E = E^0 (Ag^+ / Ag) + 0.06 \log K_s - 0.06 \log [Cl^-] \quad (III-14)$$

où  $E^0 (Ag^+ / Ag)$  est le potentiel standard du couple  $Ag - Ag^+$ ,  $K_s$  est le produit de solubilité de  $AgCl$  ( $K_s = 10^{-10}$ ) et  $[Cl^-]$  est la concentration en ions  $Cl^-$  dans la solution. Cette équation est valable à 298 K.

Au cours de l'étude, les salinités des solutions testées varient entre  $10^{-7}$  et  $10^{-1}$  M, ce qui implique une variation sur le potentiel de l'électrode  $AgCl$  de 0.36 V. Cette électrode ne peut donc pas être utilisée dans notre étude.

Bien que l'électrode d'or ne soit qu'une pseudo-référence, son potentiel ne dépend pas aussi fortement de la salinité des solutions testées. Le choix de cette électrode résulte ainsi d'un compromis entre la nécessité de pouvoir intégrer cette électrode dans notre packaging fluide et d'obtenir un potentiel relativement stable. Dans la suite de l'étude, cette électrode métallique sera appelée indifféremment électrode de polarisation ou électrode de référence.

### III.2.2.2 APPAREILS ET LOGICIEL DE DELIVRANCE

Une pompe à pression d'air comprimé *MAESFLO* de *Fluigent* est utilisée pour délivrer le fluide sur la puce. Cette pompe comporte 4 réservoirs d'environ 1 mL, chaque réservoir pouvant être poussé à un débit différent. Les capillaires sortant de ces réservoirs sont reliés à 4 entrées d'une vanne de commutation à 6 voies. En sortie de cette vanne, on connecte le capillaire d'entrée d'un canal de la puce. Le capillaire de sortie de la puce est plongé dans un bécher poubelle (Figure III.2-3). Le packaging de la puce impose un passage des fluides dans une direction perpendiculaire à la longueur du nanofil qui est le canal de conduction de notre dispositif.

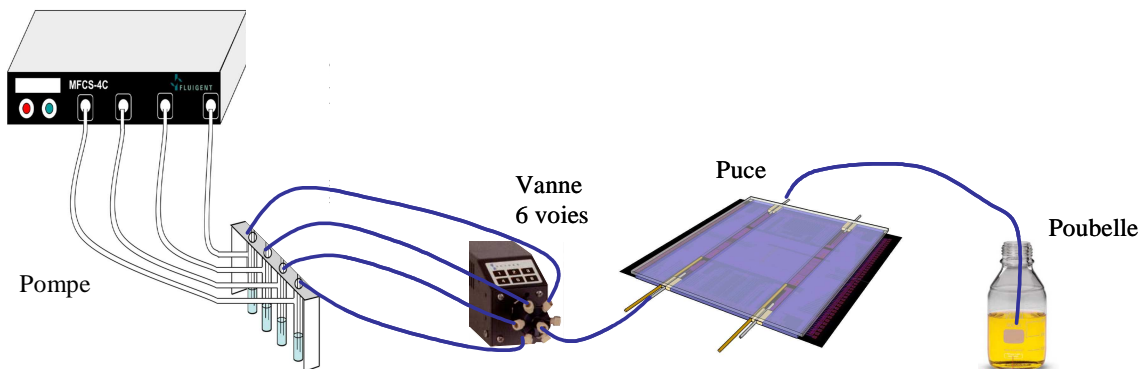


Figure III.2-3 : Schéma des branchements fluidiques

Un logiciel commercial livré avec la pompe permet de fixer la pression avec laquelle le fluide de chaque réservoir sera poussé, et de mesurer le débit de chaque fluide. Un autre logiciel, réalisé par la société *Saphir*, permet de piloter à distance la vanne de commutation.

### III.3 METHODE DE MESURE

Dans cette partie, nous considérons un dispositif dont les paramètres (dimensions, dopage) sont fixés et nous allons déterminer quelle est la méthode de mesure la plus efficace pour avoir une détection la plus sensible possible. L'objectif est double : nous souhaitons obtenir la plus grande variation de la valeur mesurée suite à un changement de potentiel à l'interface électrolyte / isolant ainsi qu'évaluer la possibilité d'intégration de la méthode de mesure choisie.

#### III.3.1 VALEUR MESUREE

##### III.3.1.1 MESURE D'UN CHANGEMENT DE TENSION DE SEUIL

La détection d'un élément chimique ou biologique à la surface du canal semi-conducteur provoque une variation du potentiel à l'interface isolant / électrolyte  $\psi_0$ . Cette variation implique, d'après l'équation ( III-13 ), un changement de la tension de seuil du dispositif  $V_{T-EOS}$ . La tension de seuil du dispositif peut être mesurée en traçant la caractéristique  $I_D-V_G$  du dispositif,  $V_G$  étant ici la tension appliquée à la grille métallique qui plonge dans l'électrolyte. Une première méthode de mesure consiste donc à tracer cette caractéristique avant et après l'interaction, ce qui permet de mesurer  $\Delta V_{T-EOS}$ , comme représenté sur les caractéristiques théoriques d'un EOSFET avant et après détection (Figure III.3-1).

L'avantage de cette méthode est que la courbe  $I_D-V_G$  est très couramment utilisée pour caractériser les transistors, il existe donc des appareils électroniques très fiables permettant de réaliser la mesure. Cependant elle présente l'inconvénient d'être difficilement réalisable en temps réel. Il faut environ 1 minute pour tracer une caractéristique  $I_D-V_G$ , il sera donc difficile d'observer des phénomènes dynamiques dont le temps de réponse est de l'ordre de la minute. On obtiendra seulement une réponse en point final. De plus un traitement des courbes obtenues est nécessaire pour déterminer exactement la variation de  $V_{T-EOS}$  en fonction de

l'interaction détectée. Pour ces raisons, seuls quelques groupes choisissent de mesurer directement les variations de tension de seuil de l'EOSFET [234-237].

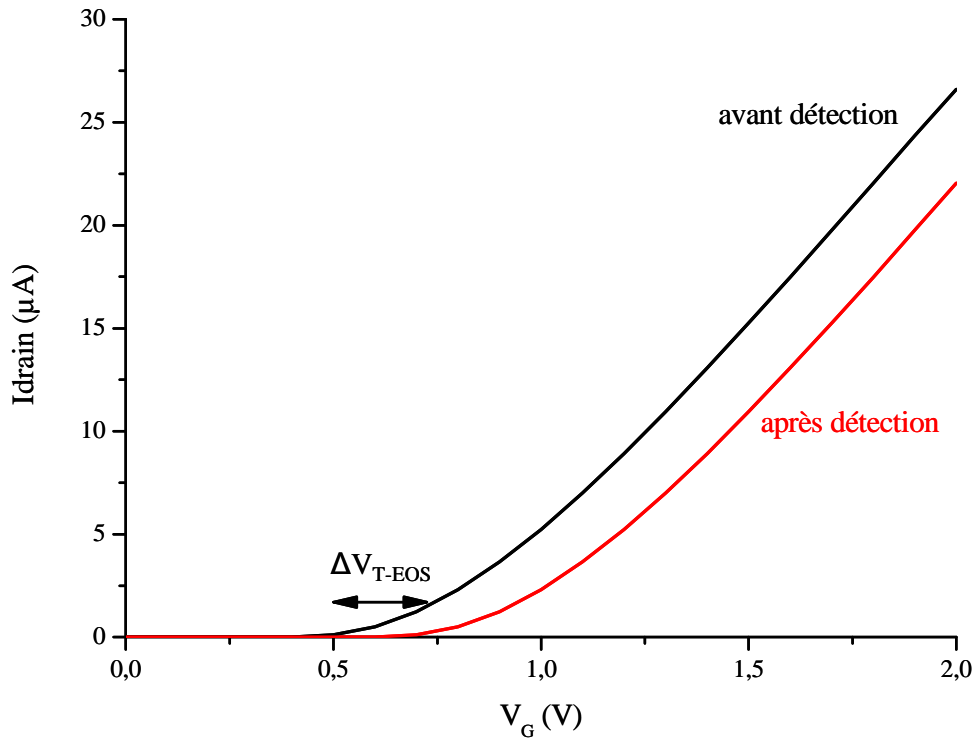


Figure III.3-1 : Mesure théorique d'un changement de tension de seuil

### III.3.1.2 MESURE D'UN CHANGEMENT DE COURANT DE DRAIN

Les expressions du courant de drain dans les différents régimes de fonctionnement font intervenir la tension de seuil du dispositif. Quelque soit le régime de fonctionnement du transistor, on observera donc une variation du courant de drain suite à une interaction. Une deuxième méthode de mesure possible consiste donc à polariser le drain et la grille du dispositif à des valeurs fixes, et de mesurer en continu la valeur du courant de drain  $I_D$ . Cette méthode de mesure est aussi facile à mettre en œuvre que la précédente, et permet d'obtenir les résultats en temps réel (Figure III.3-2).

A l'heure actuelle, c'est la méthode qui est privilégiée par la plupart des groupes qui travaillent dans ce domaine : certains tracent directement  $I_D$  en fonction du temps, d'autres se ramènent à la conductance du drain,  $I_D/V_D$ , qui, comme  $V_D$  est maintenu constant, est proportionnelle à  $I_D$  [166, 219, 223, 225, 238].

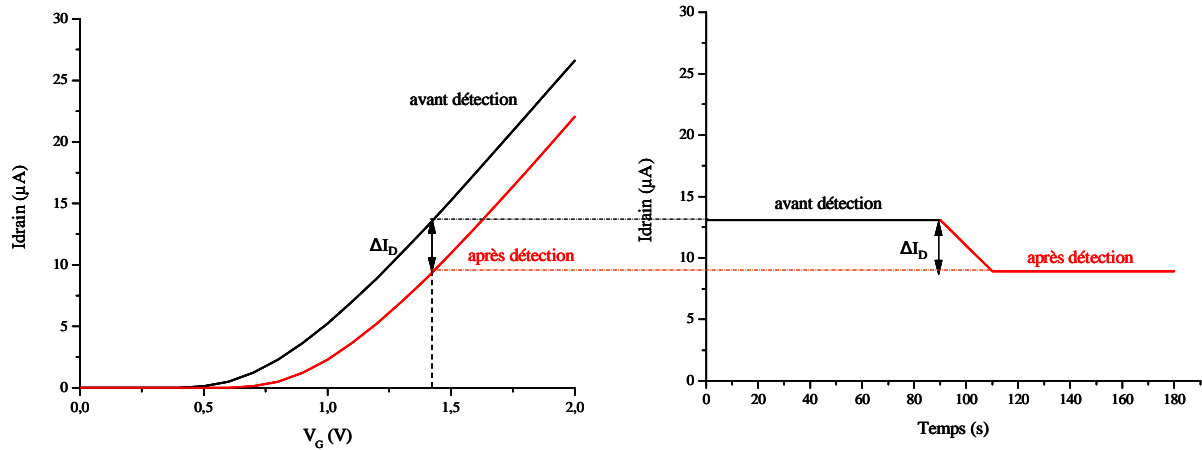


Figure III.3-2 : Mesure théorique d'un changement de courant de drain

### III.3.1.3 MESURE D'UN CHANGEMENT DE TENSION DE GRILLE

La méthode précédente est simple à mettre en œuvre et permet une mesure en temps réel, mais elle présente un inconvénient en terme de réponse mesurée. En effet selon le régime dans lequel le transistor se trouve, la relation entre le courant de drain et la tension de seuil n'est pas toujours linéaire. La tension de seuil variant linéairement par rapport au potentiel à l'interface électrolyte / isolant, la réponse en  $I_D$  suite à l'interaction n'est donc pas linéaire par rapport à  $\psi_0$ . Pour pallier à cet inconvénient, il est possible d'utiliser une boucle de contrôle sur la tension de l'électrode de grille afin de maintenir un courant de drain constant. Quelque soit l'expression de  $I_D$  utilisée, on ne peut avoir  $I_D$  constant que si la variation sur  $V_{T-EOS}$  est égale à la variation sur  $V_G$ .

$$I_D = cste \Rightarrow dI_D = 0 \Rightarrow dV_G = dV_{T-EOS} \quad (III-15)$$

La mesure des variations de  $V_G$  nécessaires pour maintenir  $I_D$  constant permet d'avoir une réponse linéaire à l'interaction mesurée. Ce type de mesure a été mis en place de nombreuses fois lors de l'émergence des EOSFET [117, 126, 154, 239], mais elle est moins utilisée aujourd'hui. En effet, cette méthode est plus lourde à mettre en place puisqu'elle nécessite une boucle de contrôle. De plus, l'avantage principal qu'elle apporte, à savoir la linéarité de la réponse par rapport à la variation de  $\psi_0$  n'est utile que si  $\psi_0$  est lui-même linéaire par rapport au phénomène à détecter, ce qui n'est pas toujours le cas. Dans le cas d'un changement de pH de la solution par exemple, nous verrons que  $\psi_0$  est linéaire en fonction du pH de l'électrolyte mais seulement pour des valeurs de pH autour des pKa des groupements présents en surface

du canal. C'est pourquoi nous avons choisi de réaliser nos mesures en imposant une tension constante à l'électrode de drain et à la grille et en traçant le courant de drain  $I_D$  en fonction du temps.

### III.3.2 POINT DE POLARISATION

Puisque nous mesurons le courant de drain à une tension de drain et de grille fixée, il est nécessaire d'étudier les variations de  $I_D$  en fonction de la plage de polarisation choisie pour chacune des électrodes considérées.

#### III.3.2.1 POLARISATION DE GRILLE

Pour obtenir la détection la plus sensible, il est nécessaire de maximiser la variation de  $I_D$  obtenue suite à une variation de  $\psi_0$ . D'après l'équation ( III-13 ), on a  $d\psi_0 = -dV_{T-EOS}$ . On cherche donc à maximiser la variation de  $I_D$  obtenue suite à une variation de tension de seuil du dispositif. La Figure III.3-3 montre les caractéristiques théoriques  $I_D-V_G$  obtenues avant et après interaction sur un dispositif, en échelle logarithmique et linéaire.

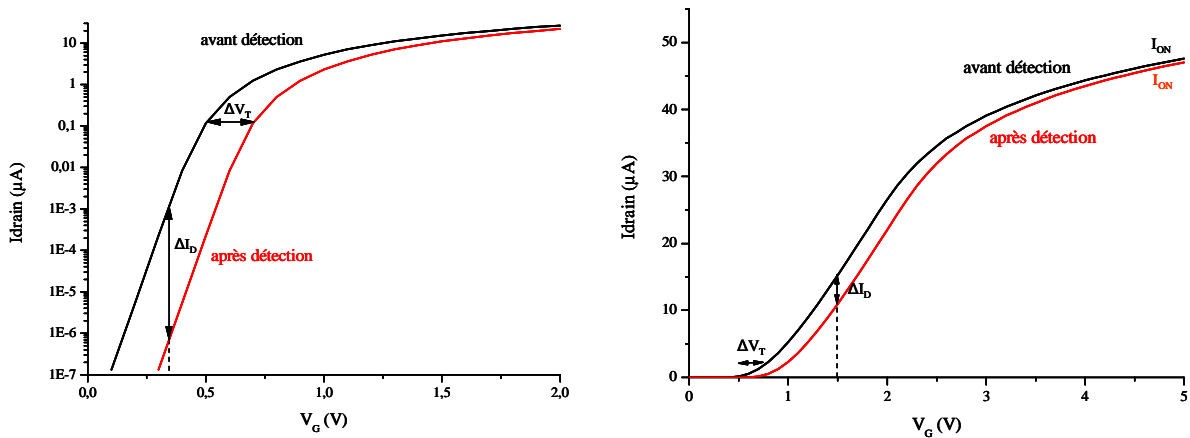


Figure III.3-3 : Caractéristiques théoriques  $I_D-V_G$  en échelle logarithmique et linéaire (avant et après détection)

La caractéristique  $I_D-V_G$  tracée en échelle logarithmique représente une droite pour des valeurs de  $V_G$  inférieures à la tension de seuil. Cette droite a une pente importante, ce qui



permet d'obtenir de très grandes variations de  $I_D$  même pour des variations faibles de  $V_{T-EOS}$ . Dans notre exemple, une variation de 0.2 V sur  $V_{T-EOS}$  conduit à une variation d'environ 3 ordres de grandeur sur  $I_D$ . On peut donc imaginer, que si on polarise  $V_G$  à une tension inférieure à la tension de seuil du dispositif avant interaction, la détection va être extrêmement sensible. Le problème de cette méthode vient du fait que les niveaux de courant à détecter sont très faibles (au maximum 10 nA) et que l'on arrive donc rapidement aux limites de détection accessibles avec des équipements classiques. Il est donc difficile de mettre pratiquement en place une mesure où la grille est polarisée à une tension inférieure à la tension de seuil.

La caractéristique  $I_D$ - $V_G$  tracée en linéaire permet de distinguer deux zones pour le comportement de  $I_D$  au dessus de la tension de seuil. En effet au-dessus d'une certaine valeur de  $V_G$ , le courant  $I_D$  est quasiment constant, on l'appelle le courant  $I_{ON}$ . Si on polarise la grille à un tel  $V_G$ , quelque soit la variation de  $\psi_0$ , on ne pourra pas la détecter.

En conclusion, il est donc nécessaire de polariser la grille à une tension  $V_G$  entre la tension de seuil  $V_{T-EOS}$  et la tension  $V_G$  qui donne le courant  $I_{ON}$ . Cela nous permet d'obtenir des valeurs de courant mesurables (typiquement entre  $10^{-9}$  et  $10^{-5}$ A) et d'avoir un courant  $I_D$  non constant qui permet de détecter une variation de tension de seuil. A notre connaissance, peu d'études ont été menées pour définir le point de polarisation de la grille permettant la détection la plus sensible. Les deux groupes qui justifient le choix du niveau de polarisation de la grille se situent à des tensions  $V_G$  comprises dans la zone que nous venons de déterminer [225, 240].

### III.3.2.2 POLARISATION DE DRAIN

Une fois que l'on a choisi la polarisation de  $V_G$ , il est nécessaire de choisir la polarisation de  $V_D$ . Selon la valeur de la tension imposée sur l'électrode de drain, on se situe en régime ohmique ou saturé. D'après les équations ( III-6 ) et ( III-7 ), on a :

$$V_D < V_G - V_{T-EOS} \Rightarrow dI_{Dohm} = \alpha V_D dV_{T-EOS} \quad (III-16)$$

$$V_D \geq V_G - V_{T-EOS} \Rightarrow dI_{Dsat} = \alpha (V_G - V_{T-EOS}) dV_{T-EOS} \quad (III-17)$$

$$\text{avec } \alpha = \frac{Z\mu C_{ox}}{L} \quad (III-18)$$

Pour un  $V_G$  fixé, la variation de  $I_D$  suite à une variation de  $V_{T-EOS}$  sera donc plus faible dans le cas où on se situe dans le régime ohmique. Cette variation de  $I_D$  en fonction de  $V_D$  pour

différents  $V_{T-EOS}$  est illustrée sur la Figure III.3-4 qui représente les caractéristiques  $I_D-V_D$  théoriques d'un EOSFET.

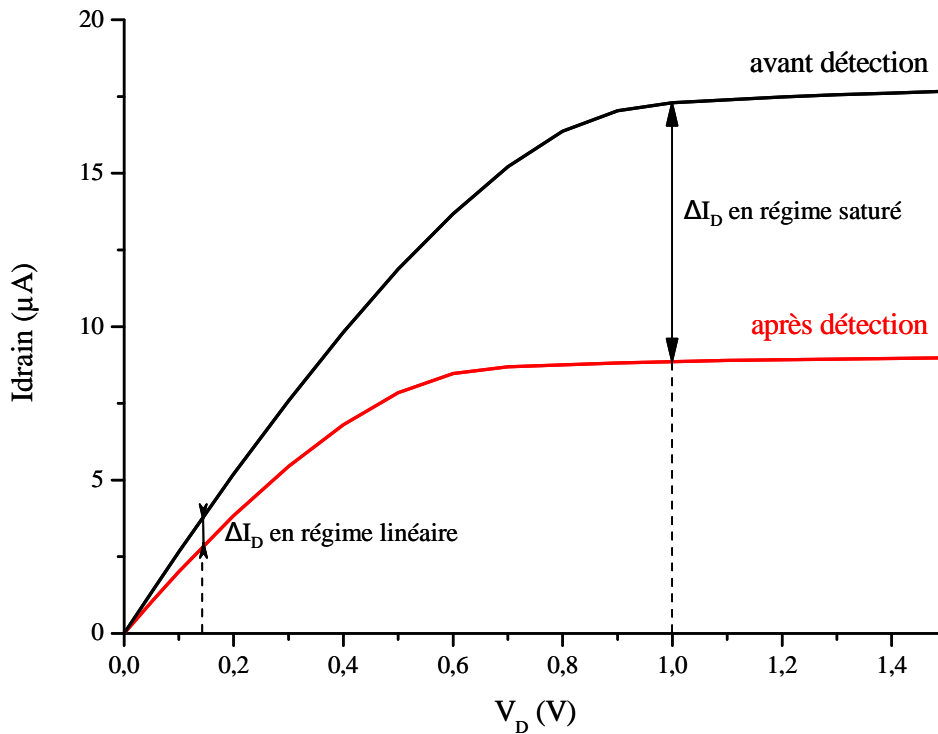


Figure III.3-4 : Caractéristiques théoriques  $I_D-V_D$

Pour obtenir la plus grande sensibilité, il est donc nécessaire de polariser la tension de drain à une valeur supérieure à  $(V_G - V_{T-EOS})$  permettant de se situer dans le régime de saturation. De plus, en se situant à cette valeur de polarisation pour la tension de drain, le courant de drain mesuré est indépendant des fluctuations pouvant exister sur la tension de drain.

Cependant, nous constatons que la plupart des études menées sur des EOSFET sont réalisées avec une polarisation de drain relativement faible (quelques centaines de mV au maximum), qui permet de se situer dans le régime ohmique. L'utilisation de telles valeurs de  $V_D$  est généralement justifiée, lors d'une utilisation en milieu fluide des composants, par la crainte de l'apparition de réactions électrochimiques entre le nanofil et l'électrode de polarisation plongée dans l'électrolyte [219, 223, 232, 241].

Le choix de la polarisation de  $V_D$  résulte donc d'un compromis entre une optimisation du fonctionnement électrique du transistor, et les contraintes chimiques générées par une utilisation en milieu fluide.

### III.3.3 FREQUENCE D'EXCITATION

Comme nous l'avons déjà évoqué, la plupart des groupes travaillant sur des EOSFET appliquent une tension de polarisation d'amplitude faible sur  $V_D$  afin d'éviter les réactions électrochimiques. Dans la majorité des cas, ils utilisent de plus une tension alternative dont la fréquence est typiquement de quelques dizaines de Hz [118, 162, 223, 233, 238]. A notre connaissance, aucune justification n'a jamais été avancée pour expliquer le choix d'imposer une tension alternative sur l'électrode de drain, nous allons donc comparer les avantages et inconvénients d'un mode d'excitation alternatif par rapport à un mode d'excitation continu.

#### III.3.3.1 REPONSE DU DISPOSITIF

Différents tests ont tout d'abord été réalisés grâce à la chaîne de mesure contenant le lock-in afin de déterminer la fréquence d'excitation permettant d'obtenir la ligne de base la plus stable pour une excitation de l'électrode de drain en sinusoïdal. Les fréquences d'excitation inférieures à 1 Hz ont été éliminées car c'est la fréquence d'échantillonnage du lock-in. Une mesure du courant de drain en fonction du temps a été réalisée pour le même dispositif plongé dans un tampon d'eau déionisée (EDI) dont le débit est fixé à des fréquences d'excitation de l'électrode de drain comprises entre 5 et  $10^4$  Hz. Les paramètres utilisés lors de la mesure sont résumés dans le Tableau III.3-1.

Paramètres	Valeurs
Chaîne de mesure	Lock-in
$V_G$	Face avant
$V_D$ – amplitude	1 V
$V_D$ – fréquence	Entre 5 et $10^4$ Hz
Gain	$10^5$
Solution	EDI
Débit	$2 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$

Tableau III.3-1 : Paramètre de la mesure sur l'influence de la fréquence d'excitation

La première constatation effectuée est l'impossibilité de travailler à 50 Hz, fréquence d'alimentation des appareils électriques. La Figure III.3-5 compare les mesures obtenues à des fréquences de 40, 50 et 70 Hz et prouve que le bruit sur la ligne de base obtenu à 50 Hz est dû aux interférences avec les alimentations présentes dans l'environnement du dispositif.

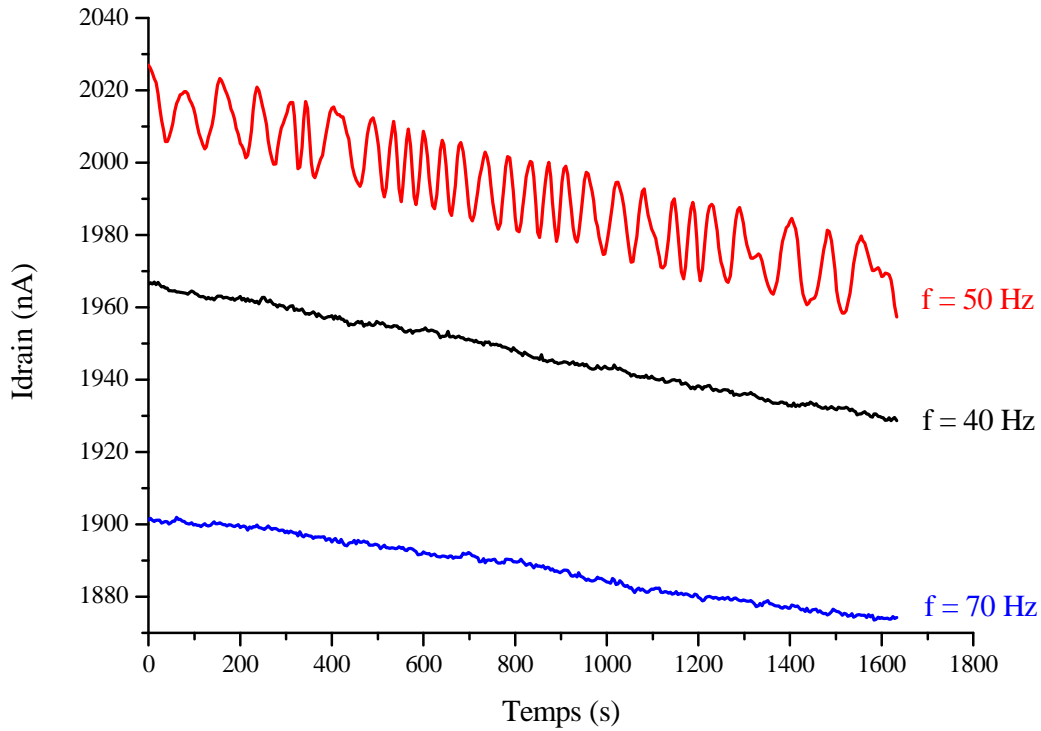


Figure III.3-5 : Influence de la fréquence d'excitation sur la stabilité du courant de drain mesuré

La fréquence 50 Hz a ainsi été éliminée. Les déphasages du courant de drain mesuré par rapport à la tension imposée, ainsi que les écart-types sur les points de mesure (400 points) du courant de drain aux différentes fréquences testées ont été mesurés (Figure III.3-6).

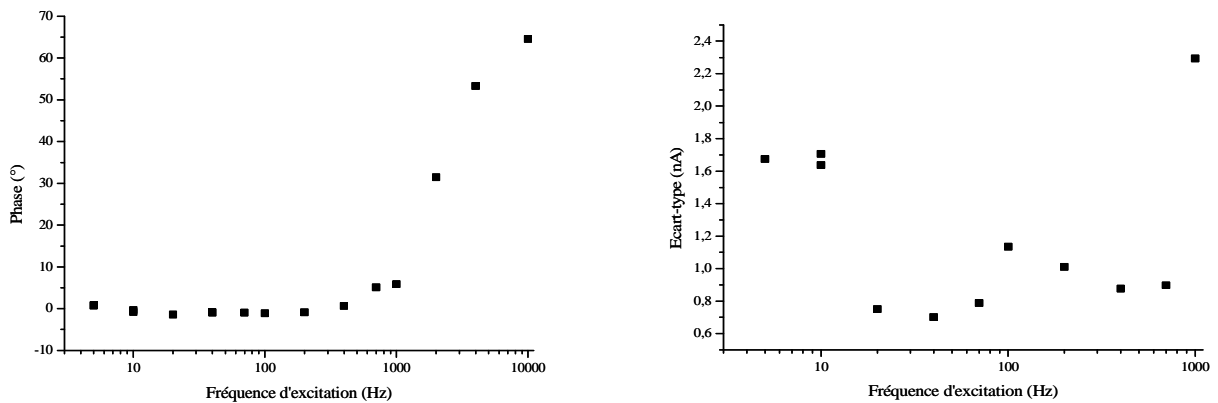


Figure III.3-6 : Déphasage et écart-type du courant de drain à différentes fréquences d'excitation

Le déphasage reste constant et très faible (inférieur à  $5^\circ$ ) tant que la fréquence d'excitation de la tension de drain est inférieure à  $10^3$  Hz : le dispositif se comporte comme une résistance pure. Au-delà de cette fréquence, le déphasage augmente rapidement pour obtenir à  $10^4$  Hz un déphasage de  $70^\circ$  : le dispositif se comporte alors comme une résistance et une capacité placées en parallèle. Cela s'explique par le fait qu'à de telles fréquences, les couches de diélectriques placées au dessus des électrodes de source et de drain, censées empêcher le courant de passer par l'électrolyte, ne jouent plus leur rôle de passivation. La fréquence d'excitation de la tension de drain doit donc être comprise entre 5 et  $10^3$  Hz afin que le dispositif se comporte bien comme une résistance pure et que tout le courant passe par le nanofil. Pour ces fréquences, nous avons ensuite calculé le bruit sur la ligne de base grâce au calcul de l'écart-type sur les valeurs du courant de drain. Quelque soit la fréquence d'excitation, l'écart-type calculé est inférieur à 3 nA, et il ne semble pas y avoir une gamme de fréquence privilégiée pour minimiser le bruit de la ligne de base.

Enfin, nous avons souhaité comparer le mode d'excitation sinusoïdal avec un lock-in avec le mode d'excitation continu. Pour cela, nous avons réalisé une mesure du courant de drain en excitant l'électrode de drain par une tension continue grâce aux nanoampèremètres. L'écart-type obtenu sur le courant de drain par ce mode d'excitation est de 1nA, il est donc comparable à ceux obtenus par une excitation sinusoïdale.

Le mode d'excitation, continu ou sinusoïdal, de la tension de drain, ne semble donc pas avoir d'influence prépondérante sur le bruit de la ligne de base obtenue, pour peu que l'on se place dans une gamme de fréquence comprise entre 5 et  $10^3$  Hz. Dans la suite de l'étude, on se place généralement à une fréquence d'excitation de 17 Hz.

### III.3.3.2 POSSIBILITE D'INTEGRATION

Enfin, un troisième point à prendre en compte dans le choix du mode d'excitation de la tension de drain est la possibilité d'intégration du dispositif final. La génération d'une tension de polarisation sinusoïdale pose en effet des contraintes techniques plus importantes que celle d'une tension continue. Un convertisseur numérique analogique (DAC) est un dispositif qui génère des tensions continues en fonction d'un code numérique en entrée. Un signal sinusoïdal peut ainsi facilement être créé en l'approximant par une série de niveaux continus (plateaux) mais il faut s'assurer que le pas d'échantillonnage, qui est lié au temps d'établissement du signal, soit suffisant pour l'application visée. Ce temps d'établissement est

fonction du courant qui circule dans le DAC : plus il est grand, plus le temps d'établissement est court. La génération d'un signal sinusoïdal nécessite donc l'utilisation de nombreux DAC qui sont très consommateurs en énergie. Dans le cadre d'une électronique intégrée, la génération d'une tension de drain continue serait donc plus facile à mettre en œuvre et permettrait de réduire la consommation globale en énergie.

### **III.3.4 CONCLUSION**

Ainsi, différentes méthodes de mesure sont possibles et les contraintes électriques et chimiques ne sont pas forcément compatibles.

Les caractéristiques classiques des dispositifs, à savoir les tests  $I_D-V_G$  et  $I_D-V_D$  à l'air et en milieu fluide, ont été réalisées grâce à la chaîne nano-ampèremètre. La chaîne lock-in n'est pas adaptée à ce type de mesure car les valeurs de courant mesurées varient de plusieurs décades en quelques secondes, et le moyennage du lock-in ne permet d'avoir un point que toutes les secondes.

Les mesures du courant de drain en fonction du temps (à  $V_G$  et  $V_D$  fixes) réalisées en polarisant l'électrode de drain grâce à une tension continue (avec la chaîne nano-ampèremètre) ou grâce à une tension sinusoïdale (avec la chaîne lock-in) ont été à plusieurs reprises comparées sans différences notables. Dans la littérature, aucune étude n'a été réalisée pour comparer ces deux modes de mesures. Seul le groupe de Lieber évoque une influence de la fréquence de polarisation de la tension de drain sur le temps de détection de marqueurs cancéreux [164]. L'utilisation de la chaîne lock-in a généralement été privilégiée pour des raisons de praticité liée au logiciel. La polarisation de la grille est choisie pour chaque nanofil suite au tracé de la caractéristique  $I_D-V_G$  en fluide. La polarisation du drain est généralement fixée à 1V.

## **III.4 CARACTERISATIONS DES DISPOSITIFS**

Les dispositifs réalisés ont tout d'abord été caractérisés électriquement à l'air. Comme nos dispositifs ont été conçus pour être utilisés dans un électrolyte comme EOSFET, il n'y a pas de grille métallique au-dessus de l'oxyde qui recouvre le canal. Pour tester les dispositifs à l'air, la tension de grille est donc obligatoirement imposée en face arrière globalement pour

tous les dispositifs, en faisant reposer la puce sur une plaque métallique. Nous avons ainsi regardé la reproductibilité des dispositifs à l'air ainsi que l'influence du packaging sur leurs caractéristiques.

Les dispositifs sont ensuite packagés et testés dans un environnement fluide. Nous avons tout d'abord regardé la reproductibilité des dispositifs, puis l'influence des éléments extérieurs, de la salinité et du débit de l'électrolyte est étudiée.

### III.4.1 CARACTERISATIONS A L'AIR

#### III.4.1.1 REPRODUCTIBILITE A L'AIR

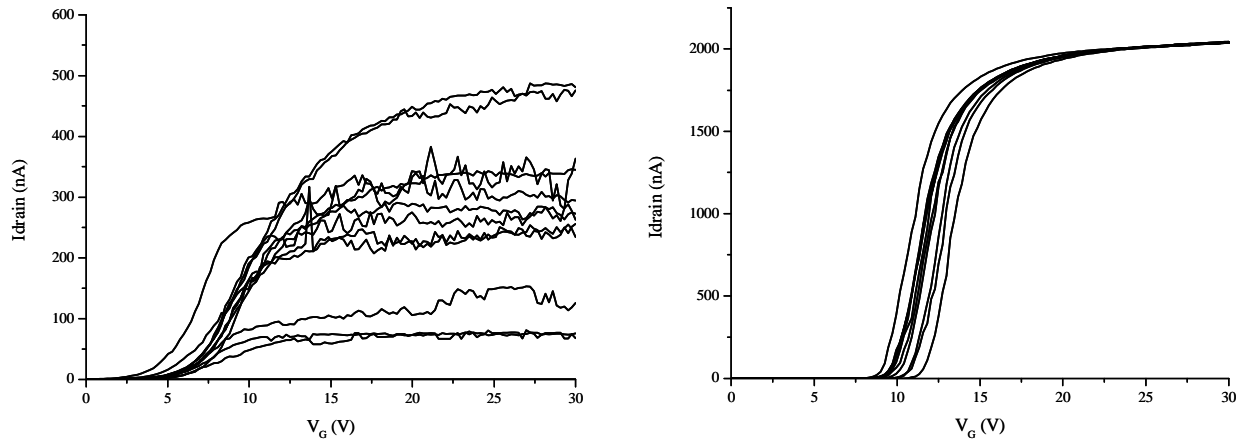
Comme nous l'avons vu au III.3.1, la détection d'un élément chimique ou biologique à la surface du canal semi-conducteur provoque un changement de la tension de seuil du dispositif  $V_T$ . Cette variation est mesurée par un changement du courant de drain. Il est donc important que les paramètres  $V_T$  et  $I_{ON}$  du dispositif testé soient stables au cours du temps.

Afin de mesurer la reproductibilité d'un dispositif à l'air au cours du temps, nous avons réalisé la mesure  $I_D$ - $V_G$  avec les paramètres détaillés dans le Tableau III.4-1.

Paramètres	Valeurs
Chaîne de mesure	Nanoampèremètres
$V_G$	Face arrière - 0 à 30 V
$V_D$	1 V

Tableau III.4-1 : Paramètres de la mesure de la reproductibilité à l'air

Cette mesure a été réalisée sur un dispositif fabriqué par le mode hybride, avant et après l'étape de métallisation des plots de contact qui est la seule étape devant être faite puce à puce (Figure III.4-1). Dans chaque cas, elle a été répétée 10 fois.



**Figure III.4-1 : Reproductibilité des caractéristiques  $I_D$ - $V_G$  sur un dispositif avant métallisation des contacts (gauche) et après métallisation des contacts (droite)**

On observe que la métallisation des plots de reprise de contact est indispensable pour obtenir une bonne reproductibilité des caractéristiques  $I_D$ - $V_G$  à l'air. En effet, en l'absence de métallisation, le contact entre les pointes et le silicium fortement dopé est régi par les défauts créés au point de contact, qui varient en fonction de la position de la pointe sur le plot. La métallisation permet ainsi de passer d'un écart-type de 150 nA sur les valeurs de  $I_{ON}$  à un écart-type de 2.3 nA lorsque les pointes sont déposées sur un plot recouvert d'or.

Le deuxième paramètre pour lequel on souhaite avoir une bonne reproductibilité est la tension de seuil  $V_T$ . On définit ici la tension  $V_T$  comme étant la tension de grille pour laquelle on a  $I_D = 1$  nA. Vingt dispositifs de dimensions différentes et dont les plots ont été recouverts par de l'or ont été testés selon les paramètres du Tableau III.4-1. Pour chaque dispositif, 5 tests successifs ont été effectués, et la Figure III.4-2 regroupe les valeurs des écarts-types sur la mesure de  $V_T$  pour chaque dispositif (rond rouge). Vingt autres dispositifs, qui sont des MOSFET classiques de dimensions équivalentes ont aussi été testés dans les mêmes conditions : les valeurs des écarts-types sur la mesure de  $V_T$  pour chaque dispositif sont représentés par un carré noir.



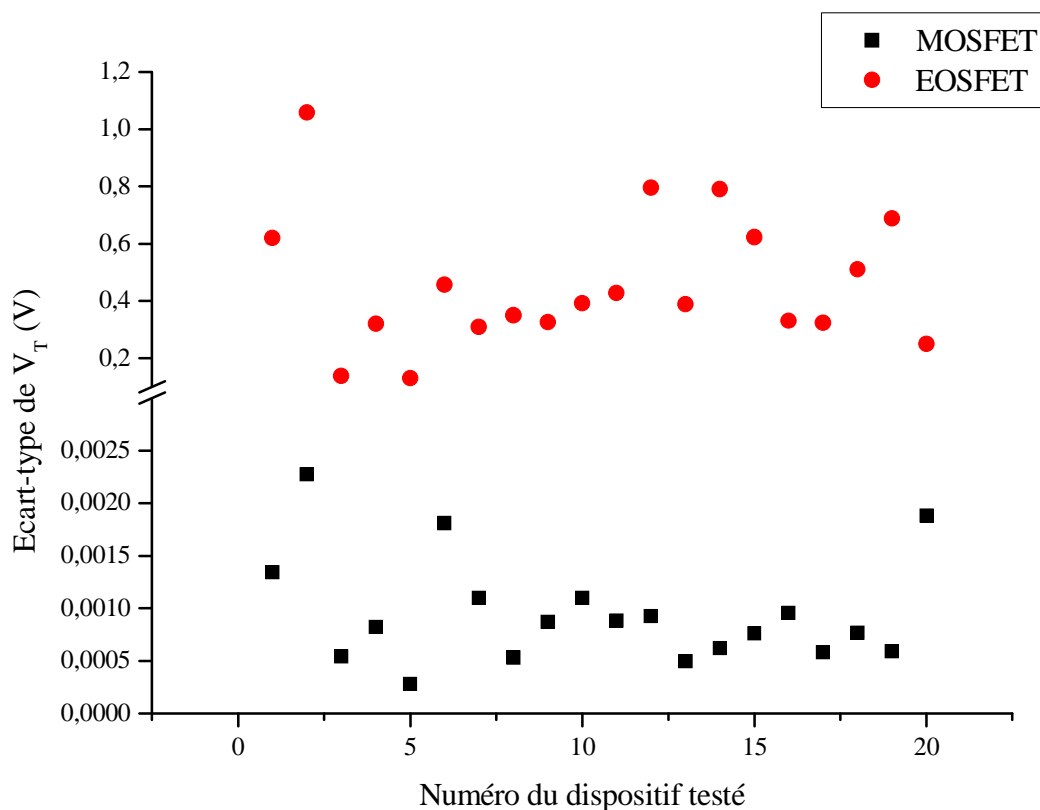


Figure III.4-2 : Écart-type sur la mesure de  $V_T$  pour 20 dispositifs MOSFET (carrés noirs) et EOSFET (ronds rouges), chaque dispositif étant testé 5 fois.

Les écarts-types sur la mesure de  $V_T$  sont 3 ordres de grandeur plus grands pour les EOSFET que pour les MOSFET. Cela peut s'expliquer par la comparaison des architectures de chaque type de transistor. Le canal de conduction d'un MOSFET (ici le nanofil) est recouvert d'une fine couche de silice, elle-même recouverte d'une grille en polysilicium. Cette grille a l'avantage de protéger totalement le canal des influences du milieu extérieur (lumière, poussière). De plus, celle-ci étant séparée du nanofil seulement par une fine couche de silice (typiquement quelques nanomètres), la modulation du courant dans le canal est très bien contrôlée.

Dans le cas d'un EOSFET, le canal de silicium est recouvert d'une fine couche de silice qui est exposée à l'air libre. Celui-ci est donc plus sensible aux modifications du milieu environnant. De plus la modulation du courant dans le canal est réalisée par la face arrière du dispositif. Celle-ci est séparée du canal par 400 nm d'oxyde de silicium, ce qui aboutit à un contrôle moins précis que dans le cas d'un MOSFET.

Ces deux différences architecturales entre les dispositifs testés permettent d'expliquer la moins bonne reproductibilité de la tension de seuil des EOSFET à l'air.

### III.4.1.2 INFLUENCE DU PACKAGING

Après les premiers tests électriques, les puces sont packagées pour permettre les tests fluidiques. Il est important de s'assurer que ce packaging n'influence pas les caractéristiques électriques des dispositifs. Pour cela, nous avons réalisé la mesure  $I_D-V_G$  avec les paramètres détaillés dans le Tableau III.4-2, avant et après packaging pour 16 dispositifs différents.

Paramètres	Valeurs
Chaîne de mesure	Nanoampèremètres
$V_G$	Face arrière - 0 à 30 V
$V_D$	1 V

Tableau III.4-2 : Paramètres de la mesure de l'influence du packaging

Dans chaque cas, la différence entre la tension de seuil du dispositif avant packaging et après packaging a été mesurée, les valeurs obtenues sont reportées sur la Figure III.4-3. Sur cette figure sont aussi reportées par deux lignes rouges les valeurs minimales et maximales obtenues pour les écarts-types de  $V_T$  sur les EOSFET dans la partie précédente.

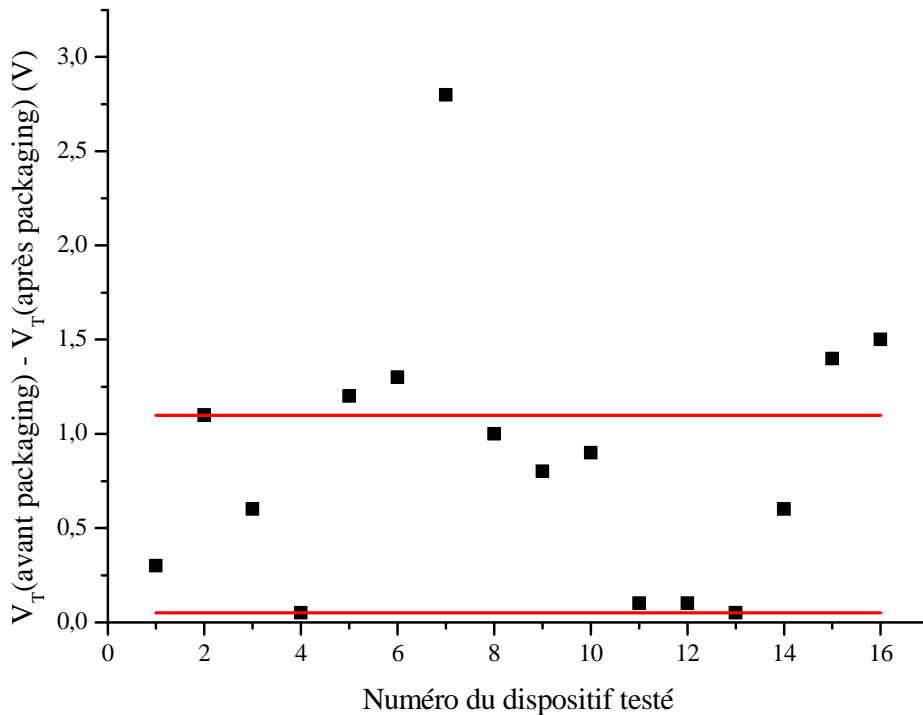


Figure III.4-3 : Influence du packaging sur la tension de seuil

La différence entre les tensions de seuil avant et après packaging est, pour la plupart des dispositifs, comprise ou légèrement supérieure à l'erreur apportée par la reproductibilité de  $V_T$  pour un EOSFET à l'air. Seul un dispositif sur les 16 testés présente une différence de tension de seuil égale à plus du double de la valeur maximale de l'écart-type de  $V_T$  pour un dispositif à l'air. On peut en conclure que le packaging fluide mis en place n'altère pas le fonctionnement des dispositifs et n'a pas d'influence importante sur la mesure de leurs caractéristiques électriques.

### III.4.2 CARACTERISATIONS EN MILIEU FLUIDIQUE

#### III.4.2.1 REPRODUCTIBILITE EN MILIEU FLUIDIQUE

De la même façon que pour les tests de reproductibilité à l'air, nous souhaitons obtenir des informations sur la stabilité de  $I_{ON}$  et  $V_T$  au cours du temps pour un dispositif utilisé dans un environnement fluide. Pour cela, nous avons réalisé des mesures  $I_D$ - $V_G$  avec les paramètres détaillés dans le Tableau III.4-3 sur un EOSFET recouvert d'un fluide circulant à un débit donné.

Paramètres	Valeurs
Chaîne de mesure	Nanoampèremètres
$V_G$	Electrode d'or - 0 à 3 V
$V_D$	1 V
Répétitions	20

Tableau III.4-3 : Paramètres de la mesure de la reproductibilité en fluide

Différentes conditions de fluide et de débit ont été testées sur le même dispositif. Ainsi 4 séries de 20 mesures ont été réalisées avec une solution de NaCl à  $10^{-7}$  M et  $10^{-3}$  M et à un débit de  $0,5 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$  et  $2 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ . Les plots du dispositif testé ont été recouverts d'or, ce qui permet d'assurer une stabilité de  $I_{ON}$  équivalente à celle mesurée pour les dispositifs à l'air. Les valeurs des écarts-types de  $V_T$  pour chacune des 4 conditions sont résumées sur la Figure III.4-4.

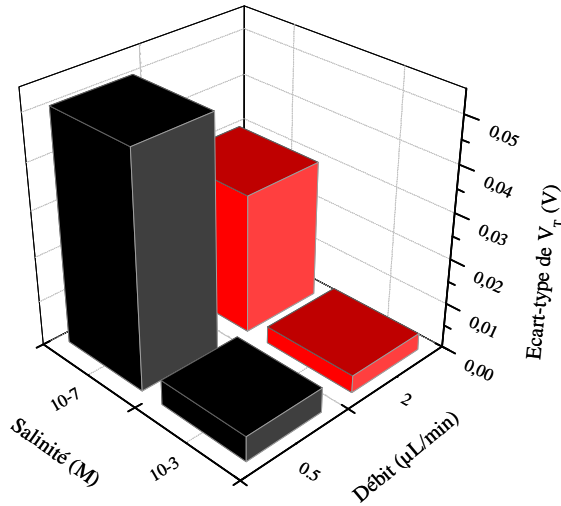


Figure III.4-4 : Écarts-types de  $V_T$  en fluide

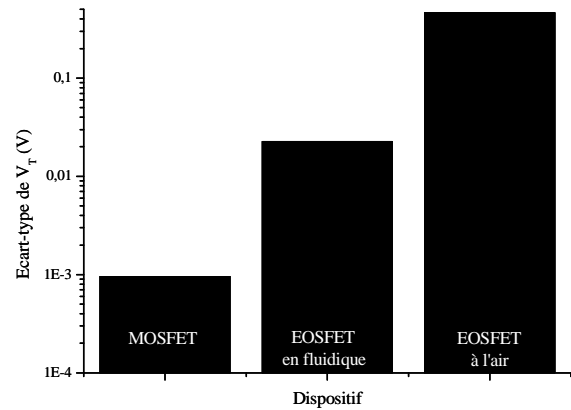


Figure III.4-5 : Comparaison des écarts-types de  $V_T$

La valeur moyenne des écarts-types pour les 4 conditions testées est de  $2 \times 10^{-2}$  V alors que celle des dispositifs testés à l'air était de 0.5 V. La valeur de la tension de seuil est 25 fois plus stable dans un environnement fluide qu'à l'air (Figure III.4-5), ce qui peut s'expliquer par deux raisons :

- La modulation du courant dans le canal est ici réalisée grâce à l'électrode d'or plongée dans le fluide. Le contrôle de cette modulation est beaucoup plus précis que dans le cas d'une excitation par la face arrière du dispositif puisqu'il n'y a pas 400 nm d'oxyde de silicium à traverser.
- De plus l'environnement au dessus du nanofil de silicium est ici beaucoup mieux contrôlé que dans le cas d'un dispositif laissé à l'air libre : les fluides utilisés sont filtrés pour en enlever les impuretés, et sont ensuite placés dans des conteneurs fermés.

Les écarts-types sur les mesures de  $V_T$  sont environ 10 fois plus importants dans le cas d'une solution de NaCl de salinité  $10^{-7}$  M par rapport à une solution de NaCl à  $10^{-3}$  M. Cela peut également être expliqué par le contrôle du milieu environnant. Dans une solution très peu chargée, la plus petite impureté conduira à une variation relative de courant de drain plus importante que dans une solution plus chargée.

Enfin le changement de débit de 0.5 à 2  $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$  ne semble pas avoir d'influence prépondérante sur la stabilité de la tension de seuil.

### III.4.2.2 INFLUENCE DES ELEMENTS EXTERIEURS

Nous souhaitons utiliser les EOSFET pour détecter différentes molécules chimiques ou biologiques. Afin de rendre cette détection la plus efficace possible, il est nécessaire de connaître tous les paramètres extérieurs qui peuvent influencer la réponse en courant de l'EOSFET, afin de contrôler ces paramètres.

Le premier facteur extérieur d'influence à avoir été mis en évidence est la sensibilité des capteurs aux charges électrostatiques environnantes (apportées par certains appareils, ou par le manipulateur lui-même). Afin d'isoler électrostatiquement le dispositif testé des sources de perturbation, nous avons installé une cage de Faraday autour du testeur sous pointes. Une mesure a été réalisée sur le même dispositif, avec un débit d'eau déionisée (EDI) à  $1 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$  et les paramètres décrits dans le Tableau III.4-4, sans puis avec la cage de Faraday.

Paramètres	Valeurs
Chaîne de mesure	Lock-in
$V_G$	Electrode d'or – 1V
$V_D$ – amplitude	1 V
$V_D$ – fréquence	17 Hz
Gain	$10^5$

*Tableau III.4-4 : Paramètres de la mesure sur l'influence de la cage de Faraday*

La Figure III.4-6 permet de constater que la cage de Faraday joue bien son rôle, permettant une mesure précise et stable du courant de drain : plus aucun artefact du à la détection de charges n'apparaît.

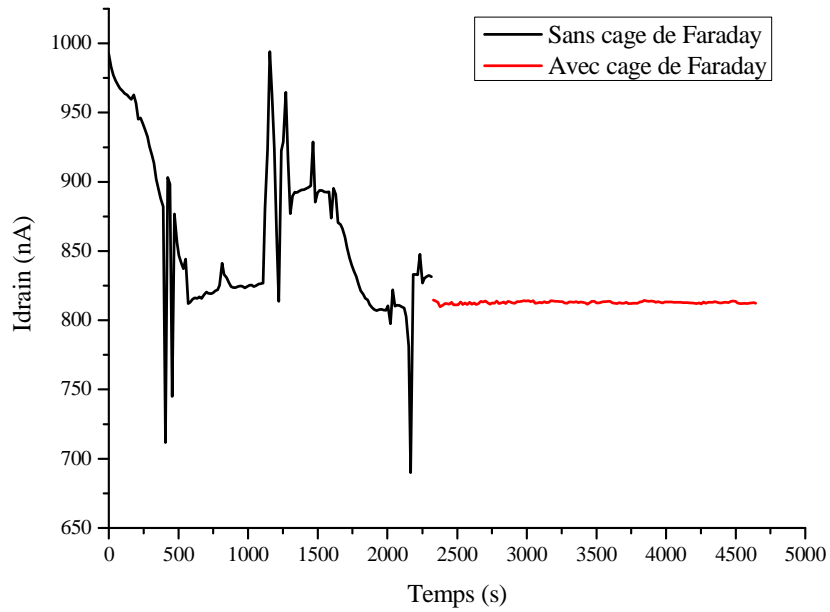


Figure III.4-6 : Mesure de  $I_D$  en fonction du temps sur le même dispositif sans, puis avec la cage de Faraday

Les mêmes conditions de mesure ont été utilisées pour analyser l'influence de la lumière. Il est connu que les MOSFET sont sensibles à la lumière [179]. C'est aussi le cas pour les dispositifs que nous utilisons : la ligne de base de la mesure de  $I_D$  n'est pas au même niveau selon que la puce est plongée dans le noir (grâce à un capot opaque), ou illuminée par la lumière du microscope (Figure III.4-7). Afin de ne pas subir de variations dues à un changement de lumière sur le dispositif en cours de test, toutes les mesures sont réalisées en plaçant au dessus de la puce un capot opaque.

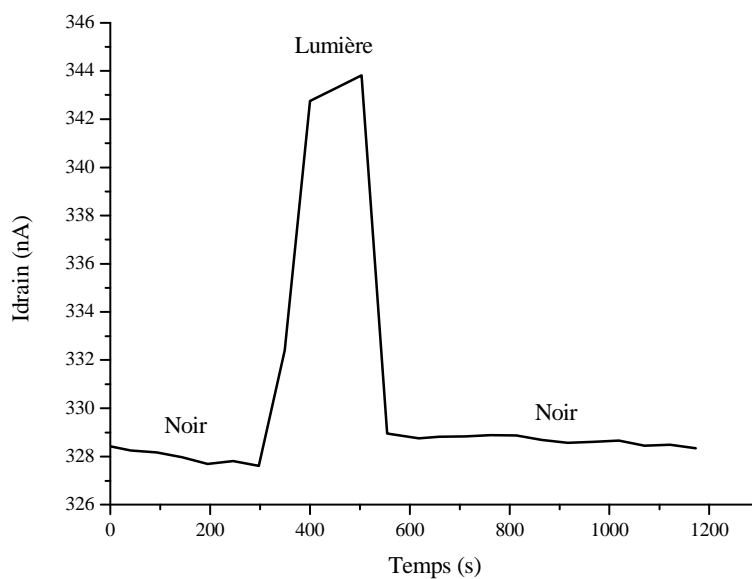


Figure III.4-7 : Mesure de  $I_D$  en fonction du temps en mettant ou en enlevant le capot opaque sur la puce

**III.4.2.3 INFLUENCE DE LA SALINITE DE L'ELECTROLYTE**

L'influence de la salinité de l'électrolyte en contact avec le canal de conduction sur le courant de drain mesuré a été testée pour des EOSFET sans fonctionnalisation chimique préalable. La Figure III.4-8 représente la mesure du courant de drain en fonction du temps suite à l'introduction de solutions de différentes salinités. Les paramètres de cette mesure sont résumés dans le Tableau III.4-5.

Paramètres	Valeurs
Chaîne de mesure	Lock-in
$V_G$	Face avant
$V_D$ – amplitude	1 V
$V_D$ – fréquence	17 Hz
Gain	$10^5$
Solutions	EDI – NaCl $10^{-7}$ M – $10^{-6}$ M – $10^{-5}$ M – $10^{-4}$ M – $10^{-3}$ M – $10^{-2}$ M
Débit	$2 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$

Tableau III.4-5 : Paramètres de la mesure sur l'influence de la salinité

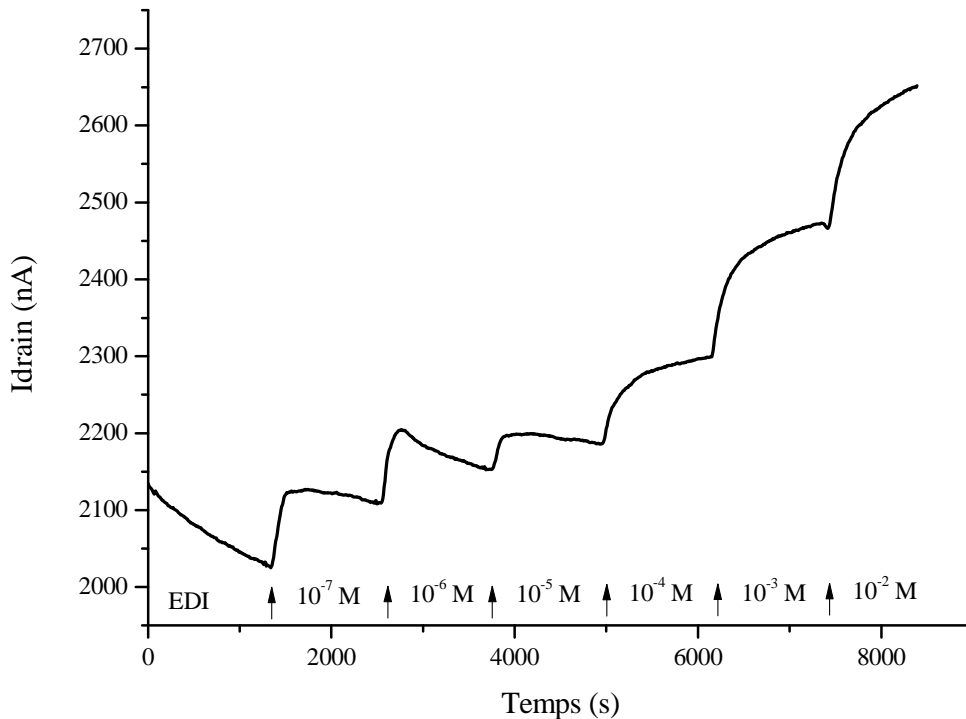


Figure III.4-8 : Evolution du courant de drain en fonction de la salinité des solutions

L'augmentation de la salinité de la solution testée provoque une augmentation du courant de drain du dispositif mesuré : chaque changement de solution est ainsi caractérisé par un saut du courant de drain. La réversibilité de l'évolution du courant de drain en fonction de la salinité des solutions a ensuite été testée pour 3 dispositifs (Figure III.4-9) qui diffèrent par leur largeur. Les paramètres utilisés lors de cette mesure sont détaillés dans le Tableau III.4-6.

Paramètres		Valeurs
Chaîne de mesure		Lock-in
$V_G$		Face avant
$V_D$ – amplitude		1 V
$V_D$ – fréquence		17 Hz
Gain		$10^5$
Solutions	NaCl $10^{-7}$ M – $10^{-5}$ M – $10^{-3}$ M – $10^{-5}$ M – $10^{-7}$ M	
Débit	$2 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$	

Tableau III.4-6 : Paramètres de la mesure sur la réversibilité de l'influence de la salinité

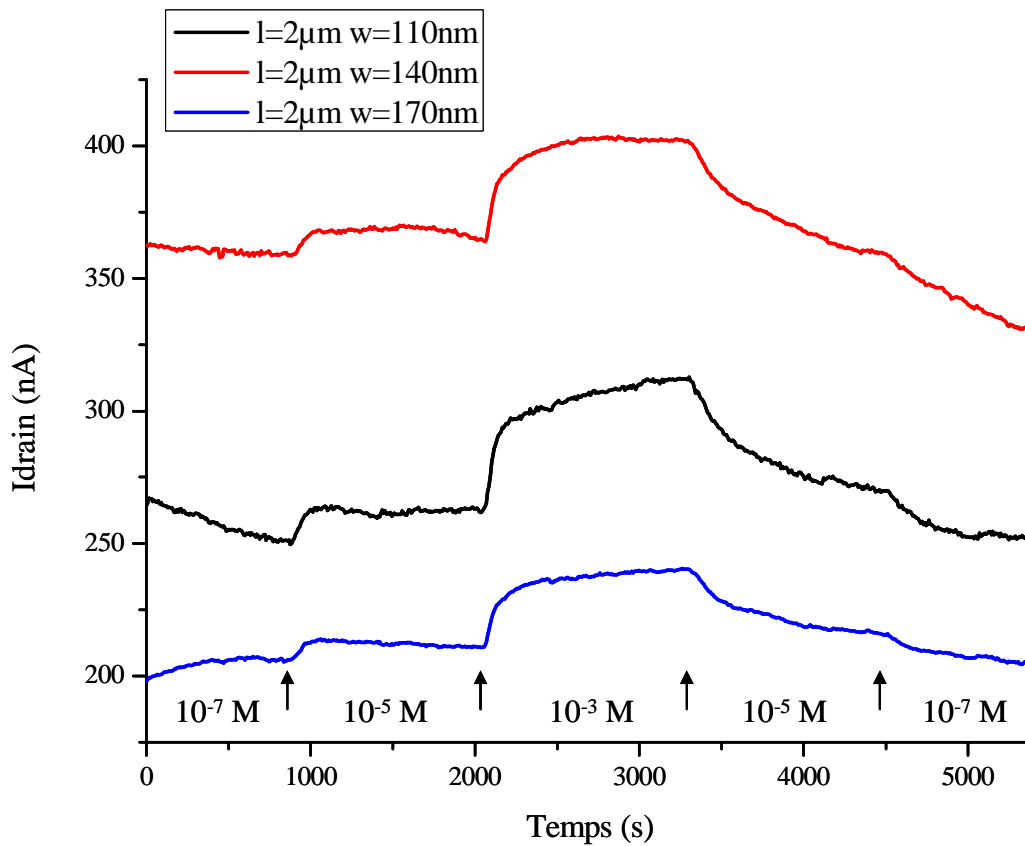


Figure III.4-9 : Evolution du courant de drain en fonction de la salinité des solutions pour 3 nanofils différents. Les flèches indiquent les changements de solutions.



Sur ces courbes, on constate que, pour chaque nanofil, on a une augmentation du courant de drain lorsque la salinité de la solution augmente. Les sauts de courant sont plus marqués lorsque l'on augmente la salinité des solutions que lorsqu'on la diminue. La géométrie des canaux fluidiques n'étant pas optimisée, lors de l'introduction d'une nouvelle solution, la solution précédente et celle-ci se mélangent. Lorsque la salinité augmente, ce mélange n'a que peu d'incidence sur la variation du courant de drain, puisque la salinité de la solution précédente est négligeable, ainsi la salinité du mélange des solutions est égale à la salinité de la nouvelle solution. Au contraire, lorsque l'on diminue la salinité des solutions, la salinité de la solution précédente n'est plus négligeable et le mélange des deux solutions est à une salinité comprise entre la salinité de la solution précédente et celle de la nouvelle solution.

Le modèle de la double couche développé au III.1.3 permet de comprendre l'influence de la salinité de la solution sur le courant de drain du dispositif. En effet, nous avons vu que la capacité de la double couche dépend de la salinité de la solution, et plus précisément qu'elle augmente lorsque la salinité de la solution augmente. La salinité de la solution va ainsi avoir une influence sur :

- la chute de potentiel due à la double couche entre l'électrode de polarisation et l'électrolyte qui est contenue dans le terme  $E_{ref}$
- la chute de potentiel due à la double couche entre l'oxyde qui recouvre le canal de conduction et l'électrolyte qui correspond au terme  $\psi_0$ .

On peut en déduire que le changement sur ces valeurs suite à un changement de salinité de la solution implique un changement du courant de drain  $I_D$ , que l'on mesure effectivement. Le sens de variation de  $I_D$  en fonction de la salinité est difficile à prévoir à partir de ce simple modèle analytique car la salinité de la solution influence non seulement la capacité de la double couche, mais aussi la charge à la surface du métal et de l'oxyde, ces deux variations ayant une influence contraire sur le courant de drain. Un modèle numérique plus avancé serait nécessaire pour prédire le sens de variation de  $I_D$ .

L'influence de la salinité sur le niveau du courant de drain des dispositifs a été mise en évidence dans deux études récentes, l'une sur des nanotubes de  $SnO_2$  [240], l'autre sur des nanofils de silicium réalisés par VLS [242]. Dans le premier cas, le courant de drain diminue jusqu'à une salinité de 70 mM, puis augmente pour des salinités plus élevées. Dans la deuxième étude, la salinité de la solution varie de 1  $\mu$ M à 1 mM et conduit à une diminution du courant de drain. Cette dépendance du courant de drain à la salinité de la solution est attribuée à une modification de la capacité de la double couche et de la répartition des ions à l'intérieur de celle-ci, mais aucun modèle n'est proposé pour expliquer le sens de variation du

courant de drain. De plus les dispositifs testés présentent plusieurs différences avec nos dispositifs qui peuvent expliquer les observations inverses réalisées. Par exemple, l'étude des nanotubes de SnO<sub>2</sub> est réalisée sans électrode de référence dans la solution mais en appliquant une tension de polarisation en face arrière du dispositif. La double couche à l'interface entre l'électrode de polarisation et l'électrolyte n'est donc pas à prendre en compte dans ce cas.

### III.4.2.4 INFLUENCE DU DEBIT DE L'ELECTROLYTE

L'influence du débit de l'électrolyte en contact avec le canal de conduction sur le courant de drain mesuré a été testée pour des EOSFET sans fonctionnalisation chimique préalable. La Figure III.4-10 représente la mesure du courant de drain en fonction du temps pour le même dispositif à quatre salinités différentes (10<sup>-7</sup> M, 10<sup>-6</sup> M, 10<sup>-5</sup> M et 10<sup>-4</sup> M). Les paramètres utilisés lors de ces mesures sont détaillés dans le Tableau III.4-7. La Figure III.4-11 résume les sauts de courant de drain mesuré en fonction des différentes salinités testées.

Paramètres	Valeurs
Chaîne de mesure	Lock-in
V <sub>G</sub>	Face avant
V <sub>D</sub> – amplitude	1 V
V <sub>D</sub> – fréquence	17 Hz
Gain	10 <sup>5</sup>

Tableau III.4-7 : Paramètres de la mesure sur l'influence du débit

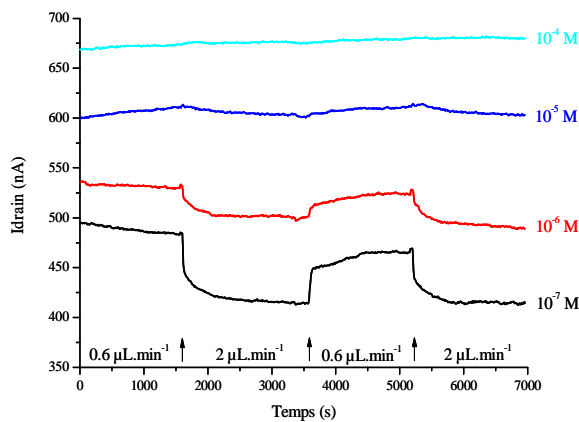


Figure III.4-10 : Evolution du courant de drain en fonction du débit à 4 salinités différentes.

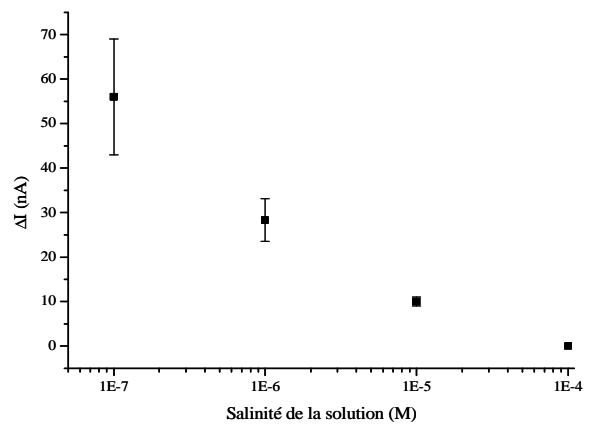


Figure III.4-11 : Mesure de  $\Delta I$  en fonction de la salinité

A faible salinité ( $10^{-7}$  M), une augmentation du débit de l'électrolyte provoque une diminution du courant de drain mesuré. Quand la salinité augmente, l'influence du changement de débit sur le courant de drain n'est plus visible ( $10^{-4}$  M). Un tel phénomène a déjà été observé sur des nanotubes de carbone utilisés comme EOSFET [243] avec une limite de détection de  $25 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ . Une communication très récente du groupe de Zheng [242] étudie l'influence du débit et de la salinité de la solution testée sur des EOSFET dont le canal est un nanofil de silicium fabriqué par la technique VLS. A notre connaissance, aucune étude n'a pour le moment été réalisée sur l'influence du débit et de la salinité de la solution en contact avec des EOSFET dont le canal est une nanostructure réalisée par gravure e-beam.

Cette influence du débit imposé l'électrolyte sur le courant de drain peut être expliquée par un changement de la répartition des contre-ions dans la double couche à l'interface électrolyte – oxyde (Figure III.4-12).

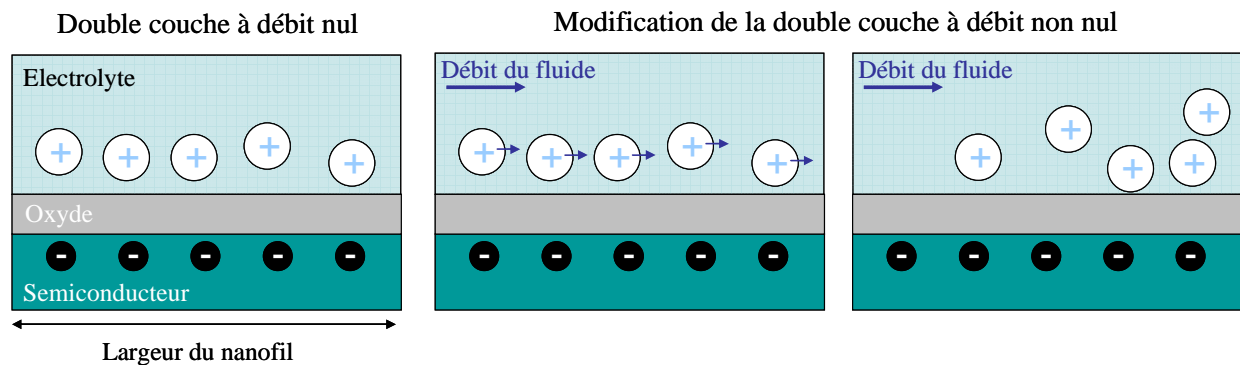


Figure III.4-12 : Modification de la double couche à l'interface électrolyte - oxyde à débit non nul

Plus la salinité de l'électrolyte augmente, plus le nombre de contre-ions très proches de la surface de l'oxyde augmente, et la modification apportée par un changement de débit sur la double couche devient négligeable. Cette modification de la double couche provoque l'apparition d'un potentiel, appelé en anglais le potentiel de streaming, qui entre alors en compte dans la modélisation de l'EOSFET en modifiant le potentiel  $\psi_0$  à l'interface électrolyte – oxyde. Il existe une expression simple du potentiel de streaming dans le cas où :

- L'électrolyte utilisé est un électrolyte binaire 1 – 1 dont les cations et les anions ont la même mobilité
- Le fluide circule dans un capillaire, ou entre deux plaques plates parallèles polarisées au même potentiel
- La double couche formée à l'interface des électrodes polarisées et du fluide est fine

- Le régime hydrodynamique du fluide est établi

Dans ce cas, on a alors [244-246]:

$$\Delta V_{str} = \frac{\varepsilon \varepsilon_0 \zeta}{\sigma \eta} \Delta P \quad (III-19)$$

où  $\Delta V_{str}$  est la différence de potentiel de streaming,  $\varepsilon_0$  est la permittivité du vide,  $\varepsilon$  est la permittivité relative de l'électrolyte,  $\zeta$  est le potentiel zeta ;  $\sigma$  est la conductivité électrique de la solution,  $\eta$  est la viscosité dynamique de la solution et  $\Delta P$  est la différence de pression.

Les deux études précédentes avancent ensuite une relation linéaire entre le potentiel de streaming et soit le débit [243], soit la vitesse du fluide [242].

Une deuxième mesure a été réalisée sur un de nos dispositifs à trois débits différents pour une salinité de  $10^{-7}$  M (Figure III.4-13). Les paramètres de cette mesure sont résumés dans le Tableau III.4-7. Une différence de débit de  $0.7 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$  provoque un saut de courant de drain de 15 nA (entre 2 et  $1.3 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ ) puis de 35 nA (entre  $1.3 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$  et  $0.6 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ ). La variation sur le courant de drain n'est pas proportionnelle à la variation imposée au débit, contrairement à ce qui a pu être observé au cours des études précédentes. Cette constatation peut être due à plusieurs raisons :

- L'expression simplifiée du potentiel de streaming ne s'applique pas forcément dans notre cas où la géométrie est plus complexe et où la double couche à l'interface entre le nanofil et l'électrolyte, ainsi que celle à l'interface entre l'électrode de référence et l'électrolyte, n'est pas fine. En effet, dans un électrolyte à  $10^{-7}$  M, l'épaisseur de la double couche  $\lambda_D$  peut être évaluée à environ  $1 \mu\text{m}$  [247].
- La relation exacte entre la différence de pression et la différence de vitesse du fluide est donnée par la relation de Navier-Stokes [244, 247, 248]:

$$\frac{\partial \vec{u}}{\partial t} + \vec{u} \cdot \nabla \vec{u} = -\frac{\nabla P}{\rho} + \frac{\eta}{\rho} \nabla^2 \vec{u} \quad (III-20)$$

où  $\vec{u}$  est le vecteur vitesse du fluide et  $\rho$  est la masse volumique du fluide.

La relation entre la différence de pression et la différence de vitesse du fluide n'est donc pas, en règle générale, linéaire. De plus, la relation entre le débit du fluide et la vitesse du fluide n'est pas non plus forcément linéaire compte tenu de la géométrie du canal fluide, et plus particulièrement du fait que le nanofil se trouve au fond de la cavité déterminée par le retrait de la passivation.

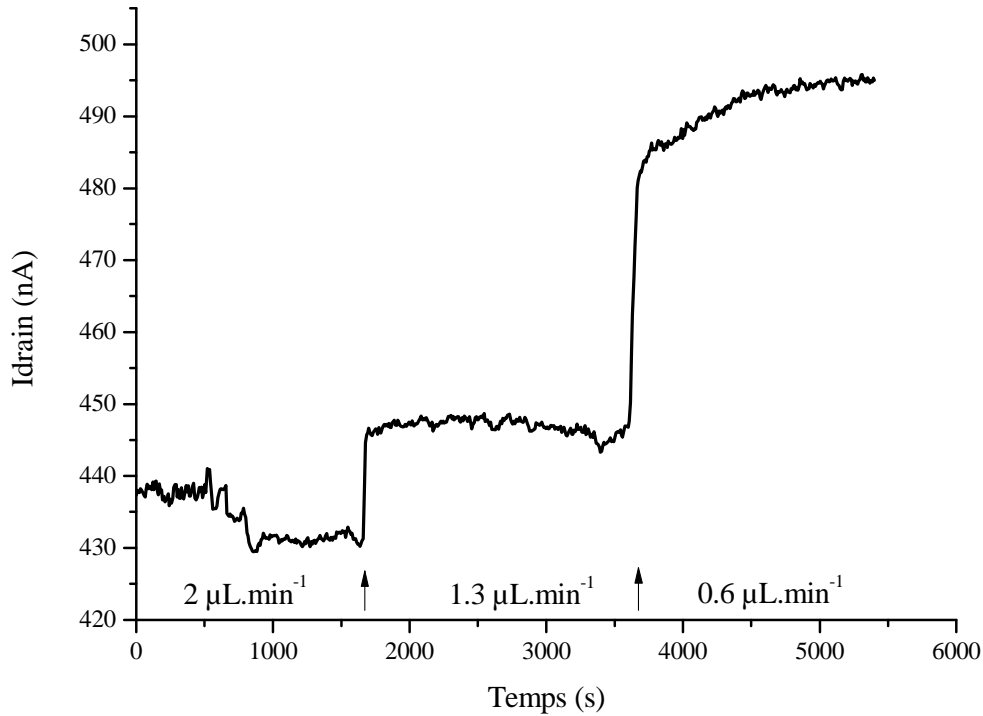


Figure III.4-13 : Influence du débit sur le courant de drain à  $10^{-7} M$

La limite de détection atteinte avec nos dispositifs pour une concentration en NaCl de  $10^{-7} M$  est de  $0.7 \mu L \cdot \text{min}^{-1}$  (Figure III.4-13). Le Tableau III.4-8 compare nos limites de détection avec celles obtenues dans la littérature, en termes de variations de débit et vitesses minimales détectables (les vitesses ont été calculées en divisant le débit par la section moyenne du canal fluide).

Dispositifs	Vitesse ( $\text{mm} \cdot \text{s}^{-1}$ )	Débit ( $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ )
Nanotubes de carbone [243]	<i>20.83</i>	25
Nanofils VLS [242]	0.55	
Nanofils e-beam	<i>0.1</i>	0.7

Tableau III.4-8 : Comparaison des limites de détection obtenues selon le type de dispositif (les valeurs en italique ont été obtenues par calcul)

Nos dispositifs montrent une limite de détection des variations de débit du fluide en contact avec le canal de conduction plus d'un ordre de grandeur meilleure que celle obtenue grâce à des nanotubes de carbone, et cinq fois meilleure que celle publiée récemment par le groupe de Zheng.

## III.5 CONCLUSION

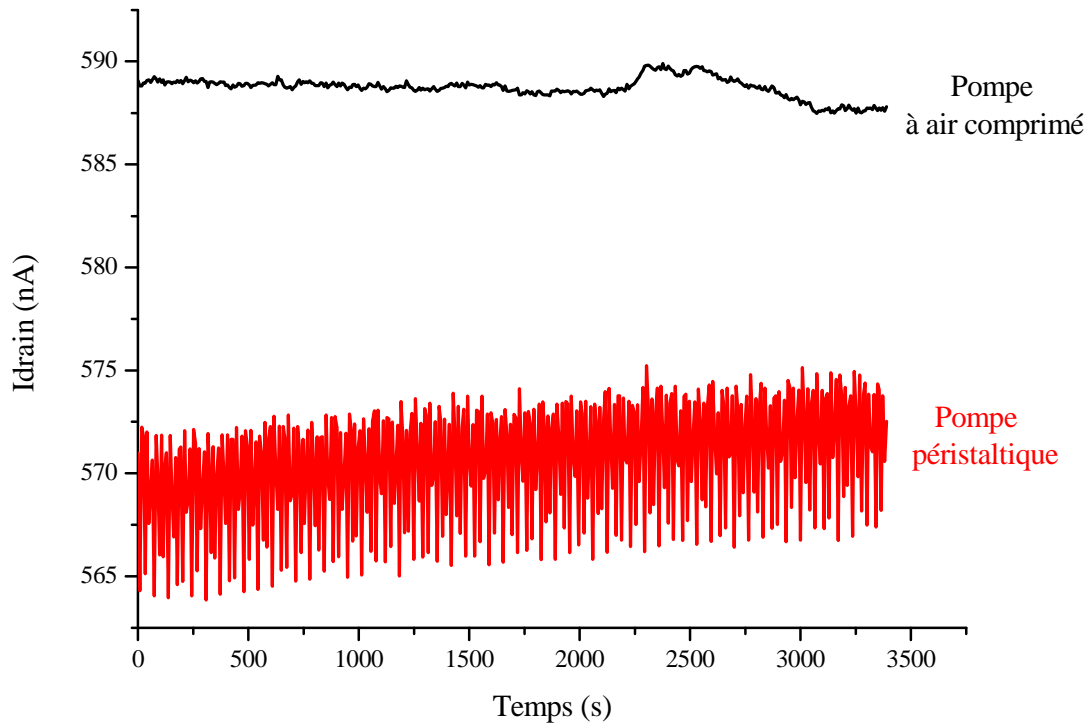
Les composants puce à puce dont la fabrication a été décrite dans le chapitre précédent nous ont permis de mettre en place le banc de mesure électrique et fluidique.

Différentes méthodes de mesure ont été testées sur les composants hybrides afin de choisir le point de polarisation du drain et de la grille permettant la meilleure sensibilité possible. L'ensemble des tests fluidiques a ensuite été réalisé grâce à la chaîne de mesure comprenant le lock-in et l'amplificateur de courant ; le multiplexeur permettant de réaliser une mesure sur plusieurs dispositifs en parallèle.

Les mesures du courant de drain en milieu fluidique de dispositifs EOSFET sans fonctionnalisation préalable ont mis en évidence plusieurs paramètres clés :

- Les dispositifs sont sensibles aux charges électrostatiques présentes dans l'environnement, il est donc important de réaliser les mesures en cage de Faraday.
- Ils sont aussi sensibles aux variations de luminosité : les mesures sont réalisées en plaçant une boîte noire au dessus des dispositifs.
- Une augmentation de la salinité de la solution conduit à une augmentation du courant de drain du dispositif mesuré. Cela implique que, lors des expériences de détection d'événements chimiques ou biologiques, il faut être attentif à garder la même salinité de la solution tout au long de l'expérience. Particulièrement cela implique que la salinité de la cible biologique recherchée doit être bien inférieure à celle de la solution tampon utilisée afin de ne pas avoir de changements de courant de drain du dispositif dus à un changement de salinité de la solution tampon avec ou sans la cible biologique.
- Enfin, les dispositifs sont aussi sensibles à un changement de débit de la solution en contact avec le canal de conduction. Cette constatation nous a amené à modifier notre banc de test fluidique. Les premiers tests réalisés à l'aide d'une pompe péristaltique ont en effet conduit à l'observation d'une instabilité importante de la ligne de base du courant de drain mesuré due à des faibles changements de débit apportés par le mécanisme de fonctionnement de cette pompe. La pompe à air comprimé permet d'éliminer cette instabilité, comme illustré sur la Figure III.5-1 où le courant de drain du même dispositif est mesuré dans une solution d'EDI (dont la salinité est inférieure à  $10^{-7}$  M) à un débit de  $1 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$  imposé soit par la pompe péristaltique, soit par la

pompe à air comprimé. Les paramètres de cette mesure sont résumés dans le Tableau III.4-7.



**Figure III.5-1 : Comparaison de la ligne de base obtenue avec une pompe péristaltique et une pompe à air comprimé**

---

## CHAPITRE IV

### APPLICATIONS DES EOSFET

---

*Les dispositifs fabriqués et caractérisés dans les chapitres précédents sont utilisés pour la détection d'interactions chimiques ou biologiques à leur surface. La détection de très faibles quantités de molécules biologiques, en particulier par voie génomique (détection et quantification de leur ADN) est de nos jours extrêmement importante. Celle-ci doit en effet permettre de délivrer un diagnostic précoce rapidement et de manière fiable. Ce chapitre permet d'explorer les possibilités offertes par les EOSFET pour réaliser une détection sensible, rapide, intégrable et sans marquage de l'ADN.*

*Dans une première partie, les différentes étapes de préparation de la surface permettant la détection d'interactions chimiques ou biologiques sont détaillées : il s'agit de la fonctionnalisation de la surface ainsi que du greffage des sondes biologiques. Une deuxième partie permet, à travers les différents tests de détection chimique et biologique effectués, de mettre en évidence deux points clés dans l'étude de la détection électrique directe sur EOSFET : l'importance de l'état de surface du dispositif étudié, ainsi que celle de la salinité de la solution dans laquelle le dispositif est plongé.*



## IV.1 FONCTIONNALISATION CHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DES EOSFET

La fonctionnalisation chimique et biologique d'un EOSFET permet de le rendre sensible et spécifique à une espèce donnée (ions, molécules biologiques). Comme nous le verrons au IV.2.1.1, la silice présente sur le nanofil est sensible au changement de pH, puisque les fonctions SiOH peuvent se déprotoner en SiO<sup>-</sup>. Cependant, fonctionnaliser la surface permet d'augmenter le domaine de linéarité de la réponse au pH. Le dépôt de sondes biologiques à la surface du capteur permet quant à lui de le rendre spécifique à une espèce donnée.

### IV.1.1 ETAT DE L'ART

On recense dans la littérature différentes voies de fonctionnalisation de surface inorganique couramment utilisées. Les composés organosilanes réactifs sont largement utilisés pour modifier les propriétés d'une surface inorganique. Les organosilanes sont des molécules organiques dérivées du silane SiH<sub>4</sub> dans lequel les hydrogènes sont substitués par quatre groupements chimiques. Leur formule générale est R<sub>n</sub>SiX<sub>(4-n)</sub>, où X est un groupement hydrolysable et R un groupement organique carboné non hydrolysable, pouvant posséder une fonction terminale propre à l'application visée. Le mécanisme de greffage d'organosilanes sur l'oxyde de silicium, appelé silanisation, est communément décrit en deux étapes : la première étape consiste en une hydrolyse des groupements hydrolysables X de l'organosilane, entraînant leur substitution par des groupements OH, suivie d'une étape de condensation avec une fonction Si-OH, présente à la surface de l'oxyde de silicium, formant ainsi un pont siloxane, Si-O-Si [249] (Figure IV.1-1).

La structure de la couche de fonctionnalisation ainsi formée dépend du nombre de groupements hydrolysables X :

- Les organosilanes monofonctionnels R<sub>3</sub>SiX ne forment que des liaisons du type Si<sub>support</sub>-O-Si<sub>silane</sub>. Cela permet de créer une monocouche dont l'épaisseur est égale à la longueur du silane mais dont la compacité n'est souvent pas maximale.
- Les organosilanes trifonctionnels RSiX<sub>3</sub> forment à la fois des liaisons du type Si<sub>support</sub>-O-Si<sub>silane</sub> et Si<sub>silane</sub>-O-Si<sub>silane</sub> ce qui permet d'obtenir, suivant les conditions opératoires,

soit une monocouche compacte (conditions anhydres, basses températures, silanes à longue chaîne), soit une multicouche plus épaisse et plus dense qui est aussi plus résistante (présence d'eau éventuelle, chauffage).

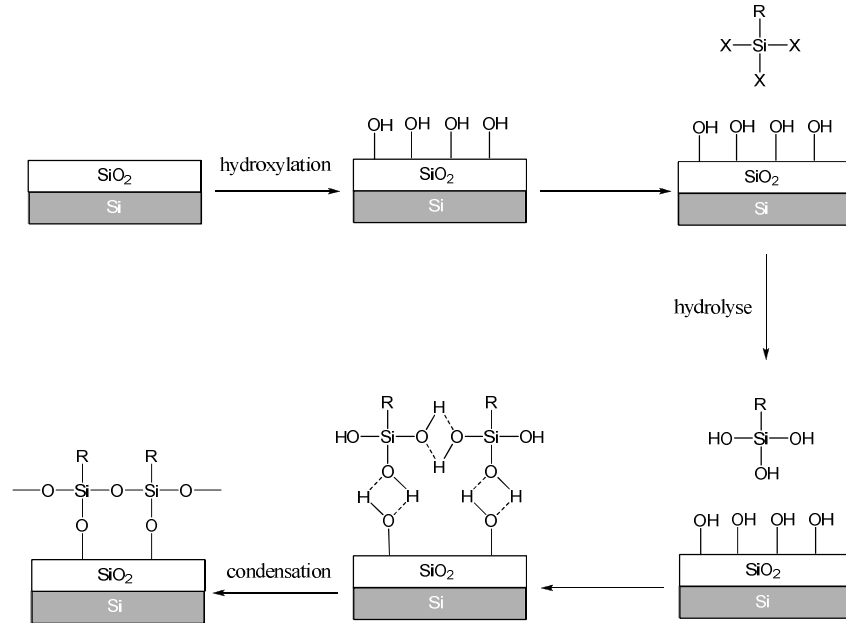


Figure IV.1-1 : Représentation schématique de la réaction de silanisation

Selon la fonction terminale du groupement organique R, une sensibilité au pH dans des gammes plus ou moins grandes sera possible. La fonction amine (Figure IV.1-2) par exemple, permet théoriquement, par combinaison avec la fonction OH de surface, d'obtenir une sensibilité pour des pH compris entre 2 et 12 [162].

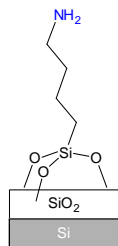


Figure IV.1-2 : Fonctionnalisation avec un groupement amine

Cette fonction terminale du groupement organique R peut aussi donner lieu à différents mécanismes d'accroche de molécules biologiques, et plus particulièrement de brins d'oligonucléotides (Figure IV.1-3) :

- Une surface de type aldéhyde peut réagir avec la fonction amine des molécules biologiques [250]. Cette méthode a été utilisée par plusieurs groupes pour greffer des brins d'ADN [164] ou d'ANP (Acide Nucléique Peptidique, équivalent synthétique de l'ADN) [219] sur un nanofil de silicium.
- Les fonctions amines permettent le greffage covalent de molécules biologiques par l'intermédiaire d'un acide carboxylique [226, 251].
- Enfin, une surface comportant des groupements thiols permet l'accroche avec des molécules comportant des fonctions thiols, en particulier des brins d'oligonucléotides modifiés, par création de ponts disulfures [165, 252] .

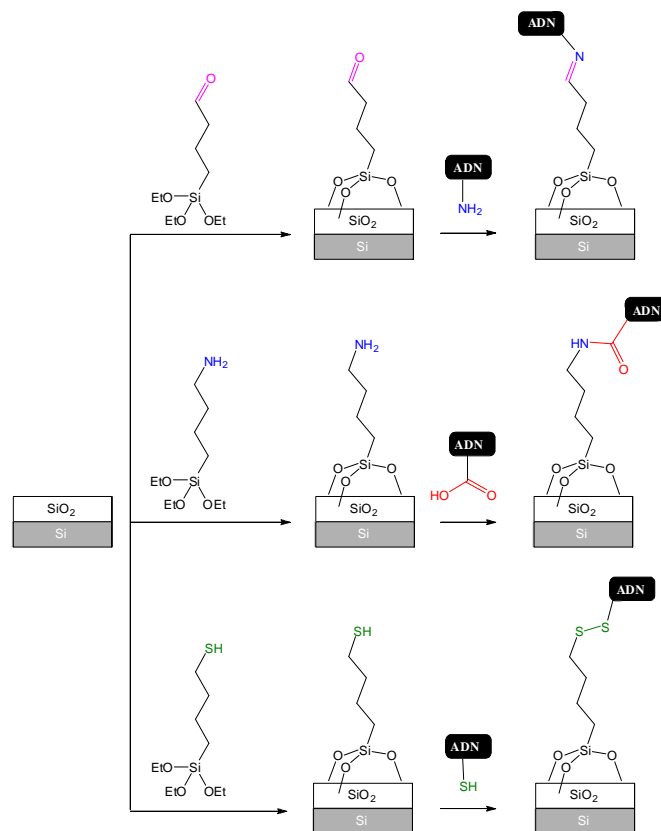


Figure IV.1-3 : Différents modes d'accroches d'une sonde biologique

En outre, il est possible grâce à ce procédé de fonctionnalisation de moduler l'espaceur entre la surface du nanofil et les brins d'oligonucléotides greffés (Figure IV.1-4). Cet espaceur joue en effet un rôle important dans la détection électrique de l'hybridation de l'ADN sur nanofils [253]. Pour cela, on peut soit jouer sur la longueur de la chaîne carbonée de l'organosilane utilisé, soit avoir pour intermédiaire un bras espaceur (linker) greffé sur le

brin d'ADN de composition chimique et longueur variable (dithiocyanate, maléimide, anhydride, ...) [251].

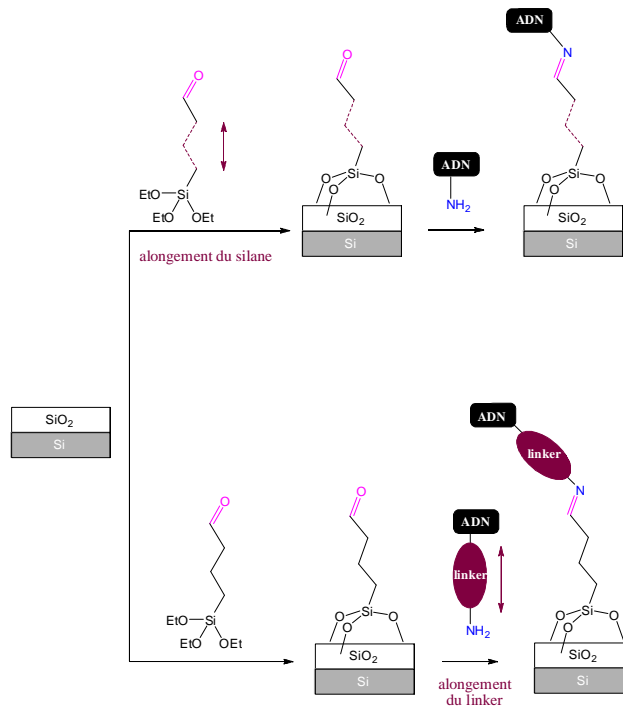


Figure IV.1-4 : Eloignement entre la surface du nanofil et le brin d'ADN greffé

## IV.1.2 SILANISATION CHIMIQUE

Cette partie permet d'identifier les deux organosilanes différents choisis pour fonctionnaliser nos dispositifs. Dans un premier temps, les différentes fonctionnalisations chimiques ont été mises au point sur des substrats modèles de silicium recouverts de 100 nm d'oxyde thermique.

### IV.1.2.1 CHIMIE APTES

Nous avons choisi de silaniser la surface de nos nanofils par l'alkoxysilane trifonctionnel 3-aminopropyltriéthoxysilane (Figure IV.1-5), possédant une fonction terminale amine capable de se protoner en fonction du pH.

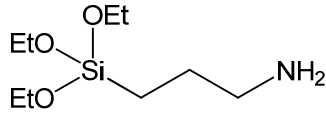


Figure IV.1-5 : 3-aminopropyltriéthoxysilane

Grâce à des études antérieures menées dans le laboratoire, un protocole de greffage à chaud de ce silane dans le toluène a été mis au point (Figure IV.1-6). Une première étape d'hydroxylation permet de générer des groupements silanols libres à la surface de l'oxyde. Cette étape d'hydroxylation consiste soit en un traitement plasma  $O_2$ , soit en une activation chimique par un traitement humide de type Piranha. Le substrat est ensuite placé pendant 17 heures à  $80^\circ C$  dans une solution organique de toluène à 5mM d'organosilane puis rincé sous ultrasons pendant 5 minutes successivement dans un bain d'acétone et d'éthanol. Un recuit post-réactionnel de 3 heures à  $110^\circ C$  permet à la réticulation de se faire correctement.

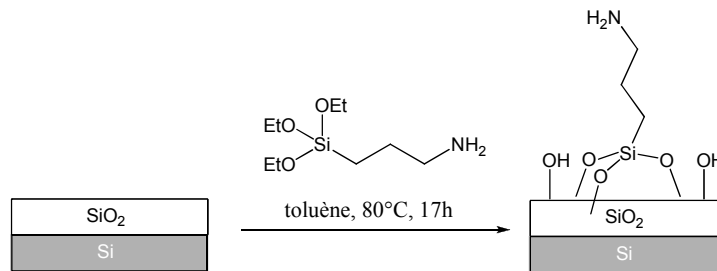


Figure IV.1-6 : Représentation schématique des différentes étapes de la silanisation chimique

#### IV.1.2.2 CHIMIE EHTES

Dans la famille des organosilanes, les époxydes sont des composés classiques qui ont été de nombreuses fois utilisés et qui permettent un greffage de molécules biologiques [254, 255]. Plus précisément, nous avons choisi de silaniser la surface de nos nanofils par l'organosilane 5,6-époxyhexyltriéthoxysilane (Figure IV.1-7). Le 5,6-époxyhexyltriéthoxysilane est lui aussi un alcoxysilane trifonctionnel mais possédant une fonction terminale époxyde. Ses principaux avantages sont une réactivité satisfaisante vis-à-vis des réactions d'hydrolyse et de condensation et une faible affinité et réactivité de l'extrémité époxyde vis-à-vis des groupements silanols, favorisant la fixation préférentielle de la molécule avec le groupement époxyde orienté selon la normale à la surface.

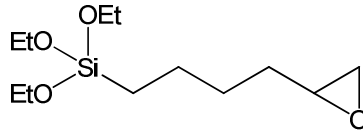


Figure IV.1-7 : 5,6-époxyhexyltriéthoxysilane

Un protocole de greffage à chaud de ce silane a été mis au point (Figure IV.1-8)[256, 257]. La première étape d'hydroxylation de la surface est identique à celle réalisée pour la chimie APTES. Le substrat est ensuite placé pendant 16 heures à 80°C dans une solution organique de toluène à 5mM d'organosilane, à laquelle est ajoutée un catalyseur, la triéthylamine [258]. Les étapes suivantes de rinçage et de recuit sont identiques à celles décrites pour la silanisation précédente. La fonction époxyde est alors ouverte en diol par l'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  5%) pendant 3 heures. A cette étape, les substrats peuvent être conservés plusieurs jours sous ambiance inerte avant de procéder au greffage des sondes.

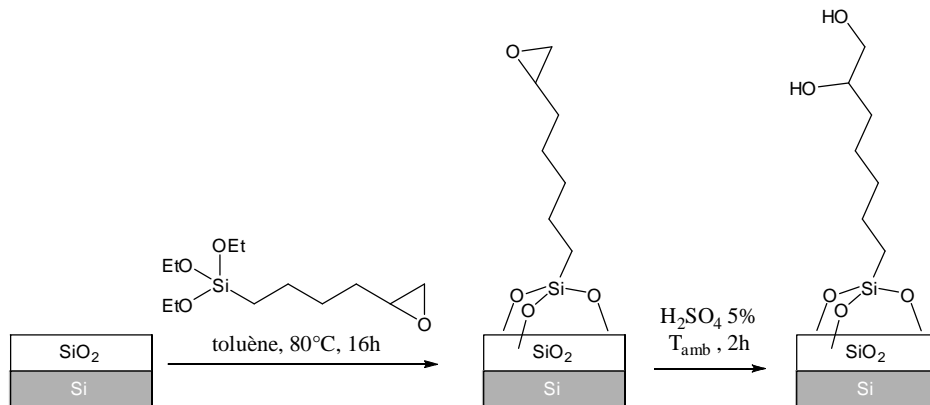


Figure IV.1-8 : Représentation schématique des différentes étapes de la silanisation chimique

### IV.1.3 CARACTERISATION DES SURFACES OBTENUES

Les substrats modèles ainsi fonctionnalisés ont été caractérisés par différentes méthodes :

- Mesure ellipsométrique
- Mesure de l'angle de contact
- Mesure par spectroscopie par rayons X
- Mesure par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
- Imagerie AFM

### IV.1.3.1 MESURE ELLIPSOMETRIQUE

La mesure ellipsométrique permet de connaître l'épaisseur de la couche d'organosilanes déposée qui est, quelque soit la fonctionnalisation réalisée, d'environ 50 Å dans les conditions décrites précédemment. Il s'agit donc d'une multicouche.

### IV.1.3.2 MESURE DE L'ANGLE DE CONTACT

Un suivi de l'angle de contact des surfaces après les différentes étapes de la silanisation a été effectué, les résultats sont présentés dans le Tableau IV.1-1. La technique de mesure de cet angle de contact est présentée en Annexe D.

	Après hydroxylation	Après recuit	Après hydrolyse
Chimie APTES	25	38	
Chimie EHTES	23	53	33

*Tableau IV.1-1 : Suivi de l'angle de contact (°)*

L'étape d'hydroxylation permet de créer un grand nombre de groupements silanols et engendre ainsi une surface hydrophile avec de faibles angles de contact avec l'eau. Après fonctionnalisation par chimie APTES et recuit, l'angle de contact augmente légèrement pour prendre une valeur caractéristique d'une surface aminée. Dans le cas de la chimie EHTES, l'angle de contact augmente plus fortement lors du greffage de la fonction époxyde, plus hydrophobe que l'amine, pour redescendre lors de l'ouverture de cet époxyde en diol.

### IV.1.3.3 MESURE PAR SPECTROSCOPIE PAR RAYONS X

La composition chimique des couches fonctionnalisées a été déterminée par spectroscopie par rayons X (XPS pour X-ray Photoelectron Spectroscopy), avec l'appareillage *Vacuum Generator Escalab 210 spectrometer*. Le faisceau de rayons X provient d'une source  $AlK_{\alpha}$  monochromatique (1486,6 eV). La résolution en énergie de l'appareil a été calibrée en utilisant  $Au4f_{7/2} = 84.00$  eV. Les Figure IV.1-9 et Figure IV.1-10 présentent les spectres XPS

mettant en évidence la présence des pics de Si (2p), C (1s), N (1s) et O (1s) relatifs à la formation d'une couche d'époxy silane à la surface de l'oxyde de silicium suite aux fonctionnalisations APTES et EHTES (après la dernière étape d'ouverture en diol), dont les proportions relatives sont résumées dans le Tableau IV.1-2.

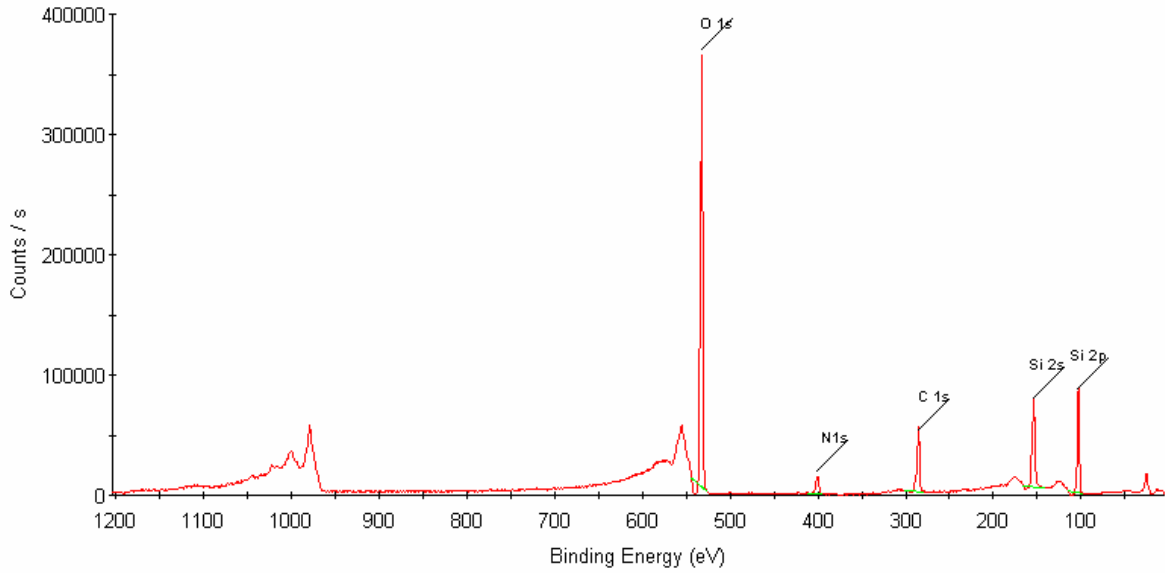


Figure IV.1-9 : Spectre XPS de la surface modèle suite à une chimie APTES

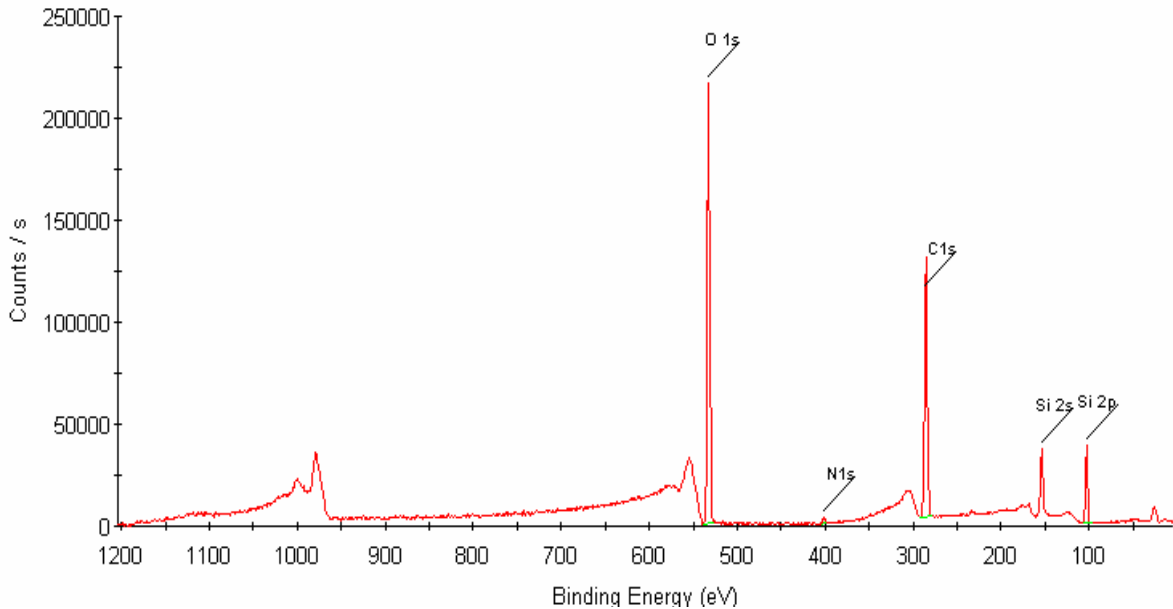


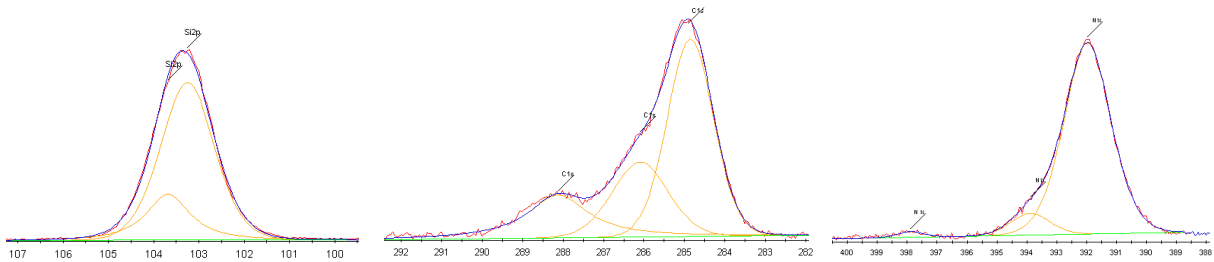
Figure IV.1-10 : Spectre XPS de la surface modèle suite à une chimie EHTES



Elément	Si (2p)	C (1s)	O (1s)	N (1s)
Chimie APTES	30.33	21.90	44.35	3.41
Chimie EHTES	11.33	56.73	31.91	0.02

**Tableau IV.1-2 : Proportions des différents éléments présents**

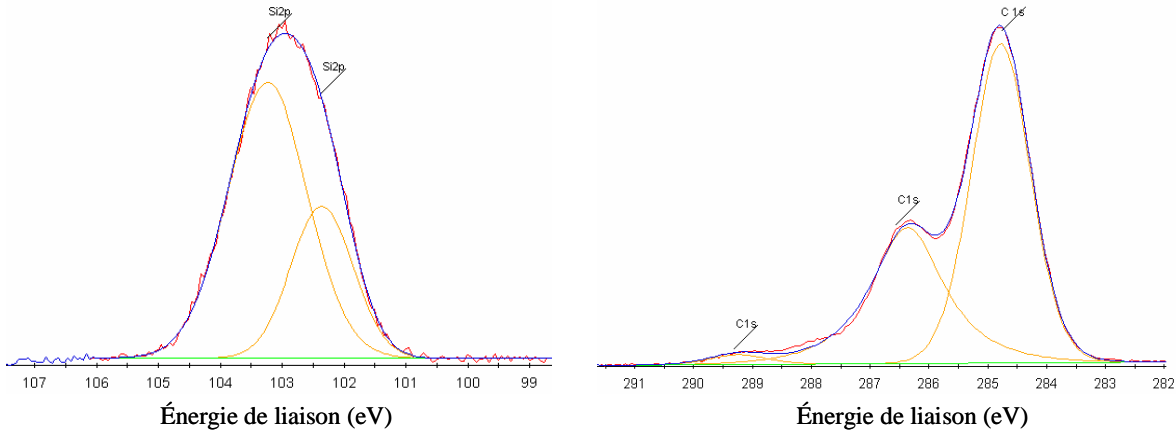
Après soustraction du bruit de fond, une déconvolution sous forme de 2 à 3 composantes est effectuée sur les spectres Si 2p, C 1s pour chacun des substrats et N 1s pour le substrat fonctionnalisé APTES. Les spectres sont présentés sur les Figure IV.1-11 à Figure IV.1-15.



**Figure IV.1-11 : Spectre XPS de la raie Si 2p (APTES)**

**Figure IV.1-12 : Spectre XPS de la raie C 1s (APTES)**

**Figure IV.1-13 : Spectre XPS de la raie N 1s (APTES)**



**Figure IV.1-14 : Spectre XPS de la raie Si 2p (EHTES)**

**Figure IV.1-15 : Spectre XPS de la raie C 1s (EHTES)**

Pour le silicium, deux états sont identifiés sur les spectres des Figure IV.1-11 et Figure IV.1-14 :

- La composante majoritaire  $\text{SiO}_3\text{C}$  correspondant au pic situé à une énergie de 103.2 eV et caractéristique de la signature de la liaison O-Si-C due à l'organosilane, l'oxygène étant lié aux atomes de Si et de la surface  $\text{SiO}_2$ .
- La composante  $\text{SiO}_2$  se traduit par pic situé à une énergie de 103.7 eV est relatif à l'oxyde de silicium du substrat.

Pour le carbone, les spectres des Figure IV.1-12 et Figure IV.1-15 mettent en évidence trois composantes :

- La principale composante, représentée par le pic situé à une énergie de 284.7 eV, est liée à la contamination carbonée (liaisons C-C) ainsi qu'aux chaînes carbonées  $\text{CH}_x$ , leurs contributions n'étant pas séparables.
- La deuxième composante correspond aux liaisons C-OH associées à des molécules résiduelles d'éthanol qui sont liées au pic situé à une énergie de 286.3 eV.
- La dernière composante est liée au groupement carboxylate COO (traces de contaminations organiques  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CO}_3$ ) et correspond au pic situé à une énergie de 289.2 eV.

Pour l'azote, le spectre de la Figure IV.1-13 met en évidence un pic principal situé à une énergie de 400 eV qui est lié à la présence de fonctions amines  $\text{NH}_2$  à la surface du substrat suite à la fonctionnalisation de la surface par la chimie APTES. Dans la cas de la chimie EHTES, la faible présence d'azote (0.02 %) correspond à une pollution atmosphérique.

Cette analyse XPS permet de confirmer la présence d'aminopropyltriéthoxysilanes sur la surface du substrat fonctionnalisé par la chimie APTES et d'époxy-silanes à la surface du substrat fonctionnalisé par la chimie EHTES.

#### IV.1.3.4 MESURE PAR SPECTROSCOPIE INFRAROUGE A TRANSFORMEE DE FOURIER

Les éléments obtenus après fonctionnalisation peuvent être caractérisés par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR). La technique de Réflexion Interne Multiple (MIR) décrite en Annexe E, est une configuration optique plus sensible que la transmission simple (limite de détection pour des liaisons  $\text{CH}_2$  :  $4 \times 10^{12}$  liaisons. $\text{cm}^{-2}$  pour une distance de propagation de 290 mm [259]). C'est pourquoi cette technique a été utilisée dans cette étude car la quantité d'espèces à détecter est faible. Pour ce type d'analyse, des substrats plans en silicium recouverts de 5 nm de silice thermique de taille 10 x 80  $\text{mm}^2$  et polis sur chaque face

sont utilisés. Le Tableau IV.1-3 résume les positions des bandes d'adsorption des liaisons chimiques caractéristiques suite à la fonctionnalisation.

Liaison chimique	Nombre d'onde (cm <sup>-1</sup> )
Si-OH <sub>II</sub> (Si-OH isolé)	3650
Si-OH <sub>I</sub> (Si-OH en interaction)	3450
H <sub>2</sub> O	3260
NH associé	3050
CH <sub>2</sub> <sub>as</sub>	2935
CH <sub>2</sub> <sub>ss</sub>	2870

Tableau IV.1-3 : Positions des bandes d'absorption des liaisons chimiques caractéristiques

Les Figure IV.1-16 et Figure IV.1-17 permettent de connaître les éléments présents sur les substrats suite respectivement à une chimie APTES et EHTES (après la dernière étape d'ouverture en diol).

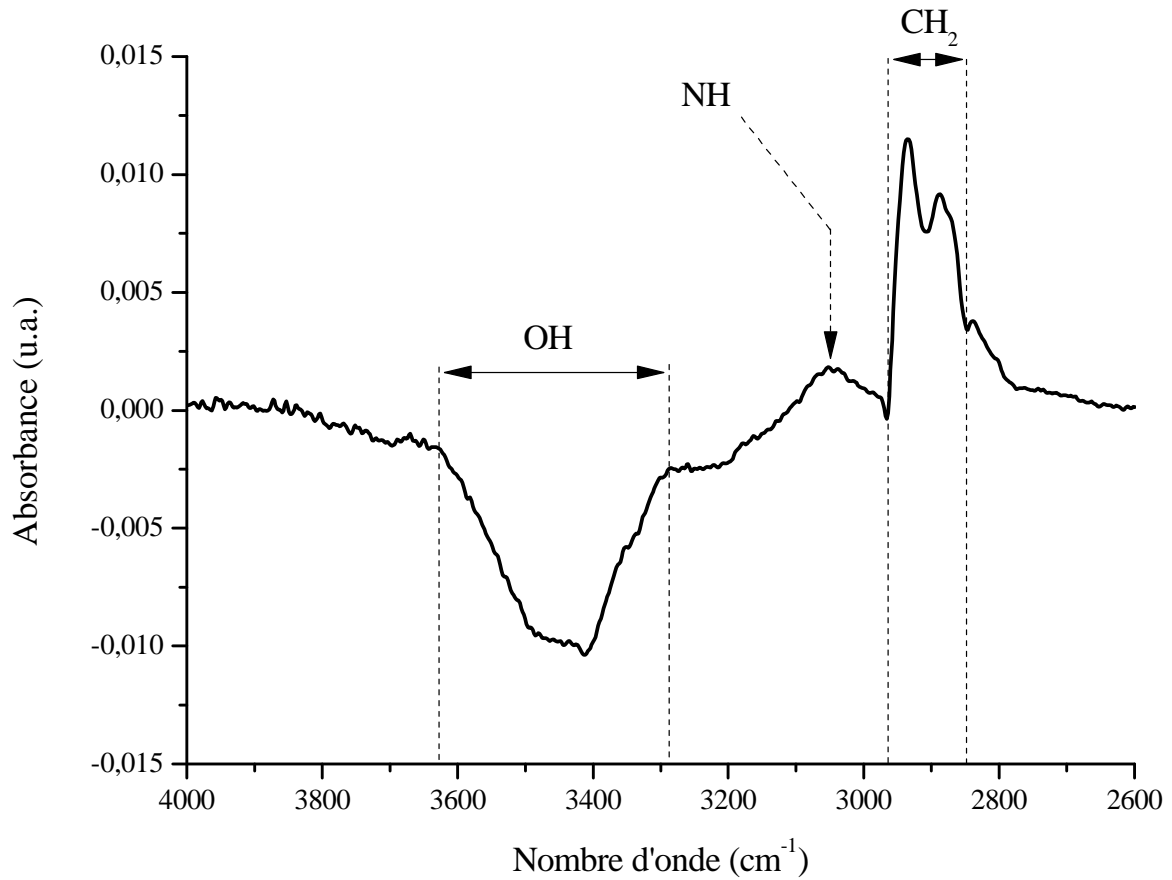
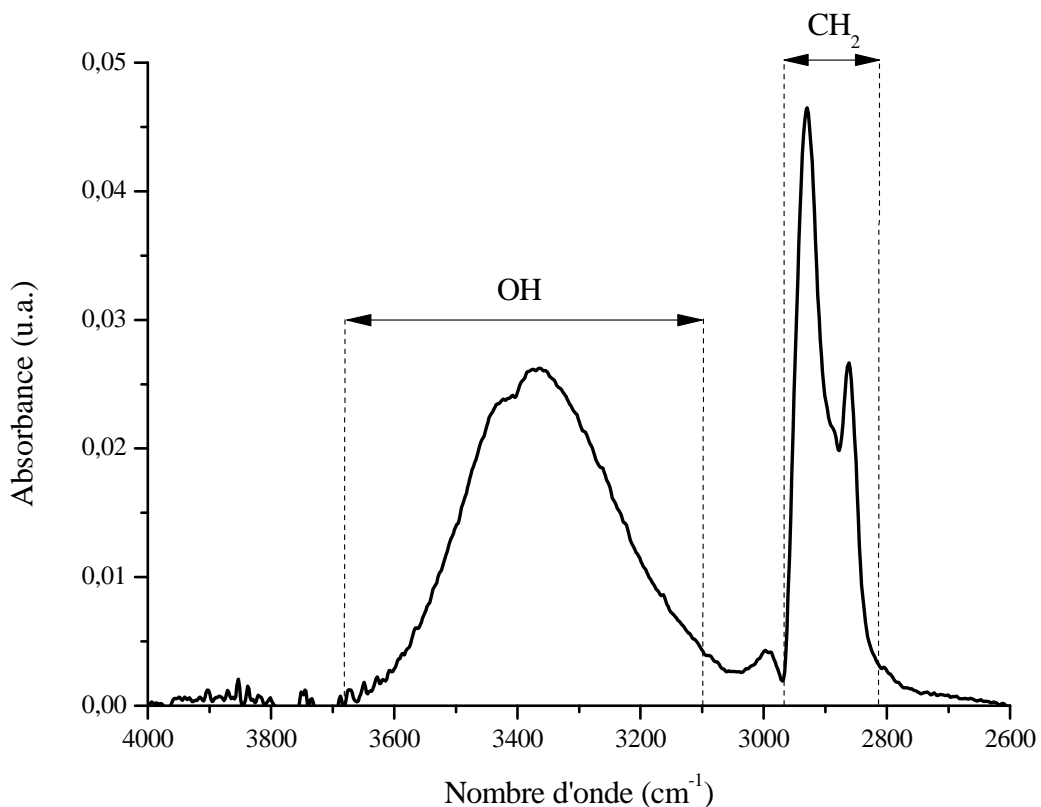


Figure IV.1-16 : Spectre MIR d'un substrat fonctionnalisé par chimie APTES

Le spectre de la Figure IV.1-16 fait apparaître les groupements  $\text{CH}_2$  ( $2870$  et  $2935 \text{ cm}^{-1}$ ) présents sur la chaîne carbonée suite à la silanisation. La bande obtenue à  $3050 \text{ cm}^{-1}$  correspond à la présence de groupements  $\text{NH}$  associés en position terminale de la chaîne carbonée. Les groupements  $\text{OH}$  apparaissent en négatif entre  $3300$  et  $3600 \text{ cm}^{-1}$  et sont composés à la fois de groupements  $\text{OH}$  isolés, de groupements  $\text{OH}$  associés et d' $\text{H}_2\text{O}$  qui indiquent la présence d'eau à la surface. Pour obtenir le signal souhaité, on soustrait au signal brut de l'échantillon fonctionnalisé le signal obtenu pour un substrat de référence. Dans notre cas, le substrat de référence choisi est un substrat témoin de silicium recouvert de  $5 \text{ nm}$  de silice thermique et ayant subi les mêmes lavages que les substrats fonctionnalisés (sonication successivement dans des bains d'acétone, éthanol et dichlorométhane, puis séchage sous argon). Ce substrat de référence contient ainsi plus de groupements  $\text{OH}$  que le substrat fonctionnalisé, où la plupart des groupements  $\text{OH}$  ont été remplacés par des chaînes carbonées, ce qui explique que ces pics apparaissent en négatif.



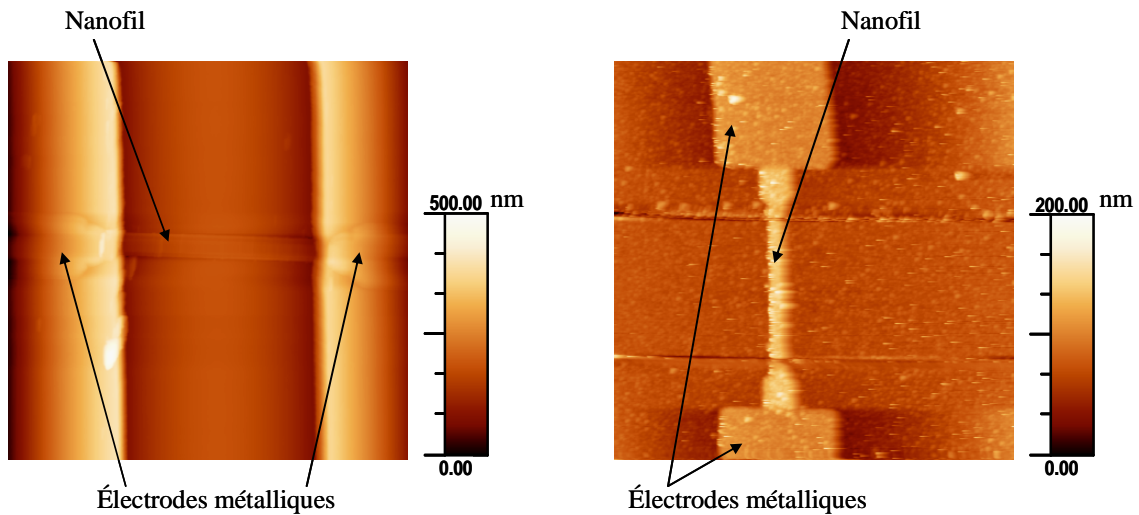
**Figure IV.1-17 : Spectre MIR d'une surface fonctionnalisée par chimie EHTES**

Sur le spectre de la Figure IV.1-17, les bandes relatives aux groupements  $\text{CH}_2$  de la chaîne carbonée apparaissent nettement à  $2870$  et  $2935 \text{ cm}^{-1}$ . La bande d'adsorption des  $\text{OH}$  est

localisée entre 3100 et 3600  $\text{cm}^{-1}$ . Elle correspond à la présence de groupements OH isolés et en association avec d'autres groupements OH, de molécules d'eau  $\text{H}_2\text{O}$  et probablement de groupements C-OH issus des molécules résiduelles d'éthanol (3300 – 3400  $\text{cm}^{-1}$ ), utilisé pour les lavages.

#### IV.1.3.5 IMAGERIE AFM

Des puces comportant des dispositifs à base de nanofils ont été fonctionnalisées par la chimie EHTES, et des images par microscopie à force atomique (AFM) ont été réalisées avant et après la silanisation (Figure IV.1-18).



*Figure IV.1-18 : Images AFM d'un dispositif comportant un nanofil avant (gauche, taille du scan :  $10 \times 10 \mu\text{m}^2$ ) et après (droite, taille du scan :  $20 \times 20 \mu\text{m}^2$ ) silanisation chimique*

Ces images permettent de distinguer le nanofil (Figure IV.1-18 : horizontal à gauche, vertical à droite), les électrodes métalliques qui permettent de reprendre le contact, ainsi que la cavité formée par le retrait de la grille sacrificielle suite à la passivation. A partir de ces caractérisations, des mesures de la rugosité de la surface sur le nanofil et à côté du nanofil avant et après la fonctionnalisation ont été effectuées. La taille du scan utilisé pour ces mesures est dans tous les cas de  $350 \times 350 \text{ nm}^2$  (Tableau IV.1-4).

	Avant silanisation	Après silanisation
Sur le nanofil	0.82 nm	6.16 nm
A côté du nanofil	0.99 nm	6.35 nm

*Tableau IV.1-4 : Rugosité de la surface avant et après silanisation EHTES*

Avant silanisation, la rugosité de la silice est d'environ 1 nm. La morphologie de surface est plus granuleuse suite à la silanisation, à la fois à côté du nanofil et sur le nanofil. Il a été montré que la morphologie granuleuse observée pour les films d'époxy-silane est typique des monocouches auto-assemblées ayant des groupements fonctionnels et est liée à leur agrégation latérale partielle au sein de la couche [260]. Cette morphologie peut aussi représenter la topographie associée à l'étape de coalescence d'îlots isolés [261].

#### **IV.1.4 GREFFAGE DES OLIGONUCLEOTIDES PRESYNTHETISES**

Pour une application de type BIOFET, le capteur est rendu sélectif par greffage d'une sonde biologique sur une surface de type EHTES. Après avoir choisi les séquences ADN du modèle biologique nous décrivons l'immobilisation des sondes et l'optimisation des conditions d'hybridation.

##### **IV.1.4.1 MODELE BIOLOGIQUE UTILISE**

Afin de détecter l'hybridation d'un simple brin d'ADN sur une surface, deux types de sondes peuvent être choisies : le simple brin d'ADN ou le simple brin d'ANP (pour Acide Nucléique Peptidique) complémentaire.

L'ANP est un analogue synthétique de l'ADN. La chaîne phosphodiester de l'ADN est remplacée par une chaîne pseudo-peptidique polyamidique sur laquelle sont attachées les nucléobases [262] (Figure IV.1-19).

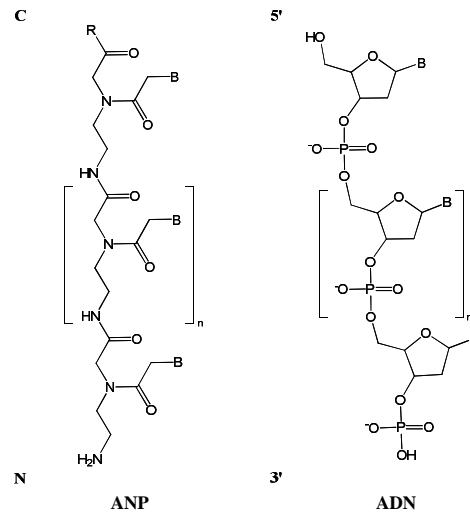


Figure IV.1-19 : Comparaison entre un squelette d'ANP et un squelette d'ADN

L'utilisation de brins sondes d'ANP [118, 166, 219, 220], dont le squelette ne contient pas de groupements phosphates chargés, au lieu de brins d'ADN, présente dans notre cas plusieurs avantages [263-265]:

- La liaison ANP/ADN est plus forte qu'une liaison ADN/ADN classique du fait de l'absence de répulsion électrostatique.
- L'hybridation ANP/ADN peut avoir lieu dans une solution à faible force ionique, ce qui permet de diminuer l'écrantage par les contre-ions de notre capteur et ainsi, d'augmenter la sensibilité.

Plusieurs modèles de sondes ANP ont été utilisés au cours de ce travail. Les différentes sondes, récapitulées dans le Tableau IV.1-5, portent une amine à leur extrémité 5' permettant la formation d'une liaison covalente avec le substrat. Les sondes ANP ont une taille de 15 mères. Afin de vérifier la spécificité de l'hybridation et de déterminer le bruit de fond biologique, des sondes de séquence non-complémentaire sont aussi utilisées. Elles comportent soit un unique mismatch central, soit une séquence totalement mismatchée.

Nom	Séquence
Sonde ANP complémentaire	5' – NH <sub>2</sub> – TAA CGA <b>ATC</b> GAA TGG – 3'
Sonde ANP avec MM central	5' – NH <sub>2</sub> – TAA CGA <b>ACC</b> GAA TGG – 3'
Sonde ANP non complémentaire	5' – NH <sub>2</sub> – TGG TTA CTT CTT CTA – 3'

Tableau IV.1-5 : Séquences des sondes oligonucléotides utilisées

Les différentes cibles utilisées sont décrites dans le Tableau IV.1-6. Pour les validations en fluorescence, la cible utilisée est la séquence d'ADN complémentaire de 21 mères de la sonde ANP-C marquée par un fluorophore Cy3, qui sera décrit au IV.1.4.3. Pour les expériences de détection électrique directe sur les EOSFET, différentes cibles d'ADN non marquées de 21 mères ont été utilisées : une cible totalement complémentaire à la sonde ANP-C, et une cible totalement non-complémentaire.

Nom	Séquence
Cible Cy3 complémentaire	5' – Cy3 – TTT CCA TTC GAT TCG TTA AAT – 3'
Cible complémentaire	5' – TTT CCA TTC GAT TCG TTA AAT – 3'
Cible non complémentaire	5' – TAG TAG AAG AGG TAA CCA CCA – 3'

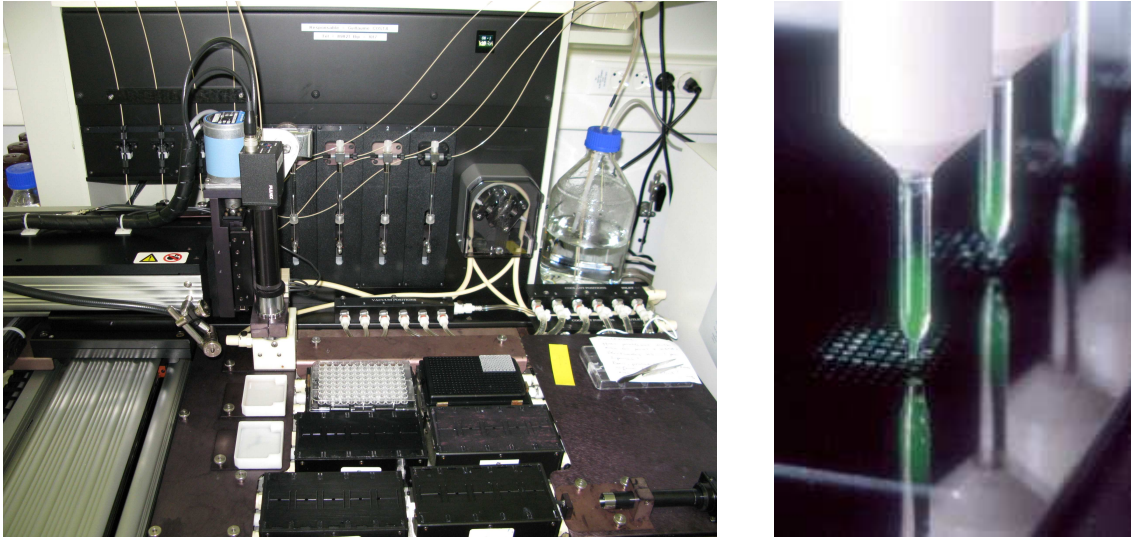
Tableau IV.1-6 : Séquences des cibles oligonucléotides utilisées

#### IV.1.4.2 IMMOBILISATION DES SONDÉS

Il est possible de localiser la zone de greffage des sondes en utilisant un robot de dispense de gouttes, ce qui permet de distinguer la zone d'intérêt (le nanofil) de la zone de silice environnante, les deux matériaux étant identiques.

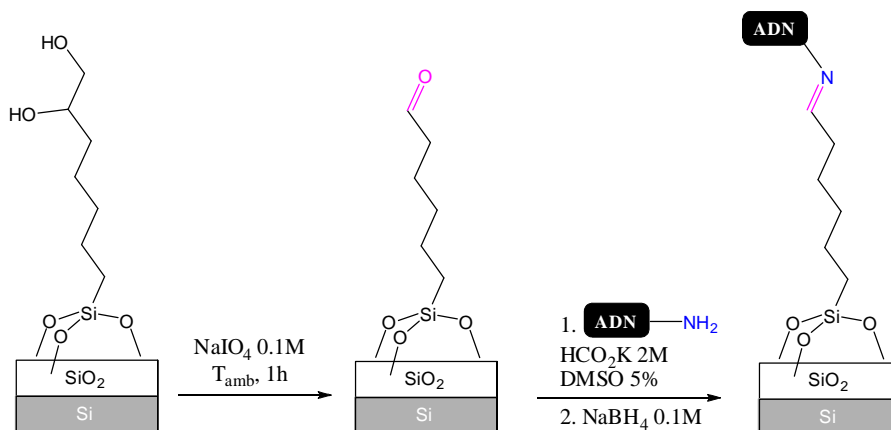
Nous avons utilisé un modèle de type *Packard BioChip Arrayer* (Figure IV.1-20) installé en salle blanche sous atmosphère contrôlée (température, humidité) ce qui permet d'obtenir une bonne qualité de dépôt en maîtrisant l'évaporation des gouttes. Le robot est muni de quatre têtes piézoélectriques, qui prélèvent quelques microlitres des produits d'une plaque à puits et en déposent une goutte de 350 pL sans entrer en contact avec la surface. Les gouttes quittent la tête piézo avec une énergie cinétique inférieure à l'énergie de surface du substrat (de sorte que la goutte reste entière en entrant en contact avec la surface). Le diamètre moyen des spots ainsi créés est de 200 µm.





*Figure IV.1-20 : Robot de dépôt Packard BCA1 et têtes piézoélectriques*

L'oxydation des fonctions diols obtenues par la silanisation chimique EHTES par une solution de périodate de sodium ( $\text{NaIO}_4$ , 0.1M) génère des fonctions aldéhydes, fortement réactives vis-à-vis de la fonction amine des sondes oligonucléotides (Figure IV.1-21). Une fois le dépôt des sondes achevé, les lames sont incubées une nuit à température ambiante afin de permettre le greffage covalent des sondes à la surface. Afin de stabiliser la liaison imine ainsi formée et d'éliminer le surplus de sondes n'ayant pas réagi avec la surface, la lame est plongée dans une solution contenant du borohydrure de sodium ( $\text{NaBH}_4$ ) à 0.1 M pendant 1 heure à température ambiante. Une liaison C-N stable est obtenue. Une étape de rinçage complète l'élimination des sondes non liées aux supports. Pour cela, les lames sont lavées 5 minutes successivement dans de l'eau ultra-pure, dans du dodécylsulfate de sodium (SDS) 0.2 % et enfin dans de l'eau ultra-pure à température ambiante. Ce traitement permet aussi de désactiver la surface et de bloquer les sites d'hybridation non spécifiques, en réduisant les fonctions aldéhydes résiduelles en alcools.



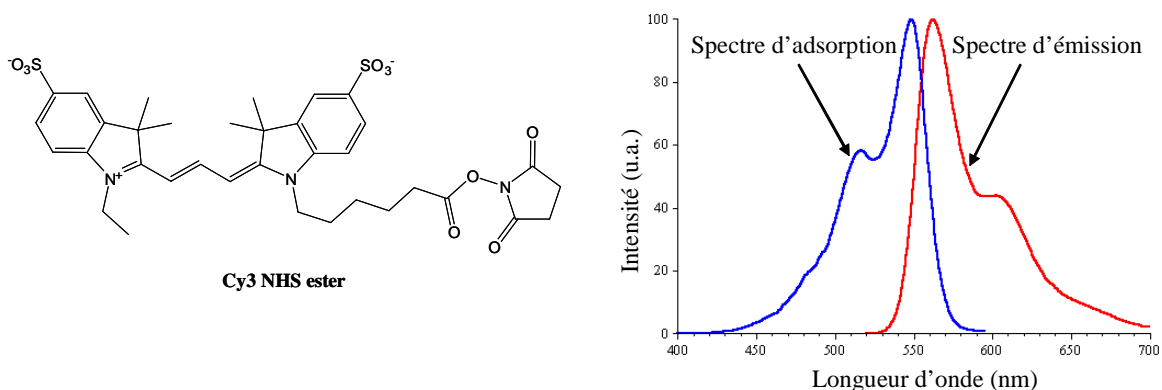
**Figure IV.1-21:** Représentation schématique de l'immobilisation pour le greffage covalent des sondes oligonucléotides modifiées  $NH_2$  sur la surface fonctionnalisée EHTES

#### IV.1.4.3 HYBRIDATION DE LA CIBLE ET DETECTION EN FLUORESCENCE

L'optimisation du protocole biologique et du traitement des données est réalisée sur des substrats modèles en silicium recouverts de 100 nm de  $SiO_2$  thermique avec une détection en fluorescence des cibles marquées par un fluorophore Cy3.

Le matériau silicium a été choisi pour être au plus proche des conditions finales d'hybridation sur nanofils de silicium.

Le fluorophore indodicarbocyanine, ou Cy3 (Figure IV.1-22), est une petite molécule fluorescente couramment utilisée pour le marquage des molécules biologiques comme les protéines et les brins d'ADN.



**Figure IV.1-22 :** Fluorophore Cy3 modifié NHS-Ester et spectres d'absorption et d'émission en milieu liquide

Les principales propriétés de ce fluorophore sont une bonne solubilité aqueuse, une relative insensibilité aux changements de pH dans une gamme comprise entre 3 et 10, et une bonne photostabilité. Les maxima d'absorption et d'émission sont localisés respectivement à 520 nm et 565 nm. Le Cy3 est ainsi excité par un laser vert de longueur d'onde 543.5 nm. La fluorescence est observée à travers un filtre interférentiel centré sur 560 nm.

L'épaisseur de silice a quant à elle été choisie afin de se placer dans des conditions optimums de fluorescence. Il a en effet été montré expérimentalement et théoriquement que l'intensité de fluorescence pour un fluorophore Cy3 dépend de l'épaisseur de silice présente sur le substrat utilisé [266, 267] : elle présente un maximum d'intensité pour un substrat recouvert de 100 nm d'oxyde (Figure IV.1-23).

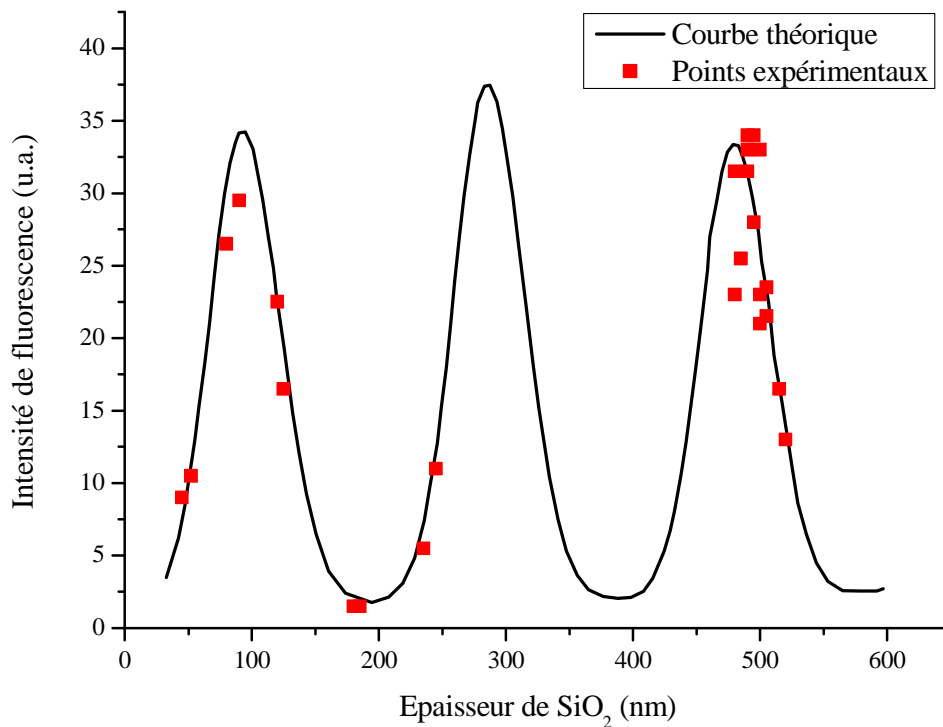
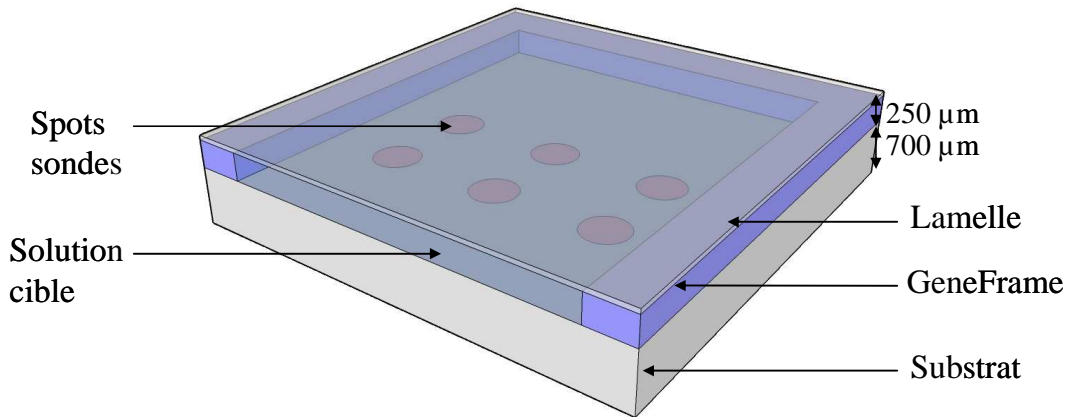


Figure IV.1-23 : Evolution de l'intensité d'émission de fluorescence en fonction de l'épaisseur d'oxyde

L'hybridation est réalisée avec la cible d'ADN 21 mères marquée avec un fluorophore Cy3. La solution de cibles est diluée dans un tampon d'hybridation et déposée manuellement sur les lames dans un patch d'hybridation (*GeneFrame*®, *ABGene*). Ce dispositif, représenté sur la Figure IV.1-24, permet de créer une enceinte de 250  $\mu\text{m}$  d'épaisseur entre le support et la lamelle et de limiter les volumes de solution de cibles à quelques  $\mu\text{L}$ . La veine liquide ainsi

formée est exactement du même type que celle qui se trouve sur le capteur, et qui est décrite au chapitre 3.



**Figure IV.1-24 : Représentation schématique d'un montage de GeneFrame sur support solide**

L'ensemble est incubé pendant une heure à une température contrôlée, dans le noir, afin d'éviter la dégradation du fluorophore. Après l'hybridation et les lavages adéquats, le signal de fluorescence mesuré indique le niveau d'hybridation de la puce. L'acquisition des images est réalisée sur le scanner *TECAN LS200*. Les lames sont observées à une longueur d'onde de 543.5 nm (laser vert) avec un paramètre de résolution de 6 µm. Le gain G du photomultiplicateur est ajusté manuellement ainsi que le contraste B.

Les images obtenues sont enregistrées au format TIFF 16 bits en 65535 niveaux de gris. La gamme d'intensité détectée est donc comprise entre 0 (noir) et 65535 (blanc). La puissance de l'excitation du laser doit être réglée manuellement de manière à ce que le signal sur les spots soit détecté (signal > bruit de fond) mais ne sature pas.

Les images sont traitées avec un logiciel dédié, le *GenePix Pro® 6.0* (Axon instruments, USA) qui permet d'identifier chaque spot automatiquement, d'en délimiter la surface, et de quantifier le signal de fluorescence.

L'analyse des données enregistrées permet de mettre en évidence des paramètres de comparaison inter et intra-lames. Le logiciel d'analyse fournit les valeurs moyennes et médianes, ainsi que les écart-types associés, des signaux des différents spots hybridés (s). La valeur de fluorescence déterminée en dehors des spots correspond au bruit de fond de la puce (bf) et est inhérent à chaque substrat.

Pour l’acquisition finale des signaux associés aux différents spots, le paramètre d’analyse qui a été retenu est la valeur médiane car il permet une estimation plus robuste du signal pour des distributions anormales de pixels.

Le signal propre à l’hybridation est l’intensité de fluorescence  $I_{spot}$  obtenue par soustraction au signal mesuré du bruit de fond de la puce :

$$I_{spot} = \text{signal spot hybridé} - \text{bruit de fond} = s - bf \quad (IV-1)$$

Le rapport signal sur bruit de fond est calculé en divisant l’intensité de fluorescence par le signal du bruit de fond :

$$R = \frac{I_{spot}}{bf} = \frac{s - bf}{bf} \quad (IV-2)$$

En général on calcule R en prenant la médiane des rapports signal sur bruit pour tous les spots de la puce qui sont identiques. Cela permet de minimiser l’influence des points d’artéfacts sur le spot.

Le protocole opératoire précédemment décrit a été utilisé pour déterminer le tampon d’immobilisation des sondes ainsi que la température d’hybridation optimaux.

#### IV.1.4.4 INFLUENCE DU TAMPON D’IMMOBILISATION

Les différentes sondes précédemment citées (IV.1.4.1) ont été immobilisées à 10  $\mu\text{M}$  dans les solutions de dépôt décrites dans le Tableau IV.1-7. Celui-ci montre de plus une photo optique des gouttelettes spottées sur un substrat modèle après une nuit d’incubation ; ainsi que l’image de fluorescence obtenue après hybridation avec 10 nM de cibles complémentaires dans un tampon Tris 1M (tampon standard d’hybridation) à température ambiante.



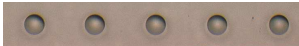

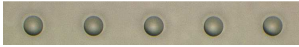

Nom	Composition	Photo optique	Résultat fluorescence
Tampon acétate	$\text{NaCH}_3\text{COO}$ à 0.1M		
Tampon phosphate	$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ à 0.3 M + 10 % glycérol		
Tampon formate	$\text{HCOOK}$ à 2M		

Tableau IV.1-7 : Différents tampons d’immobilisation utilisés

Le tampon acétate, du fait de sa faible salinité, provoque une évaporation importante des gouttes déposées, comme on peut le voir sur la photo optique réalisée après une nuit d'incubation. Cela a pour effet de concentrer les sondes immobilisées sur une petite surface de la goutte initialement déposée. Suite à l'hybridation avec la cible complémentaire, on remarque ainsi une forte inhomogénéité des spots avec un point saturé blanc, et une surface importante peu fluorescente.

La qualité de ce spotting peut être améliorée par l'ajout d'additif dans les solutions d'immobilisation [268, 269]. Nous avons donc dans un deuxième temps testé un tampon basé sur une solution phosphate à laquelle est ajouté un certain pourcentage de glycérol. L'ajout d'un tel agent permet d'accroître la viscosité de la solution et de réduire la vitesse d'évaporation. Ce tampon permet d'augmenter l'homogénéité des spots mais tend à faire baisser les niveaux d'intensité de fluorescence.

Un troisième tampon a été mis au point, qui permet à la fois d'améliorer l'homogénéité des spots et de conserver les niveaux d'intensité. Il s'agit d'une solution de formate de potassium à 2 M. Un faible ajout de DMSO (diméthylsulfoxyde) à cette solution permet de plus d'augmenter la solubilité des sondes dans la solution. Le tampon d'immobilisation utilisé dans la suite de cette étude est donc composé de formate de potassium à 2 M avec un ajout de 5 % de DMSO.

#### **IV.1.4.5 INFLUENCE DE LA TEMPERATURE D'HYBRIDATION**

L'influence de la température d'hybridation des cibles a été testée avec des séquences cibles d'ADN à 1 et 10 nM à trois températures différentes dans un tampon d'hybridation Tris 1M. L'un des supports a été maintenu à température ambiante (20°C) ; tandis que les deux autres ont été placés en étuve, l'un à 37°C et l'autre à 50°C. Les résultats des rapports signal sur bruit obtenus sont présentés sur la Figure IV.1-25.

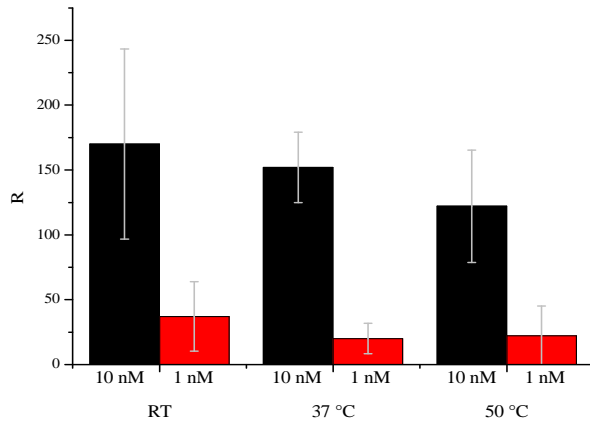


Figure IV.1-25 : Influence de la température d'hybridation

Température	R(PNA-C) / R(PNA-TM)
RT	1.6
37°C	2.8
50°C	17.4

Tableau IV.1-8 : Influence de la température d'hybridation sur la détection d'un mismatch

La température n'a pas d'influence prépondérante sur l'efficacité d'hybridation entre la sonde ANP complémentaire immobilisée et la cible d'ADN. Cependant on peut constater que l'augmentation de la température permet de discriminer plus facilement les sondes ANP comportant un mismatch central : le rapport obtenu entre la sonde ANP totalement complémentaire et celle présentant un mismatch central est donné dans le Tableau IV.1-8 et augmente d'un facteur 10 quand on passe d'une hybridation à température ambiante à une hybridation à 50°C. La température de fusion  $T_m$  (pour melting temperature) de l'ADN est la température pour laquelle la moitié des molécules d'ADN sont sous forme de simple brin. Cette température dépend de la séquence du brin d'ADN, de sa longueur, mais aussi de la force ionique du tampon d'hybridation. Plus la température d'hybridation sera élevée, plus elle permettra la déstabilisation des duplexes imparfaits, augmentant ainsi le rapport du signal de fluorescence obtenu entre la sonde ANP totalement complémentaire et celle présentant un mismatch central, comme nous l'avons constaté expérimentalement. Cela est valable jusqu'à une certaine limite en température au-delà de laquelle les brins vont commencer à se dénaturer.

## IV.2 DETECTION ELECTRIQUE

Cette partie présente les résultats de détection chimique et biologique obtenus sur des dispositifs fonctionnalisés par les chimies décrites précédemment. Le principe de détection d'un changement de pH de la solution testée ainsi que de molécules d'ADN est expliqué.

Plusieurs paramètres extrêmement importants pour obtenir une détection électrique satisfaisante sont ensuite mis en évidence.

## IV.2.1 PRINCIPE

### IV.2.1.1 DETECTION D'UN CHANGEMENT DE PH

Le premier modèle expliquant le mode de fonctionnement d'un EOSFET en tant que capteur pH a été décrit par Bousse en 1982 [230]. En 1995 [126], Bergveld propose une théorie unifiée permettant de décrire la sensibilité d'un EOSFET en fonction du pH. Cette théorie combine un modèle décrivant la double-couche à l'interface isolant/électrolyte (qui a été expliquée au III.1.3) à un modèle décrivant le mécanisme de charge de la surface du canal de conduction du transistor. Le modèle de mécanisme de charge de la surface sera tout d'abord décrit dans le cas où un oxyde de silicium est présent à la surface du canal de conduction [270]. Le mécanisme de charge de l'oxyde est alors décrit grâce aux réactions de surface présentées sur la Figure IV.2-1.

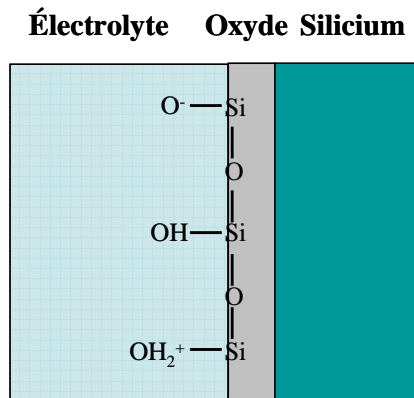


Figure IV.2-1 : Mécanisme de charge de l'oxyde de silicium

Plusieurs postulats sont faits afin de pouvoir décrire cette théorie :

- Les réactions de surface ont lieu à des sites spécifiques.
- Les réactions de surface peuvent être décrites par des équations d'actions de masse.
- La charge de surface résulte de ces interactions de surface.

L'équilibre entre les sites de surface SiOH et les ions  $H^+$  présents dans le volume de la solution est réalisé grâce aux réactions à la surface de l'oxyde suivantes :





dont les constantes d'acidité et de basicité sont :

$$K_a = \frac{v_{SiO^-} a_{H_S^+}}{v_{SiOH}} \quad \text{et} \quad K_b = \frac{v_{SiOH} a_{H_S^+}}{v_{SiOH_2^+}} \quad (IV-5)$$

$$(IV-6)$$

$K_a$  et  $K_b$  sont des constantes sans dimensions,  $v_i$  est le nombre de sites de l'espèce  $i$  par unité de surface, et  $a_{H_S^+}$  est l'activité de  $H^+$  à la surface de l'isolant, qui peut être reliée à l'activité de  $H^+$  dans le volume de la solution,  $a_{H_B^+}$ , par l'équation de Nernst :

$$a_{H_S^+} = a_{H_B^+} \exp(-q\phi_0/kT) \quad (IV-7)$$

où  $q$  est la charge élémentaire,  $k$  est la constante de Boltzmann et  $T$  est la température absolue.

La densité surfacique de charge,  $\sigma_0$ , est donnée par la relation :

$$\sigma_0 = q(v_{SiOH_2^+} - v_{SiO^-}) \quad (IV-8)$$

Posons

$$\Theta^+ = \frac{v_{SiOH_2^+}}{N_S} \quad \text{et} \quad \Theta^- = \frac{v_{SiO^-}}{N_S} \quad (IV-9)$$

$$(IV-10)$$

avec  $N_S = v_{SiO^-} + v_{SiOH} + v_{SiOH_2^+}$  représentant le nombre total de sites par unité de surface.

On obtient alors, en substituant (IV-9) et (IV-10) dans (IV-8) :

$$\sigma_0 = qN_S(\Theta^+ - \Theta^-) \quad (IV-11)$$

Les fractions  $\Theta^+$  et  $\Theta^-$  peuvent être calculées à partir des constantes des réactions, et sont substituées dans (IV-11) pour donner :

$$\sigma_0 = qN_S \left( \frac{a_{H_S^+}^2 - K_a K_b}{K_a K_b + K_b a_{H_S^+} + a_{H_S^+}^2} \right) \quad (IV-12)$$

Dans le cas d'un oxyde de silicium, les valeurs des différents paramètres sont résumées dans le Tableau IV.2-1 [124, 125].

	pK <sub>a</sub>	pK <sub>b</sub>	N <sub>s</sub> (m <sup>-2</sup> )
SiO <sub>2</sub>	6	2	5x10 <sup>18</sup>

Tableau IV.2-1 : Paramètres pour une surface SiO<sub>2</sub>

Les équations ( IV-7 ) et ( IV-12 ), combinées à l'équation reliant le potentiel de surface  $\psi_0$  à la densité surfacique de charge  $\sigma_0$  obtenue grâce au modèle de double couche, permettent d'obtenir le potentiel  $\psi_0$  en fonction du pH de la solution  $pH_B = -\log_{10}(a_{H^+})$ . Nous l'avons vu au chapitre précédent, différentes théories permettent de décrire le modèle de double couche à l'interface entre un matériau et un électrolyte. La théorie la plus complète est celle de Gouy-Chapman-Stern qui suppose que la double couche peut être décomposée en une couche compacte à la surface du matériau et une couche diffuse qui s'étend dans l'électrolyte. Le point bloquant de cette théorie est la valeur de la capacité de la couche compacte dont on ne peut donner qu'une valeur arbitraire. C'est pourquoi nous avons décidé de décrire dans cette partie la double couche à l'interface électrolyte – isolant grâce à la théorie de Gouy-Chapman, qui permet de relier le potentiel de surface à la densité surfacique de charge (dans le cas d'un électrolyte binaire  $z - z$ ) grâce à l'équation [229] :

$$\sigma_0 = (8kT\varepsilon\varepsilon_0n^0)^{1/2} \sinh\left(\frac{zq\psi_0}{2kT}\right) \quad (IV-13)$$

où  $\varepsilon_0$  est la permittivité du vide,  $\varepsilon$  est la permittivité relative de l'électrolyte,  $n^0$  est la concentration en ion dans la solution, et  $z$  est le nombre de charge de chaque ion.

Dans le cas d'un canal de conduction recouvert d'un oxyde de silicium, plongé dans une solution à pH donnée et dont le nombre de charge de chaque ion est égal à 1 (électrolyte de type NaCl par exemple), la Figure IV.2-2 montre l'évolution du potentiel de surface  $\psi_0$  en fonction du pH de la solution, pour différentes concentrations d'électrolyte.

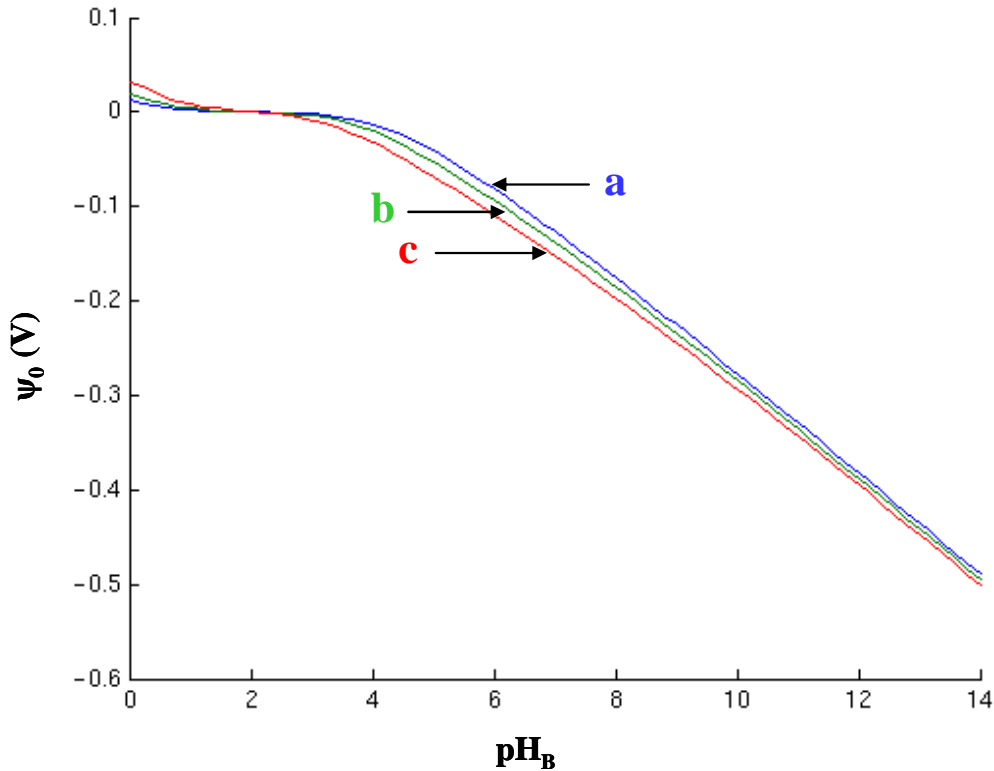


Figure IV.2-2 : Evolution du potentiel de surface en fonction du pH de la solution pour une concentration d'électrolyte égale à : (a) 0.1 M, (b) 0.01 M, (c) 0.001 M.

On peut déduire de cette étude que, lorsque le pH augmente, le potentiel de surface  $\psi_0$  diminue avec des valeurs négatives. D'après l'équation ( III-13 ), on peut en déduire que la tension de seuil du dispositif  $V_{T-EOS}$  augmente lorsque le pH augmente. Ainsi, quelque soit le régime de fonctionnement dans lequel on se place, on sait grâce aux équations ( III-4 ), ( III-5 ) et ( III-6 ) que le courant de drain mesuré diminue lorsque le pH augmente.

La Figure IV.2-2 nous montre aussi que le potentiel de surface est quasiment constant pour un pH compris entre 0 et 4. Il n'est donc pas possible de discriminer des pH acides grâce à un EOSFET recouvert d'oxyde de silicium. C'est pour cela que la surface est fonctionnalisée, en particulier avec des fonctions amines  $NH_2$ . Les réactions permettant de décrire le mécanisme de charge de la surface de l'EOSFET sont alors :



La réaction de protonation des sites SiOH a une constante de basicité telle que  $pK_b = -2$ , elle n'a donc pas lieu dans des solutions à des pH classiquement utilisés. Au contraire, il est connu que le  $pK_b$  des amines en solution est de l'ordre de 9. Cependant des valeurs très différentes

ont été avancées pour des  $pK_b$  d'amines sur surface, certains groupes avançant une valeur de 4 [162, 271], d'autres une valeur de 9 identique au  $pK_b$  des amines en solution [223]. Dans tous les cas, cette réaction a lieu dans des solutions à des pH classiquement utilisés, ce qui permet d'obtenir sur la surface à la fois des groupements qui se protonent et qui se déprotonent et ainsi d'augmenter la plage de sensibilité des EOSFET au pH.

#### IV.2.1.2 DETECTION D'UNE REACTION D'HYBRIDATION ANP-ADN

Le premier EOSFET permettant de détecter de l'ADN a été fabriqué par Souteyrand en 1997 [117]. Le principe consiste à immobiliser des sondes étant des simples brins d'ADN (ou d'ANP pour obtenir une meilleure sensibilité) à la surface du canal de l'EOSFET. L'hybridation avec un simple brin d'ADN cible complémentaire permet d'apporter près de la surface du canal autant de charges négatives que de paires de bases dans le brin d'ADN. Ces charges négatives vont provoquer un changement du courant de drain de l'EOSFET, le sens de la variation dépendant du type de l'EOSFET utilisé (Figure IV.2-3). Dans notre cas, l'apport de charges négatives à la surface d'un transistor de type n-MOS provoque la diminution du potentiel  $\psi_0$  à l'interface électrolyte – isolant, et donc une diminution du courant de drain mesuré d'après les équations développées au chapitre 3.

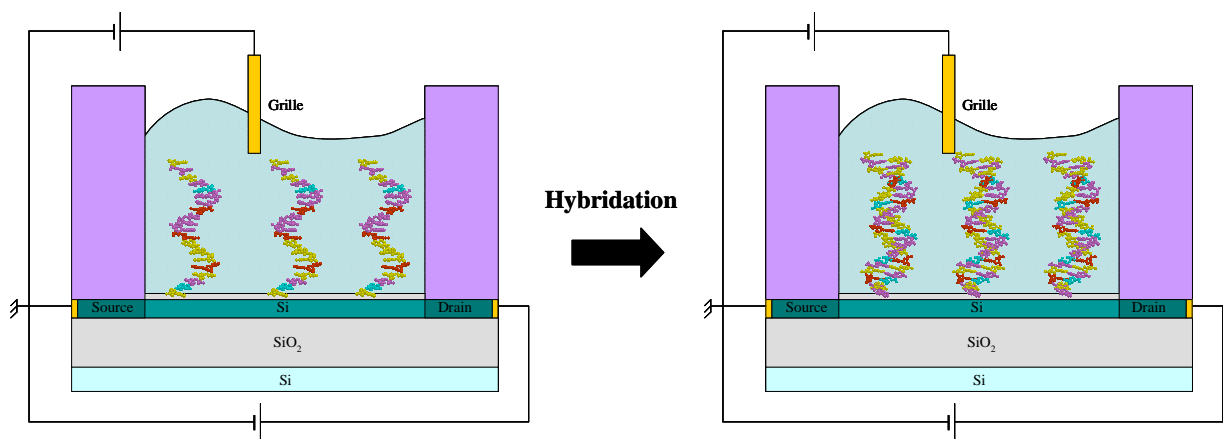


Figure IV.2-3 : Principe de fonctionnement d'un GenFET

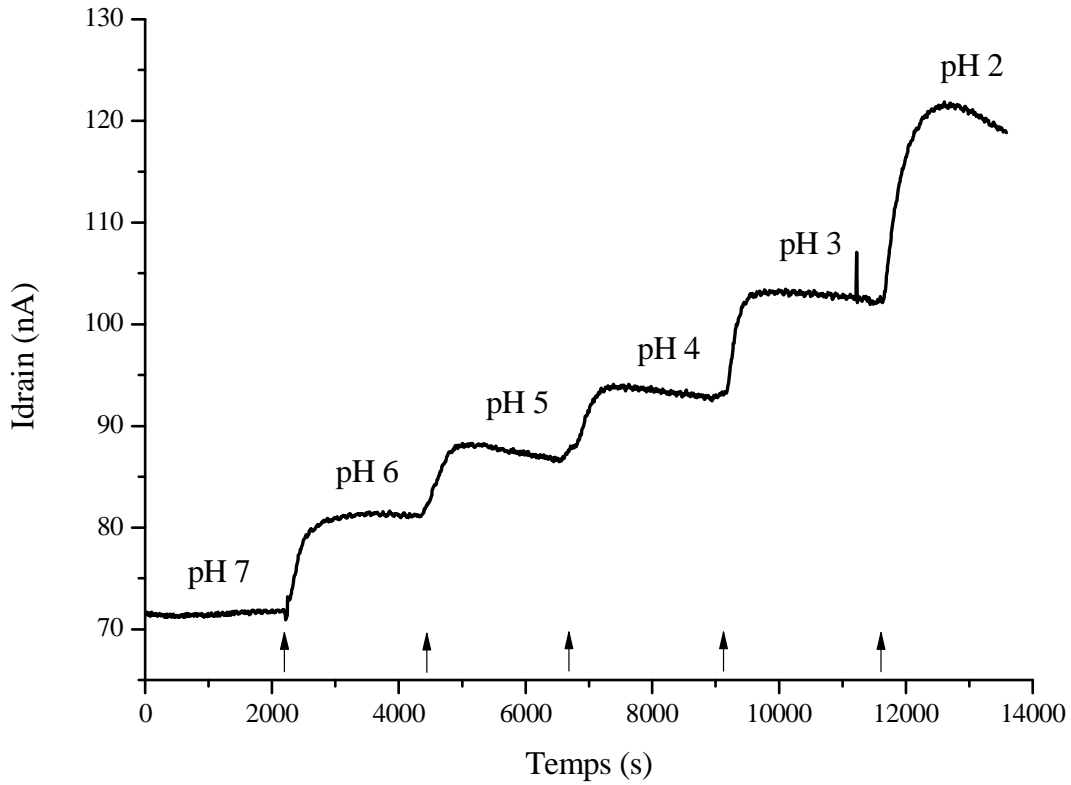
## IV.2.2 IMPORTANCE DE LA STABILITE

### IV.2.2.1 PREUVE DE PRINCIPE

Une preuve de principe du fonctionnement d'un EOSFET en tant que capteur pH a été apportée grâce aux dispositifs fabriqués par le premier mode de fabrication, à savoir le mode puce à puce. Les solutions de pH testées sont réalisées grâce à du phosphate de sodium monobasique ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) et dibasique ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) dissous dans de l'eau déionisée. Les ions phosphate sont utilisés comme solutions tampons car ils possèdent trois états de protonation différents ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ) dont les constantes d'acidité ( $\text{pK}_a$  de 2, 7 et 12 respectivement) correspondent aux échelles souhaitées. Les forces ioniques de chacune des solutions de pH testées sont égalisées à 10 mM afin de ne pas avoir d'influence due à la salinité de la solution sur le courant de drain mesuré. Les paramètres de la mesure sont résumés dans le Tableau IV.2-2.

Paramètres	Valeurs
Chaîne de mesure	Lock-in
$V_G$	Face avant
$V_D$ – amplitude	1 V
$V_D$ – fréquence	17 Hz
Gain	$10^5$
Solutions	pH 7 – pH 6 – pH 5 – pH 4 – pH 3 – pH 2
Débit	$2 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$

*Tableau IV.2-2 : Paramètre de la mesure de l'influence du pH*



*Figure IV.2-4 : Preuve de principe d'un EOSFET en tant que capteur pH (les flèches correspondent aux changements de solutions)*

On constate sur la Figure IV.2-4 que le courant de drain augmente bien lorsque le pH de la solution en contact avec le nanofil diminue, ce qui correspond au comportement théorique attendu.

#### IV.2.2.2 DIFFERENTS COMPORTEMENTS OBSERVES

Des tests similaires réalisés sur les dispositifs hybrides ont conduit à l'observation de différents comportements du courant de drain suite à une variation du pH de la solution testée. Les paramètres des mesures réalisées sur trois dispositifs différents sont résumés dans le Tableau IV.2-3.

Paramètres	Valeurs
Chaîne de mesure	Lock-in
$V_G$	Face avant
$V_D$ – amplitude	1 V
$V_D$ – fréquence	17 Hz
Gain	$10^5$
Solutions	pH 4 – pH 7 – pH 4 – pH 7 à 10 mM
Débit	$2 \mu\text{L}.\text{min}^{-1}$

Tableau IV.2-3 : Paramètres de la mesure de l'influence du pH

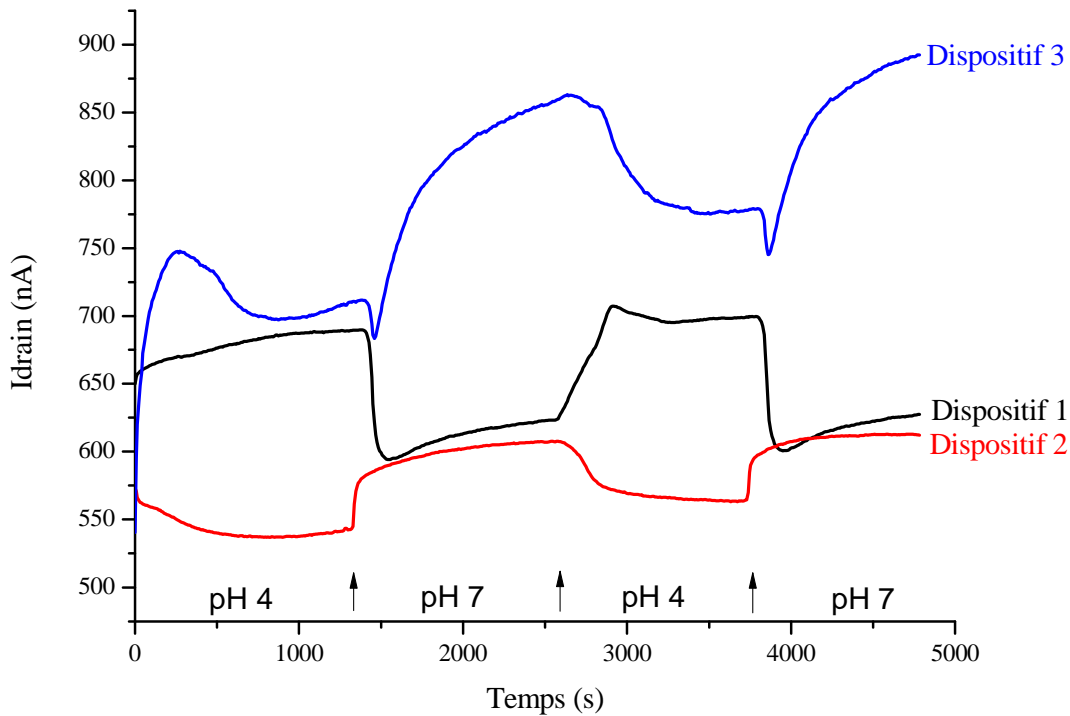


Figure IV.2-5 : Différents types de comportement du courant de drain suite à un changement de pH de la solution testée

Sur ces courbes, on peut distinguer trois comportements différents lorsque le pH de la solution varie. On peut obtenir :

- Un saut du courant de drain mesuré dans le sens prévu théoriquement, c'est-à-dire une augmentation du courant lorsque le pH diminue. C'est le cas pour le dispositif 1 dont la courbe est tracée en noir sur le graphe précédent.

- Un saut du courant de drain dans le sens inverse du sens prévu théoriquement, c'est-à-dire une diminution du courant lorsque le pH diminue. C'est le cas pour le dispositif 2 dont la courbe est tracée en rouge sur le graphe précédent.
- Enfin un comportement transitoire du courant de drain : un premier saut faible est visible dans le sens attendu, suivi d'un saut dans le sens inverse. C'est le cas pour le dispositif 3 dont la courbe est tracée en bleu sur le graphe précédent.

Nous avons vérifié que ces inversions de saut de courant de drain en fonction du pH n'étaient pas dues à un artefact de mesure. Pour cela, nous avons réalisé des tests identiques en échangeant les vannes comportant la solution à pH 4 et celle à pH 7. Ce changement n'influence en aucun cas la réponse du dispositif. Un test a aussi été réalisé en mettant dans chaque vanne la solution à pH 4 : suite à ce test, aucun saut n'est observé sur le courant de drain, les sauts observés lors d'un changement de pH de la solution ne proviennent donc pas du changement de vanne.

#### IV.2.2.3 UNE INFLUENCE DE L'OXYDE ?

L'oxyde présent à la surface du canal de conduction du dispositif testé peut jouer un rôle important, à la fois au niveau du comportement électrique du dispositif, mais aussi de sa sensibilité au pH des solutions testées.

En effet, les expressions du courant de drain d'un MOSFET (quelque soit le régime de fonctionnement) développées au chapitre précédent prédisent que celui-ci est toujours proportionnel à la capacité  $C_{ox}$  de l'oxyde présent au dessus du canal de conduction. Il est donc intéressant de maximiser cette capacité pour obtenir les dispositifs les plus sensibles possibles. Pour cela, on peut diminuer l'épaisseur de cet oxyde, puisque l'on a la relation :

$$C_{ox} = \frac{\epsilon_0 \epsilon_{ox}}{t_{ox}} \quad (IV-16)$$

où  $\epsilon_0$  est la permittivité du vide,  $\epsilon_{ox}$  est la permittivité relative de l'oxyde et  $t_{ox}$  est l'épaisseur de l'oxyde. La densité de l'oxyde présent au-dessus du canal de conduction peut aussi influencer la capacité de cet oxyde par l'intermédiaire du terme  $\epsilon_{ox}$ .

De plus, l'efficacité de la fonctionnalisation de la surface, et donc la densité relative de sites  $NH_2$  présents à la surface de l'oxyde par rapport de sites OH, peut aussi dépendre de la nature de l'oxyde présent en surface et de l'efficacité de son activation lors de l'étape d'hydroxylation.



Pour ces raisons, il est important de tester l'influence de différents types d'oxyde et d'activation à la surface du nanofil, à savoir :

- Un oxyde thermique créé en fin de procédé de fabrication des dispositifs. Cet oxyde est le plus dense, son épaisseur est contrôlée et peut être ajustée en modifiant les paramètres d'oxydation.
- Un oxyde natif obtenu en réalisant un traitement piranha sur un dispositif recouvert d'oxyde thermique afin d'uniformiser la surface, suivi d'une désoxydation dans un bain d'acide fluorhydrique (HF) à 1% pendant 30 secondes. Suite à ce traitement, le silicium va s'oxyder naturellement et on obtiendra à la surface du nanofil une couche d'oxyde dit natif. L'oxyde natif est le moins dense des oxydes, son épaisseur est en moyenne de 10 Å mais n'est pas uniforme sur toute la surface ; de plus ces paramètres dépendent du temps d'attente à l'air libre entre le traitement HF et l'étape d'hydroxylation.
- Un oxyde chimique obtenu en plongeant à nouveau la puce dans un bain de piranha suite au traitement HF : celui-ci a ici pour fonction de créer un oxyde chimique par une réaction auto-limitante. L'oxyde chimique est plus dense que l'oxyde natif et a une épaisseur contrôlée mais fixe d'environ 15 Å.

Les puces comportant un oxyde natif ou thermique sont activées par plasma O<sub>2</sub>, tandis que pour les puces comportant un oxyde chimique, l'étape de création de cet oxyde chimique par traitement piranha permet d'activer la surface. La surface est ensuite dans chaque cas fonctionnalisée par la chimie APTES décrite précédemment.

Des substrats modèles de silicium de plusieurs cm<sup>2</sup> ayant subis ces traitements ont tout d'abord été caractérisés. Un suivi de l'angle de contact de l'eau sur les surfaces après chaque étape de la silanisation a été effectué, les résultats sont présentés dans le Tableau IV.2-4.

Substrat	Après hydroxylation	Après réticulation
Oxyde thermique	25.4	38.7
Oxyde natif	21.2	38.3
Oxyde chimique	15.6	35.1

*Tableau IV.2-4 : Suivi de l'angle de contact avec l'eau pour les différents types de substrat*

Les spectres obtenus suite à une analyse MIR des substrats fonctionnalisés sont regroupés sur la Figure IV.2-6.

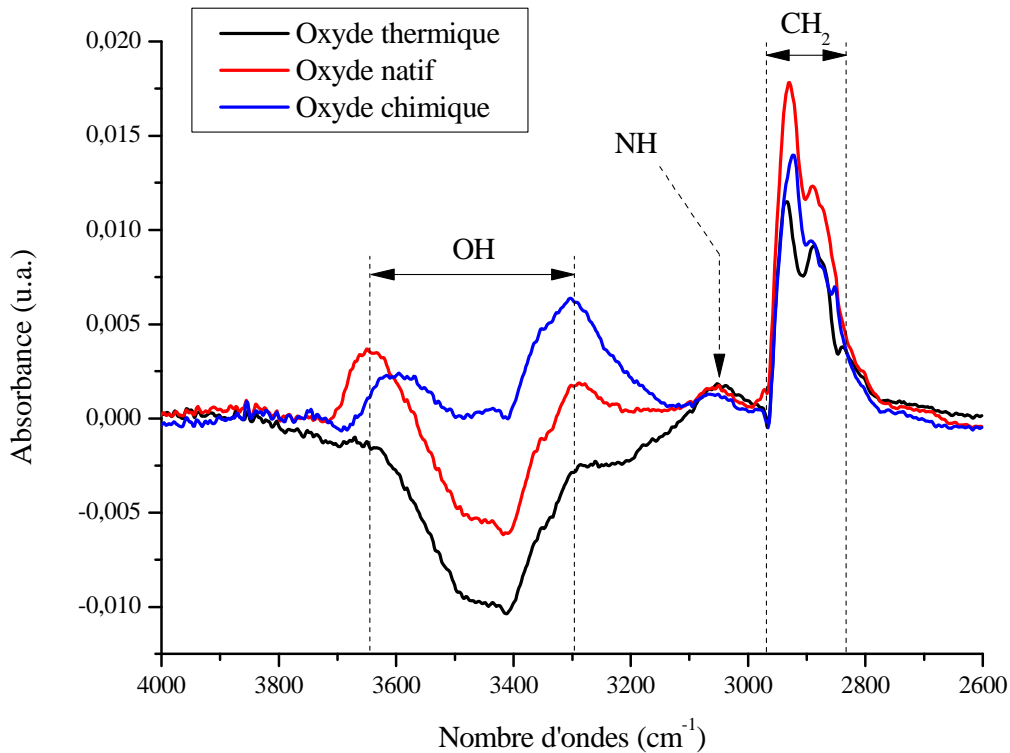


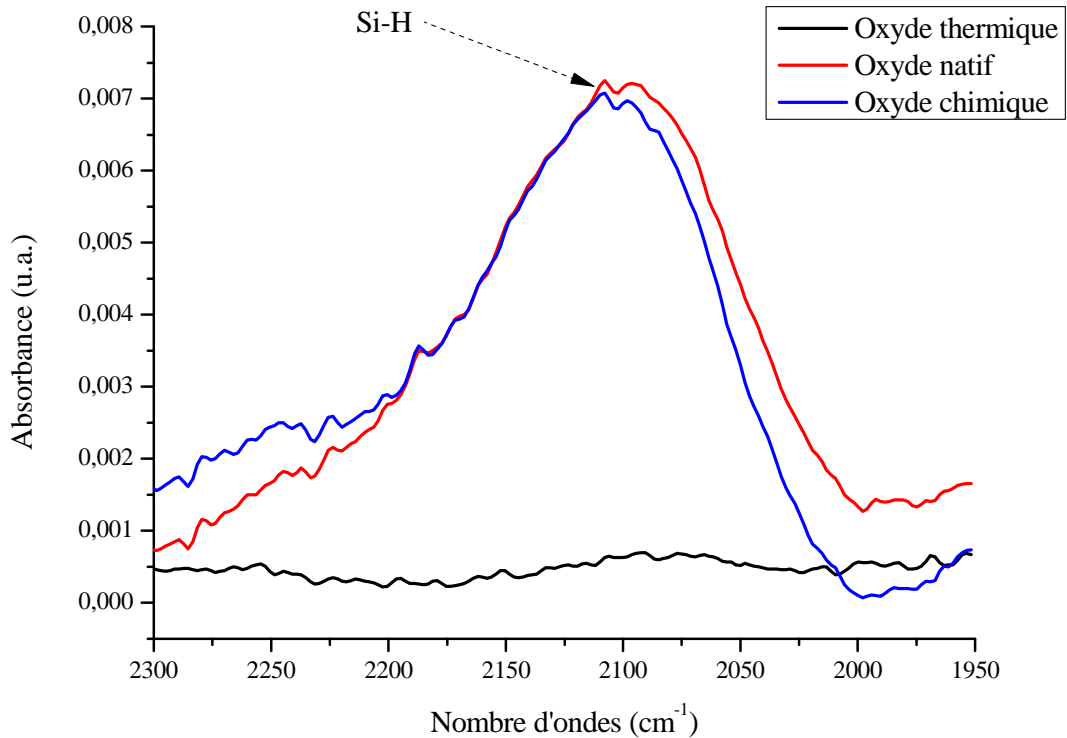
Figure IV.2-6 : Spectres MIR pour les différents types de substrat

Les angles de contact de l'eau avec les surfaces sont faibles suite à l'étape d'hydroxylation, quelque soit le type de substrat et d'activation utilisés : dans tous les cas on crée bien suffisamment de groupements silanols pour engendrer une surface hydrophile qui sera correctement réactive lors de l'étape de silanisation. Les angles obtenus en fin de protocole suite au recuit final sont proches pour tous les types de substrats traduisant une silanisation de la surface.

Les spectres de la Figure IV.2-6 font tous apparaître les groupements  $\text{CH}_2$  ( $2870$  et  $2935 \text{ cm}^{-1}$ ) présents sur la chaîne carbonée suite à la silanisation, ainsi qu'une bande à  $3050 \text{ cm}^{-1}$  correspondant à la présence de groupements NH associés en position terminale de la chaîne carbonée. Les groupements OH apparaissent dans tous les cas en négatif entre  $3300$  et  $3600 \text{ cm}^{-1}$ . Aucune différence significative n'est ainsi observée sur les analyses MIR des différents substrats sur les bandes  $\text{CH}_2$ , NH et OH.

Quelque soit le type d'oxyde et d'activation utilisés, les caractérisations précédentes nous permettent de confirmer que la silanisation APTES a bien eu lieu.

Cependant les spectres MIR réalisés nous ont tout de même permis d'observer des différences selon le type d'oxyde et d'activation.



**Figure IV.2-7 : Spectres MIR pour les différents types de substrat**

La Figure IV.2-7 montre les spectres MIR obtenus suite à la fonctionnalisation des différents types de substrat pour les nombres d'ondes comprise entre 1950 et 2300  $\text{cm}^{-1}$ . Deux des spectres, ceux obtenus pour une fonctionnalisation sur oxydes natif ou chimique, présentent un pic centré en 2100  $\text{cm}^{-1}$  qui correspond aux groupements Si-H. Les substrats modèles de silicium sont recouverts d'une couche d'oxyde thermique de 7 nm d'épaisseur, alors que les oxydes natif et chimique réalisés ont une épaisseur respective de 1 et 1.5 nm. L'absence de la bande correspondant aux groupements Si-H pour une fonctionnalisation sur oxyde thermique provient certainement de cette différence d'épaisseur.

Des mesures électriques, dont les paramètres sont résumés dans le Tableau IV.2-3, ont ensuite été réalisées sur des dispositifs recouverts par les types d'oxyde précédemment décrits et fonctionnalisés par la chimie APTES. Chaque mesure est réalisée sur deux dispositifs différents. La Figure IV.2-8 présente l'influence du pH pour des dispositifs comportant en surface chacun des types d'oxyde testés.

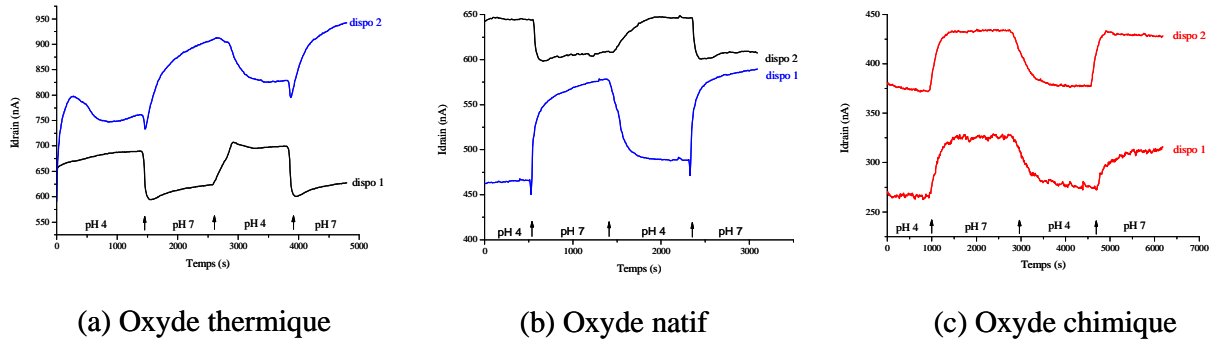


Figure IV.2-8 : Influence du pH sur : (a) oxyde thermique ; (b) oxyde natif ; (c) oxyde chimique

Un même type d'oxyde (y compris sur une même puce) peut conduire à des comportements électriques différents suite à une variation de pH de la solution testée, comme on peut le constater sur les Figure IV.2-8 (a) et (b). Cette constatation n'est pas surprenante puisque les différentes caractérisations chimiques des surfaces n'ont pas conclu à une différence de la fonctionnalisation selon le type d'oxyde utilisé.

Cependant ces caractéristiques nous ont montré la présence d'une bande caractéristique des groupements Si-H. L'oxyde thermique présent sur les nanofils avant la fonctionnalisation APTES a une épaisseur de 0.8 nm ; mais il n'a pas été possible de réaliser un spectre MIR d'un substrat modèle ayant une telle épaisseur d'oxyde thermique. Cependant cette épaisseur est comparable à celle des oxydes natif et chimique testés, et il est ainsi possible que la bande Si-H apparaisse sur un oxyde thermique de cette épaisseur. La présence de ce pic prouve qu'il peut y avoir, par endroit, des « trous » dans l'oxyde, ce qui a pour conséquence un contact direct entre l'électrolyte et le canal semi-conducteur de nos dispositifs. En ces endroits, il n'y a plus d'effet de champ obtenu grâce à la présence de la capacité de l'oxyde et l'interaction directe électrolyte – semi-conducteur peut amener à des comportements inattendus de l'influence du pH sur le courant de drain du dispositif. L'interaction directe entre électrolyte et semi-conducteur peut éventuellement expliquer la présence de sauts dans le sens inverse de ceux attendus électriquement, puisque les charges présentes dans l'électrolyte peuvent se transmettre directement dans le semi-conducteur sans effet capacitif.

De plus, aucune méthode n'est disponible pour caractériser l'état de la surface suite à la fonctionnalisation des nanofils présentant différents types d'oxyde à leur surface. Il est possible qu'à cette échelle, les constatations réalisées sur surface plane ne soient pas exactement les mêmes que celles qui seraient faites sur un dispositif testé électriquement et que les comportements observés sur le courant de drain des dispositifs testés proviennent de différences de l'état de surface entre l'échelle nanométrique et l'échelle macrométrique.

#### IV.2.2.4 ETUDE DE LA STABILITE

Afin de mieux comprendre ces phénomènes, la stabilité des dispositifs dans le temps a ensuite été étudiée en réalisant cinq mesures successives du même dispositif dans des conditions identiques. Les paramètres de ces mesures sont résumés dans le Tableau IV.2-3. Les résultats obtenus pour trois dispositifs différents sont présentés sur la Figure IV.2-9. Pour chaque dispositif, les niveaux des courants de drain obtenus suite aux tests 2 à 5 ont été décalés d'une valeur positive par souci de clarté et lisibilité des courbes obtenues. Les paramètres de fabrication et de fonctionnalisation (épaisseur et type d'oxyde, type d'activation) des dispositifs A, B et C peuvent être différents ou identiques : aucune relation n'a pu à l'heure actuelle être mise en évidence entre ces paramètres et la stabilité du dispositif dans le temps.

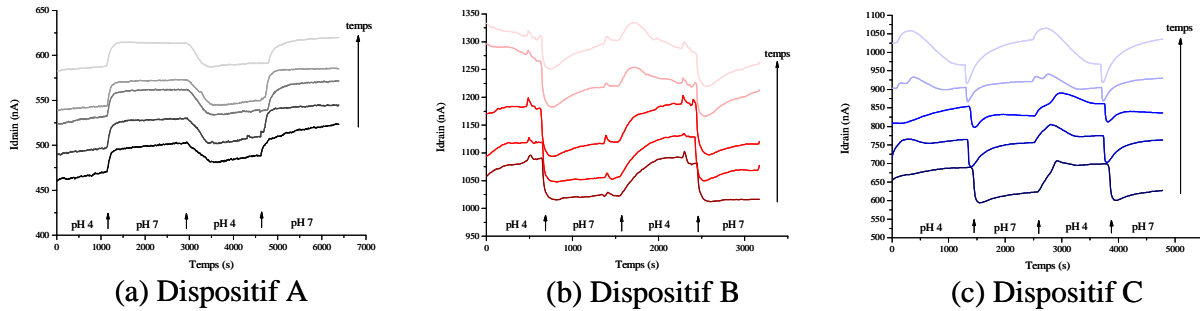


Figure IV.2-9 : Stabilité des dispositifs dans le temps : (a) dispositif stable ; (b) et (c) dispositifs instables

On définit le saut observé sur le courant de drain suite à un changement de pH de la solution testée par :

$$\Delta I = I(pH = 4) - I(pH = 7) \quad (IV-17)$$

Ainsi pour un dispositif dont le courant de drain varie dans le sens attendu théoriquement,  $\Delta I$  est positif. Pour chacun des tests précédents, une valeur de  $\Delta I$  et l'écart-type sur cette valeur sont obtenus en moyennant et en calculant l'écart-type sur les valeurs de  $\Delta I$  obtenues à chacun des trois sauts. Les résultats pour chacun des dispositifs sont résumés dans la Figure IV.2-10.

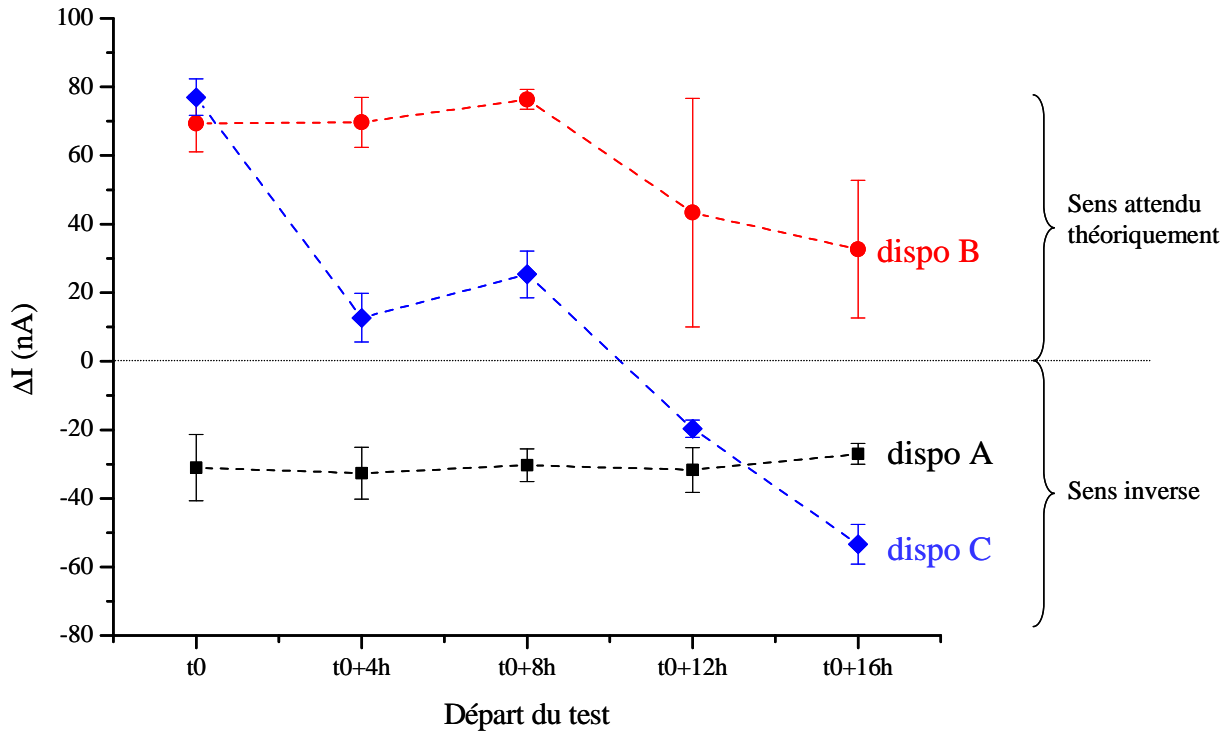


Figure IV.2-10 : Mesure de  $\Delta I$  pour chaque dispositif en fonction du temps de départ du test

La Figure IV.2-9 montre que les dispositifs testés en sont pas tous stables dans le temps. Pour le dispositif B, les caractéristiques obtenues pour le courant de drain se dégradent rapidement et les sauts à chaque changement de solution de pH n'apparaissent presque plus au 5<sup>ème</sup> test successif sur le même dispositif. Le dispositif C présente dans un premier temps des sauts de courant de drain dans le sens attendu théoriquement puis évolue au fil du temps vers des sauts inversés précédés d'un premier faible saut dans le sens attendu.

Ces constatations visuelles sont confirmées par les mesures de  $\Delta I$ . Les carrés noirs, qui correspondent au dispositif A, peuvent être reliés par une courbe qui est presque une droite, les écarts-types sur les valeurs des sauts sont faibles. Ce dispositif est stable mais présente des variations dans le sens inverse de celui attendu théoriquement. Les valeurs moyennes de  $\Delta I$  pour le dispositif B (qui correspondent aux ronds rouges de la Figure IV.2-10) diminuent et sont de moins en moins stables avec le temps (augmentation de l'écart-type). Enfin, pour le dispositif C, les losanges bleus qui correspondent aux valeurs de  $\Delta I$  sont positifs pour les trois premiers tests, puis négatifs pour les deux derniers, traduisant le changement de comportement électrique du dispositif.

Les caractéristiques électriques des dispositifs testés sont le plus souvent instables dans le temps, ce qui laisse imaginer que l'état de surface des nanofils qui sont le canal de conduction de notre dispositif varie au cours du temps. Il est en effet connu que la silice peut s'hydrolyser

en présence d'eau pour donner de l'acide silicique : celle-ci n'est donc pas très stable en milieu aqueux.

Une deuxième hypothèse pour expliquer la non-stabilité de nos dispositifs est l'utilisation d'une électrode de référence en or pour polariser l'électrolyte en contact avec le dispositif. En effet, nous avons vu au chapitre précédent que les électrodes de référence classiques Ag / AgCl sont difficiles à intégrer et sensibles à un changement de salinité de la solution par l'intermédiaire des ions Cl<sup>-</sup>. Cependant l'utilisation d'une électrode en or, qui est une pseudo-référence, peut provoquer des instabilités et se dégrader dans le temps au cours de l'utilisation des dispositifs [272]. Une étude menée sur des nanotubes de carbone utilisés comme EOSFET pour la détection de protéines montre que le rôle de l'électrode de référence est critique [273]. L'utilisation d'une électrode de référence Ag / AgCl immergée dans une solution à 3 M en NaCl et séparée de la solution testée par une paroi en verre permet d'obtenir une variation de tension de seuil de 15 mV sur le dispositif avant et après détection de la protéine, alors qu'une électrode de référence en platine conduit à une variation de tension de seuil de 40 mV. Les auteurs montrent que cette différence est clairement due à des interactions entre les protéines et le fil de platine. Alors que la plupart des études sur les EOSFET dont le canal est une nanostructure utilisaient des fils d'or ou de platine comme électrode de référence [164, 169, 223], plusieurs études récentes utilisent une électrode Ag / AgCl comme électrode de référence [195, 242, 274] afin d'éviter les problèmes d'instabilité ou de faux signaux dus aux interactions entre l'électrode de référence et la solution testée.

Une autre hypothèse peut expliquer l'évolution du comportement électrique des dispositifs testés. Nous avons vu au chapitre précédent, qu'à l'équilibre, la présence de l'oxyde au dessus du nanofil de silicium empêche tout courant de traverser la structure. En réalité, malgré la présence de la passivation, il existe toujours un courant qui circule dans la solution et qui est appelé courant de fuite. Dans notre cas ce courant de fuite est environ 3 ordres de grandeur plus faible que le courant de drain mesuré. La présence de ce courant de fuite provoque le phénomène appelé électrolyse de l'eau qui génère des ions H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> si la polarisation de l'électrode de grille est positive. Il a été récemment montré que ce phénomène peut provoquer une variation locale de pH à la surface du nanofil de plus d'une unité de pH [275] et que cette variation n'est pas stable dans le temps.

Enfin, une étude de l'influence d'un changement de débit sur des nanofils de silicium utilisés comme EOSFET a conduit à un changement de courant de drain opposé sur deux dispositifs de même dopage [242]. Une augmentation du débit provoque une augmentation du courant de drain d'un dispositif situé en amont de l'électrode de référence, alors qu'elle provoque une

diminution du courant de drain d'un dispositif équivalent situé en aval de cette électrode de référence. La position du dispositif dans le canal de conduction, et plus particulièrement par rapport à l'électrode de référence, joue ainsi aussi certainement un rôle.

#### IV.2.2.5 CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cette première étude permet de conclure que le principe de fonctionnement d'un EOSFET en tant que capteur pH est bien validé, puisque l'on voit un effet du pH de la solution testée sur le courant de drain du dispositif, bien que cet effet ne soit pas toujours dans le sens attendu théoriquement. Plusieurs hypothèses sont avancées pour expliquer en partie les résultats obtenus électriquement :

- la présence de groupements Si-H certainement due à un oxyde trop fin et qui implique une interaction directe entre le semiconducteur et l'électrolyte
- la non stabilité de l'état de surface due à l'hydrolyse de la silice en milieu aqueux
- l'utilisation d'une pseudo-référence potentiellement instable
- la présence d'un courant de fuite dans la solution provoquant l'électrolyse de l'eau
- la position du dispositif testé dans le canal fluidique

De nombreuses incertitudes sont liées à la présence d'oxyde sur le nanofil de silicium. Il serait ainsi intéressant de remplacer cette couche d'oxyde par un autre diélectrique ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) ou de fonctionnaliser les dispositifs directement sur silicium. La fonctionnalisation sur silicium par des chaînes carbonées relativement longues (typiquement 11 carbones) permet d'obtenir une organisation compacte de la couche chimique qui joue alors le rôle capacitif précédemment joué par l'oxyde. La fonction terminale de la chaîne carbonée permet quant à elle d'observer un effet du pH, pourvu que son  $\text{pK}_a$  soit dans les gammes de pH testées : on peut ainsi envisager un greffage de chaînes  $\text{C}_{11} - \text{NH}_2$  ou  $\text{C}_{11} - \text{COOH}$  pour tester l'effet du pH sur un EOSFET fonctionnalisé directement sur silicium. Les problèmes liés à la présence de liaisons Si-H, à l'hydrolyse de la silice en milieu aqueux ainsi qu'à la présence d'un courant de fuite pourraient ainsi être minimisés ou éliminés.

Des essais avec une électrode de référence Ag / AgCl sont aussi en cours, puisque dans cette application la salinité de la solution n'évolue pas au cours d'un test, ce qui permet d'avoir un potentiel stable par cette électrode de référence.



Enfin il pourrait être important de contrôler la position des dispositifs testés dans le canal fluide, bien que pour l’instant aucune corrélation n’ait pu être faite dans notre cas entre cette position et le comportement électrique observé du dispositif.

Suite à la mise en évidence de l’importance de la stabilité du dispositif et de son environnement (électrode de référence) pour obtenir une détection chimique, une seconde étude de l’importance des propriétés de la solution en contact avec le dispositif, et plus particulièrement de sa salinité, a été menée.

### IV.2.3 IMPORTANCE DE LA SALINITE DE LA SOLUTION

#### IV.2.3.1 DETECTION D’UN CHANGEMENT DE PH

Il a été montré au chapitre 3 que les dispositifs sont sensibles à la salinité de la solution testée :

- Le courant de drain des dispositifs augmente lorsque la salinité de la solution testée augmente
- Le courant de drain des dispositifs n’est plus influencée par un changement de débit de la solution lorsque la salinité de celle-ci est trop élevée (typiquement supérieure à  $10^{-4}$  M pour un changement de débit de  $1.5 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ )

L’influence du pH sur le courant de drain a ainsi été testée avec des solutions de différentes forces ioniques (Figure IV.2-11). Les paramètres de la mesure sont résumés dans le Tableau IV.2-5, les différents tests étant réalisés successivement sur le même dispositif.

Paramètres	Valeurs
Chaîne de mesure	Lock-in
$V_G$	Face avant
$V_D$ – amplitude	1 V
$V_D$ – fréquence	17 Hz
Gain	$10^5$
Solutions	pH 4 – pH 7 – pH 4 – pH 7
Force ionique	Test 1 : 1 mM ; Test 2 : 10 mM ; Test 3 : 100 mM
Débit	$2 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$

Tableau IV.2-5 : Paramètres de la mesure de l’influence de la force ionique des solutions

Les forces ioniques présentées dans le tableau précédent sont les forces ioniques calculées théoriquement des solutions préparées. Le Tableau IV.2-6 indique les conductivités mesurées des solutions utilisées, ainsi que les forces ioniques calculées à partir de ces mesures, grâce à la formule :

$$\text{Force ionique} = 1.7 \times 10^{-5} \sigma \quad (\text{IV-18})$$

où  $\sigma$  est la conductivité de la solution exprimée en  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ .

	1 mM		10 mM		100 mM	
	pH 4	pH 7	pH 4	pH 7	pH 4	pH 7
$\sigma$ ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	94	90	980	858	5740	5320
<i>FI</i> (mM)	1.6	1.5	16.7	14.6	97.6	90.4

Tableau IV.2-6 : Forces ioniques mesurées des solutions testées

Les ordres de grandeurs des forces ioniques mesurées sont concordants avec ceux des valeurs trouvées par le calcul théorique.

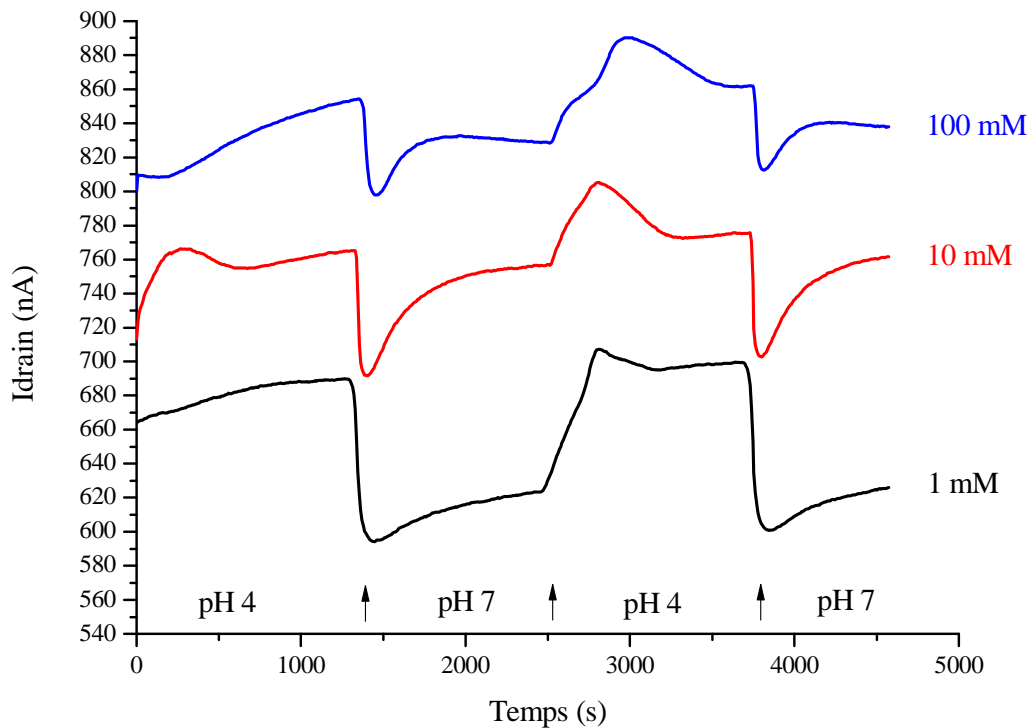
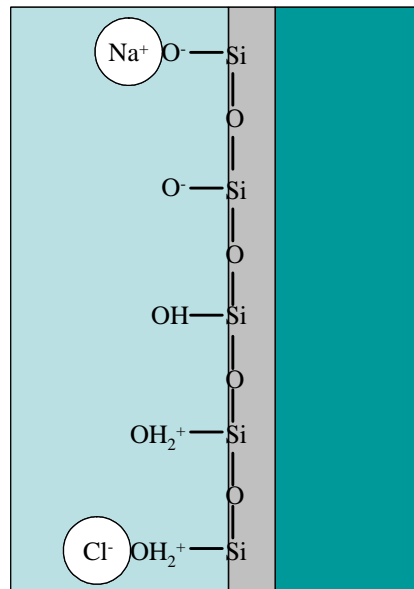


Figure IV.2-11 : Influence de la force ionique des solutions (les flèches indiquent les changements de solutions)

Le courant de drain du dispositif augmente lorsque la force ionique des solutions testées augmente, ce qui est en accord avec ce qui a été démontré au chapitre précédent qu'une augmentation de la conductivité des solutions provoque une augmentation du courant de drain. Les sauts du courant de drain suite à un changement du pH de la solution semblent diminuer lorsque la salinité de la solution augmente. Suite au modèle théorique développé au IV.2.1.1, nous avons conclu que la salinité de la solution ne semble pas avoir d'influence sur la sensibilité du dispositif. Cependant ce modèle néglige un phénomène physique important : l'écrantage d'une charge par les contres-ions de la solution. Si l'on tient compte de ce phénomène, le mécanisme de charge de l'oxyde se complique, et est décrit sur la Figure IV.2-12 ainsi que par les réactions de surface suivantes dans le cas d'un électrolyte simple 1 : 1 de type NaCl [270, 276]:



**Électrolyte    Oxyde Silicium**



*Figure IV.2-12 : Mécanisme de charge de l'oxyde en tenant compte de l'écrantage par les contres-ions*

Plus la salinité de la solution augmente, plus l'écrantage des charges présentes à la surface de l'oxyde par les contres-ions augmente. Cet écrantage provoque une diminution de la

différence entre la charge de la surface à pH 4 et à pH 7, et ainsi une diminution du saut observé sur la mesure du courant de drain. Ce phénomène permet ainsi d'expliquer la diminution des sauts de courant de drain constatée expérimentalement lorsque la salinité de la solution augmente.

Cette constatation est en accord avec les simulations réalisées récemment sur un nanofil utilisé comme canal d'un EOSFET et qui montrent une décroissance logarithmique de la sensibilité du dispositif lorsque la salinité de la solution augmente [277]. Une étude de l'influence du pH de la solution testée sur des nanotubes de SnO<sub>2</sub> à différentes salinités a aussi été réalisée par le groupe de Xiong [240]. Elle met en évidence une diminution de la sensibilité des dispositifs lorsque la salinité de la solution augmente jusqu'à 70 mM, ce qui est en accord avec les observations que nous avons réalisées. A des salinités plus élevées (de 70 mM à 2 M), la sensibilité en fonction du pH augmente lorsque la salinité de la solution augmente, cet effet est dans ce cas expliqué par une conduction parallèle par l'électrolyte dont la valeur n'est plus négligeable à haute salinité malgré la passivation des électrodes de source et de drain.

#### **IV.2.3.2 TESTS PRELIMINAIRES DE DETECTION D'ADN**

La salinité du tampon d'hybridation choisi pour la détection électrique de l'ADN est très importante. Ce tampon doit combiner les trois propriétés suivantes :

- Une composition adéquate et une salinité suffisamment importante permettant à la réaction d'hybridation d'avoir lieu
- Une salinité suffisamment faible pour que les charges apportées par l'ADN cible ne soient pas écrantées par les contre-ions présents dans la solution tampon
- Une salinité suffisamment importante pour que la salinité ajoutée par l'introduction d'ADN cible à la solution tampon soit négligeable

Une étude préliminaire de détection par fluorescence de la réaction d'hybridation ANP-ADN a permis de déterminer la composition et la salinité du tampon d'hybridation permettant à cette réaction d'avoir lieu. Différents tampons d'hybridation à salinité équivalente ont été testés. Les compositions des tampons d'hybridation sont résumées dans le Tableau IV.2-7.

Nom	Molarité totale	Composition
0.5X PBS	75 mM	68.5 mM de NaCl 1.35 mM de KCl 5 mM de sodium phosphate 1 mM de potassium phosphate
0.5X SSC	82.5 mM	75 mM de NaCl 7.5 mM de sodium citrate
Tris 75 mM	86 mM	75 mM de NaCl 10 mM de Tris-HCl 1 mM EDTA

Tableau IV.2-7 : Différents tampons d'hybridation utilisés

Des substrats modèles spottés avec la sonde ANP complémentaire dans le tampon formate ont été hybridés avec la cible ADN complémentaire dans chacun des tampons précédemment cités, à une concentration de 10 et 1 nM. Les résultats obtenus en terme de rapport signal sur bruit (valeur médiane obtenue sur 10 spots et écart-type des valeurs sur les 10 spots) sont présentés sur la Figure IV.2-13.

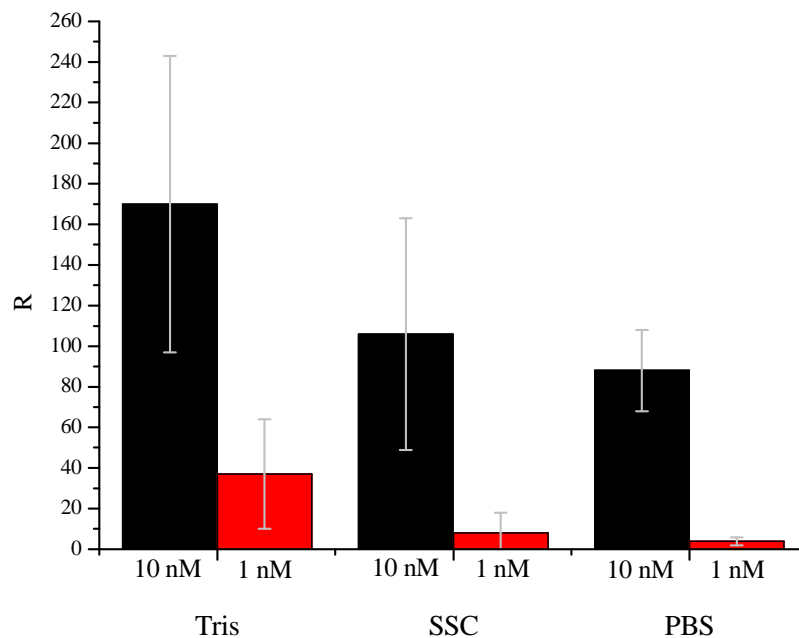


Figure IV.2-13: Résultats obtenus après hybridation de la cible complémentaire dans différents tampons

A molarité quasi-équivalente, le tampon Tris permet une hybridation beaucoup plus efficace que l'hybridation dans du tampon SSC ou PBS. De plus, la Figure IV.2-14 prouve que l'on est capable, dans ce tampon, de discriminer les sondes ANP correspondant à des séquences totalement complémentaires de la cible ADN, de celles comportant un mismatch central. La valeur du rapport signal sur bruit est en effet dans ce cas inférieure de 84 %. Les sondes ANP totalement mismatchées ne donnent aucun signal en fluorescence.

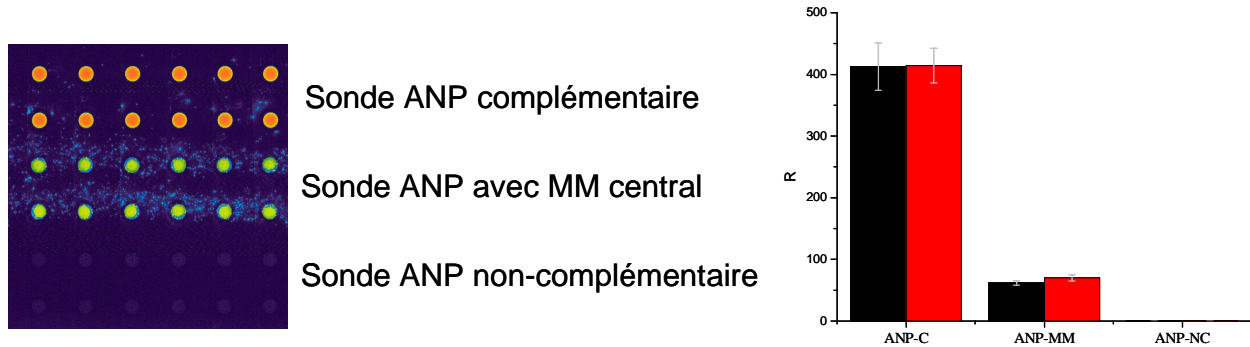


Figure IV.2-14 : Hybridation de cibles ADN à 10 nM dans le tampon Tris 75 mM

Différentes hybridations ont ensuite été réalisées en faisant varier la quantité de NaCl présente dans le tampon Tris. La sonde d'ANP complémentaire a été immobilisée dans le tampon de formate de potassium ; toutes les hybridations ont été réalisées à température ambiante, avec une concentration de 10 nM de cibles d'ADN.

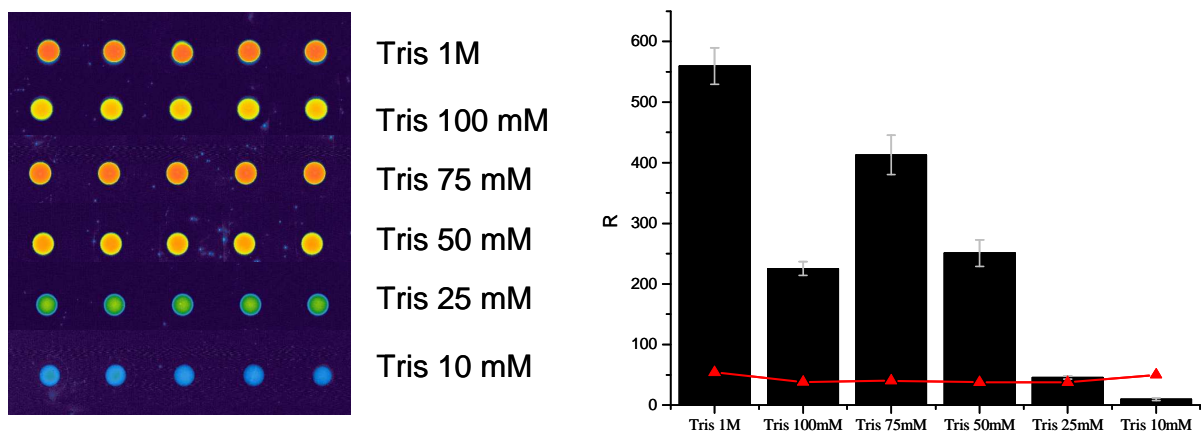


Figure IV.2-15 : Influence de la salinité du tampon Tris

Le signal minimum détectable est calculé pour obtenir un intervalle de confiance de 99 % :

$$R_{\min} = bf + 3\sigma(bf) \quad (IV-23)$$

où  $bf$  est la valeur médiane des intensités de bruit de fond mesurées sur les spots où aucune sonde n'a été immobilisée ; et  $\sigma(bf)$  est l'écart-type inter-spot sur les mêmes spots.

La valeur  $R_{\min}$  a été mesurée pour chaque substrat et est reportée sur le graphique de la Figure IV.2-15 en rouge. Les rapports signal sur bruit obtenus pour les tampons Tris à différentes concentrations en NaCl, représentés par les barres noires (chaque barre représente la médiane de 20 spots), permettent de définir que la valeur limite de NaCl en dessous de laquelle l'hybridation de l'ADN est difficilement détectable est de 25 mM.

Cette étude préalable réalisée en fluorescence pour la détection de la réaction d'hybridation ANP-ADN nous a permis de choisir les conditions opératoires à priori optimum pour une détection électrique sur nanofils de cette réaction d'hybridation. Différents tests ont été réalisés à partir de ces conditions opératoires. Dans tous les cas, les sondes sont ainsi spottées dans le tampon HCCOK à 2M auquel est ajouté 5% de DMSO et les réactions d'hybridation ont lieu à température ambiante. Une augmentation de la température d'hybridation permet de discriminer plus facilement une séquence totalement complémentaire, d'une séquence comportant un mismatch central, cependant celle-ci n'a pas d'influence primordiale sur l'efficacité d'hybridation (IV.1.4.5). Dans un premier temps, nous avons donc décidé de travailler à température ambiante afin de ne pas compliquer la chaîne de mesure par la présence d'un chauffage localisé.

Suite à l'étude réalisée en fluorescence, un premier test de détection électrique d'ADN sur nanofils de silicium a été réalisé dans un tampon Tris à 25 mM en NaCl (et dont la salinité totale est donc de 36 mM). Deux dispositifs présents dans le même canal fluide sont testés en parallèle grâce au multiplexage possible de la mesure électrique : sur le premier dispositif (dispositif A), la sonde ANP totalement complémentaire (ANP-C) à la cible ADN testée est préalablement spottée, sur le deuxième (dispositif B) c'est la sonde ANP totalement mismatché (ANP-TM) à la cible ADN testée qui est spottée (Figure IV.2-16). Tous les paramètres de la mesure sont résumés dans le Tableau IV.2-8.

Paramètres	Valeurs
Chaîne de mesure	Lock-in
$V_G$	Face avant
$V_D$ – amplitude	1 V
$V_D$ – fréquence	17 Hz
Gain	$10^5$
Solutions	Tris 25 mM – Tris 25 mM + Cible ADN Cy3 à 10 nM
Débit	$2 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$
Dispositifs testés	A : Sonde ANP-C et B : Sonde ANP-TM

Tableau IV.2-8 : Paramètres de la détection d'ADN dans le tampon Tris 25 mM

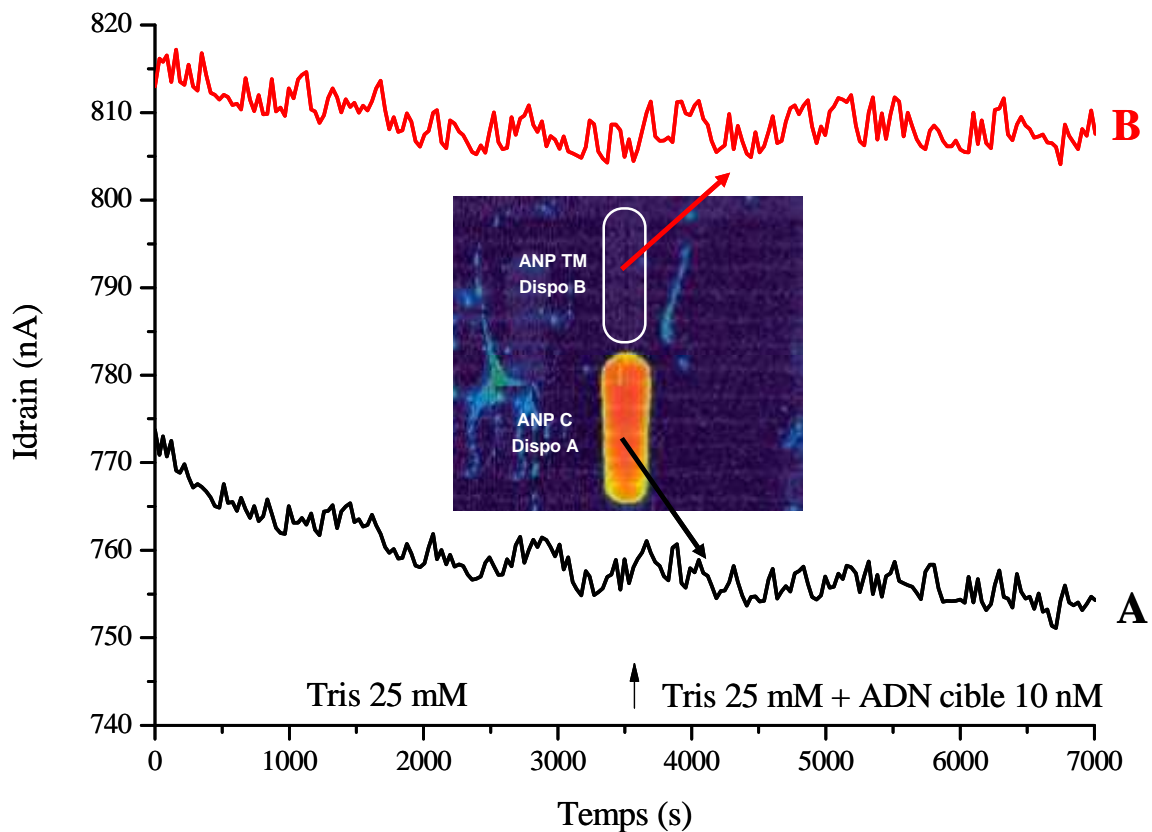


Figure IV.2-16 : Réaction d'hybridation ANP-ADN sur EOSFET dans le tampon Tris 25 mM : comparaison d'une détection par fluorescence et d'une détection électrique

Quelque soit le dispositif testé, aucune variation du courant de drain n'est constatée suite à l'introduction de la solution contenant 10 nM d'ADN cible dans le tampon Tris 25 mM. La



cible ADN introduite est marquée par un fluorophore Cy3. Une image en fluorescence de la puce testée a ainsi pu être réalisée suite au test de détection électrique réalisé sur la puce.

Sur la Figure IV.2-16, la zone orange foncée correspond à l’endroit de la puce où se situent les dispositifs spottés avec la sonde ANP-C, tandis que la zone bleue qui a été entourée en blanc correspond à l’endroit où se situent les dispositifs spottés avec la sonde ANP-TM. La réaction d’hybridation ANP-ADN a effectivement eu lieu sur les dispositifs spottés avec la sonde ANP-C et est détectée en fluorescence. Nous pensons qu’aucune détection n’a pu être réalisée électriquement car le tampon d’hybridation utilisé est trop salin. En effet, dans un tampon salin, les charges négatives présentes sur le brin cible d’ADN vont être écrantées par les contres-ions présents dans l’électrolyte et la sensibilité du dispositif va diminuer. Une modélisation de ce phénomène a été mise au point par Nair et Alam [277].

Suite à cette première constatation, un deuxième test a été réalisé dans un tampon d’eau déionisée. En effet, d’après l’étude préalable réalisée en fluorescence, aucune détection n’est possible dans un milieu aussi peu salin (la salinité de l’EDI est évaluée à  $10^{-8}$  M), même si plusieurs études de la littérature menées en détection électrique montrent le contraire [118, 165, 278]. De façon identique au test précédent, deux dispositifs présents dans le même canal fluide sont testés en parallèle : sur le premier dispositif (dispositif A), la sonde ANP totalement complémentaire (ANP-C) à la cible ADN testée est préalablement spottée, sur le deuxième (dispositif B) c’est la sonde ANP totalement mismatché (ANP-TM) à la cible ADN testée qui est spottée (Figure IV.2-17). Tous les paramètres de la mesure sont résumés dans le Tableau IV.2-9.

Paramètres	Valeurs
Chaîne de mesure	Lock-in
$V_G$	Face avant
$V_D$ – amplitude	1 V
$V_D$ – fréquence	17 Hz
Gain	$10^5$
Solutions	EDI – EDI + Cible ADN Cy3 à 10 nM – EDI
Débit	$2 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$
Dispositifs testés	A : Sonde ANP-C et B : Sonde ANP-TM

Tableau IV.2-9 : Paramètres de la détection d’ADN dans le tampon EDI

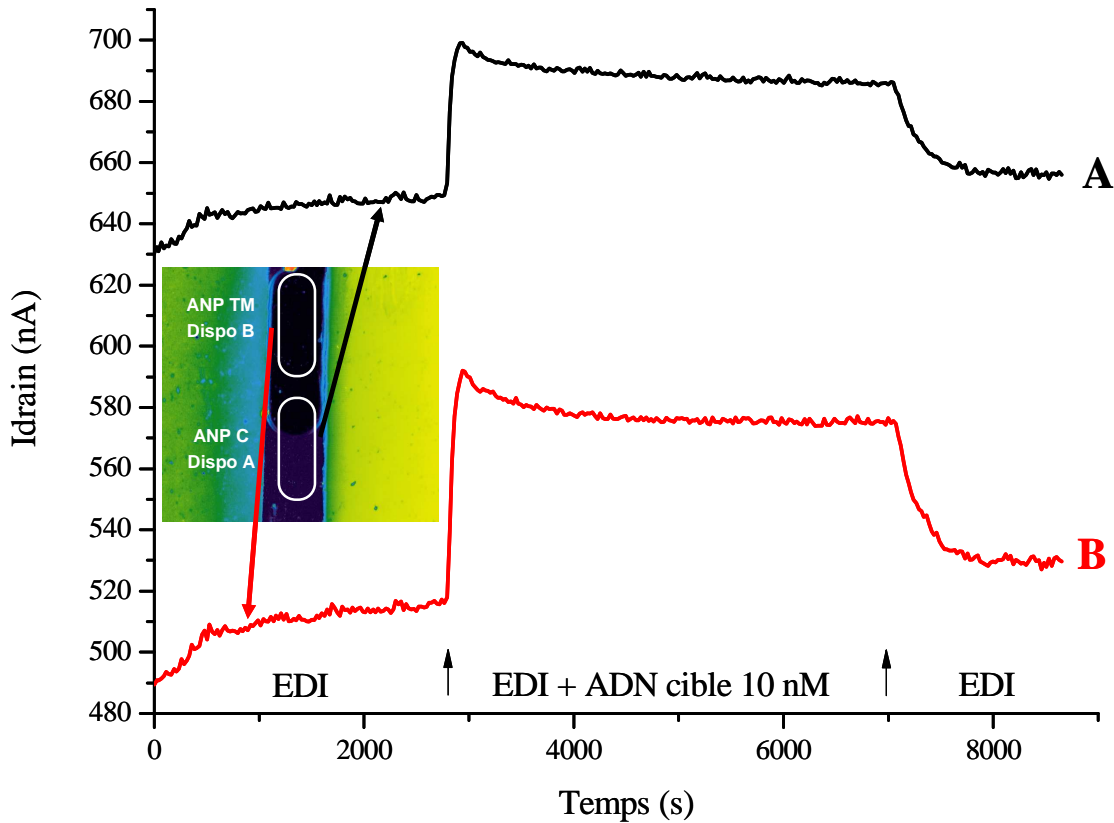


Figure IV.2-17 : Réaction d'hybridation ANP-ADN sur EOSFET dans le tampon EDI : comparaison d'une détection par fluorescence et d'une détection électrique

Quelque soit le dispositif testé, l'introduction de la solution contenant 10 nM d'ADN cible dans le tampon EDI provoque une augmentation du courant de drain du dispositif. Cependant nous avons vu qu'en cas de détection de la réaction d'hybridation ANP-ADN, le courant de drain du dispositif doit diminuer étant donné notre dopage (IV.2.1.2). L'augmentation du courant de drain constatée ici ne provient donc pas de la réaction d'hybridation ANP-ADN, mais plus probablement d'une augmentation de la salinité de la solution vue par le dispositif suite à l'introduction de l'ADN cible dans la solution tampon d'EDI. En effet l'introduction de 10 nM d'ADN correspond à une augmentation de salinité de  $2.3 \times 10^{-7}$  M (due aux 21 charges négatives présentes sur le brin d'ADN cible, et aux 2 charges négatives présentes sur le fluorophore Cy3) si l'on néglige les charges qui peuvent être présentes dans la solution d'ADN cible achetée. Nous avons vu au chapitre précédent que le passage entre un tampon EDI et un tampon NaCl à  $10^{-7}$  M provoque une augmentation du courant de drain, ce qui permet de confirmer notre hypothèse que l'augmentation de la salinité de la solution est à l'origine de l'augmentation du courant de drain observé. De plus, l'introduction d'eau déionisée suite à celle de l'ADN cible provoque pour chacun des deux dispositifs testés un

retour du courant de drain à sa valeur initiale (si on prend en compte la dérive de la ligne de base), puisque la salinité de la solution est à nouveau diminuée. Comme nous l'avons évoqué en fin de chapitre 3, il est important que la salinité de la cible biologique recherchée soit bien inférieure à celle de la solution tampon utilisée afin de ne pas avoir de changements de courant de drain de la solution dus à un changement de salinité de la solution tampon avec ou sans la cible biologique. Cette constatation a aussi été réalisée par le groupe de Zheng [242]. Une observation identique de changement du courant de drain du dispositif suite à l'introduction de brins d'ADN totalement mismatchés a été faite par le groupe de Lieber [118]. Dans ce cas l'augmentation du courant de drain observé est interprétée comme étant due à une hybridation non spécifique des brins d'ADN totalement mismatchés sur le canal de conduction. Le dispositif utilisé lors de cette étude étant de type p, une hybridation non spécifique à la surface du nanofil conduit effectivement à une augmentation du courant de drain.

Stern évoque lui aussi le problème du choix de la salinité du tampon d'hybridation et observe une augmentation du courant de drain de ses dispositifs suite à l'introduction de brins d'ADN totalement mismatchés dans des tampons peu salins comme l'eau déionisée ou du 0.001X PBS (0.15 mM) [278]. Il interprète ses résultats en évoquant l'augmentation d'épaisseur  $\lambda_d$  de la double couche à faible salinité. L'équation ( III-9 ) définit la valeur de la capacité de la double couche, qui est apparentée à la couche diffuse dans le cas du modèle Gouy-Chapman. Celle-ci peut être simplifiée dans le cas des faibles potentiels (si  $\psi_m \ll \phi_T \approx 26mV$  ), ce qui permet d'obtenir comme expression de l'épaisseur de la double couche :

$$\lambda_d = \sqrt{\frac{\epsilon\epsilon_0 kT}{2z^2 q^2 n^0}} \quad (IV-24)$$

où  $n^0$  est la concentration en ions dans la solution.

Le canal de conduction peut détecter toutes les charges présentes à l'intérieur de la double couche. Lorsque la salinité de la solution diminue, l'épaisseur de la double couche augmente, et le canal peut alors détecter les charges présentes sur des brins d'ADN qui ne sont pas hybridés à sa surface mais présentes à l'intérieur de la double couche. La Figure IV.2-18 illustre ce phénomène : dans un tampon suffisamment salin, les brins d'ADN complémentaires sont détectés (a) alors que les brins non complémentaires ne le sont pas (b) ; au contraire dans un tampon très peu salin, les brins non complémentaires d'ADN sont compris dans l'épaisseur de la double couche et sont détectés par le nanofil (c).

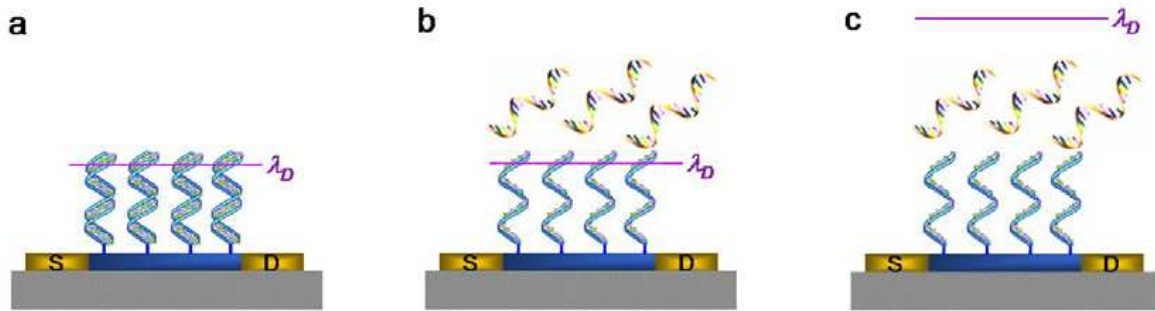


Figure IV.2-18 : Influence de la salinité de la solution sur la détection d'ADN [278]

L'influence de la salinité de la solution tampon utilisée sur la détection d'ADN a ainsi été à plusieurs reprises évoquée, différentes hypothèses peuvent être avancées pour expliquer un changement du courant de drain suite à l'introduction de brins d'ADN totalement mismatchés :

- Une augmentation de la salinité de la solution
- Une hybridation non spécifique à la surface du nanofil
- Une augmentation de l'épaisseur de la double couche permettant la détection de brins d'ADN non hybridés.

#### IV.2.3.3 CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ces tests de détection de changement de pH, ainsi que les premiers tests préliminaires de détection d'ADN confirment l'importance de la salinité de la solution choisie pour réaliser une détection efficace des phénomènes chimiques et biologiques. La détection biologique est la plus difficile à réaliser puisque plusieurs contraintes sont à concilier, une salinité suffisamment élevée pour que la réaction d'hybridation ait lieu, mais suffisamment faible pour que sa détection soit possible électriquement sans écrantage par les contre-ions [228].

Des tests de détection électrique de la réaction d'hybridation d'ADN sont en cours de réalisation dans des solutions dont la salinité est comprise entre celle de l'eau déionisée et celle du tampon Tris 25 mM afin de trouver la salinité de la solution à laquelle une détection d'événements biologiques pourrait éventuellement être réalisée.



## **CONCLUSION GENERALE**

---

---

Le travail présenté dans ce mémoire repose sur trois axes principaux qui sont :

- la fabrication de dispositifs permettant une détection électrique en milieu liquide
- la mise en place d'une chaîne de mesure spécifiquement adaptée à l'étude de ces dispositifs
- la caractérisation des dispositifs mettant en évidence plusieurs paramètres clés dont la maîtrise est nécessaire pour réaliser une détection d'éléments chimiques ou biologiques.

Trois générations successives de complexité croissante de dispositifs ont été conçues et réalisées. Ces dispositifs, appelés EOSFET, sont fabriqués sur des substrats SOI et comportent un canal de conduction qui est une nanostructure unidimensionnelle de silicium réalisée par gravure e-beam. Ce canal est recouvert d'oxyde de silicium et possède à ses extrémités deux électrodes métalliques de source et de drain permettant de reprendre un contact électrique. Ces électrodes sont passivées autour de la nanostructure afin de ne pas créer de court-circuit lorsque le dispositif est plongé dans un électrolyte. Une électrode de référence permettant de polariser l'électrolyte complète le dispositif.

La première génération de composants, réalisée par une méthode puce à puce, a permis de valider le fonctionnement électrique d'un EOSFET en milieu fluide : les dispositifs présentent des caractéristiques électriques de transistors à effet de champ et résistent aux différents traitements chimiques (nettoyages, fonctionnalisation).

La deuxième génération de composants a été majoritairement réalisée sur tranche de silicium de 200 mm de diamètre, chaque tranche comportant plusieurs dizaines de puces. Des étapes inhabituelles en microélectronique classique ont été mises au point : lithographie de nanostructures longues et fines, gravure de couches épaisses de silicium polycristallin (plusieurs centaines de nanomètres) avec arrêt dans 10 nm d'oxyde.

Enfin la troisième génération de composants a été exclusivement réalisée sur tranche de silicium, avec pour objectif d'intégrer l'étape de dépôt de métal contaminant (pour la microélectronique) sur les électrodes de source et de drain. Cette étape, réalisée puce à puce dans la deuxième génération de composants, permet d'assurer la compatibilité du dispositif avec les traitements chimiques. Elle s'opère par un dépôt en surface de métaux comme l'or ou le platine, nobles et inertes chimiquement, mais contaminants en microélectronique. Une filière spéciale a donc été mise au point pour déposer et graver une couche de platine sur nos dispositifs. La possibilité de fabrication à grande échelle de dispositifs EOSFET a ainsi été démontrée.

Afin de tester et caractériser les dispositifs, il est nécessaire de mettre en place une chaîne de mesure électrique et fluïdique adaptée. Les premiers éléments du banc de mesure ont été mis en place grâce aux dispositifs de première génération, il a ensuite été amélioré au fur et à mesure des expériences réalisées.

La chaîne électrique de mesure doit permettre la mesure précise de signaux très faibles, de l'ordre du nanoampère. Deux chaînes de mesure électronique, l'une permettant une excitation continue du dispositif, et l'autre une excitation sinusoïdale, ont été mises au point. Des tests comparatifs n'ont pour le moment pas permis de préférer l'une des deux méthodes de mesure, chacune permettant d'obtenir une ligne de base stable avec un écart-type sur les points mesurés inférieur à 3 nA. La chaîne électrique mise au point permet de plus le multiplexage de la mesure sur plusieurs dispositifs en même temps. Cela est particulièrement utile lors des tests de détection biologique, pour réaliser la mesure en parallèle sur le dispositif qui permet la détection et sur un autre dispositif situé dans le même canal fluïdique servant de témoin négatif.

Le choix du mode de circulation du fluïde sur la puce est crucial. Nous avons en effet montré que les EOSFET sont sensibles à un changement de débit du fluïde en contact avec le canal de conduction. Il est donc important de mettre en place un banc fluïdique adapté, composé d'une pompe dont le débit est précisément contrôlé. Au cours de notre étude, différents types de pompes ont pu être testés. Les pompes péristaltiques, fonctionnant grâce à des galets qui écrasent de façon cyclique le tube qui contient le liquide, provoquent des changements de débit à chaque pression et perturbent la mesure. Les pompes par pression d'air comprimé sont au contraire bien adaptées et ont été préférées pour le montage du banc de mesure.

Une cage de Faraday a été mise en place autour du dispositif afin de prévenir la détection des charges électrostatiques environnantes. Les expérimentations sont de plus effectuées dans l'obscurité pour limiter l'influence de la lumière sur les caractéristiques électriques des EOSFET.

Les caractérisations des dispositifs, réalisées pour la majeure partie sur des dispositifs de deuxième génération, ont permis de mettre en évidence plusieurs paramètres clés à maîtriser pour obtenir une détection d'éléments biologiques.

Nous avons prouvé que les dispositifs sont sensibles à la lumière et aux charges électrostatiques, nous pensons qu'ils le sont aussi à la température et à l'humidité. Il est donc nécessaire de travailler dans un environnement contrôlé.

Nous avons aussi montré que les dispositifs sont sensibles au débit des solutions testées. Une variation de débit de  $0.7 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$  a pu être détectée. Il est donc important que celui-ci soit précisément contrôlé au cours des expériences.

La salinité de la solution testée joue un rôle fondamental. Un changement de salinité provoque un changement de niveau du courant de drain du dispositif. Lors des tests de détection d'éléments biologiques, il est donc important que la salinité due aux éléments biologiques soient négligeable par rapport à la salinité de la solution tampon choisie afin que les sauts observés ne puissent pas être attribués à un changement de salinité de la solution tampon suite à l'introduction des éléments biologiques. Un deuxième effet de la salinité est le phénomène d'écrantage des molécules chimiques ou biologiques. Plus la salinité de la solution est élevée, et plus cet écrantage est important, empêchant la détection des molécules d'intérêt.

Enfin, nous avons montré qu'il est difficile d'obtenir des résultats stables dans le temps. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer cette instabilité :

- la très faible épaisseur d'oxyde présent à la surface du silicium peut facilement s'hydrolyser
- l'électrode de polarisation en or utilisée est une pseudo-électrode de référence dont le potentiel varie au cours du temps
- l'application d'une tension continue pendant de longues durées de temps à cette électrode peut provoquer un phénomène instable d'électrolyse de l'eau



L'ensemble de ces résultats constitue une étude préliminaire des différents paramètres influençant la détection électrique d'événements chimiques et biologiques. Plusieurs optimisations techniques peuvent être envisagés pour réaliser une étude plus approfondie :

- Au niveau de la chaîne de mesure, plusieurs développements sont en cours. Tous les appareils électriques utilisés ont été rassemblés en un seul appareil programmable, ce qui permet une plus grande facilité d'utilisation, et donc, à terme, une meilleure comparaison des différents modes de mesure sur les dispositifs. Il serait par exemple possible de réaliser en même temps une mesure en continu sur un dispositif et une mesure en alternatif sur un autre dispositif contenus dans le même canal fluidique, ce qui n'est pas réalisable à l'heure actuelle. De plus un dispositif de chauffage localisé est en cours de développement afin de tester l'influence de la température sur les EOSFET.
- Il serait intéressant de remplacer la couche de silice présente sur la canal de conduction du dispositif par soit une couche d'un autre diélectrique ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), soit une couche compacte de fonctionnalisation directe sur silicium. De telles couches permettraient d'éviter les problèmes d'hydrolyse et d'instabilité de la silice. Les courants de fuite qui provoquent l'électrolyse de l'eau seraient de plus réduits. On pourrait ainsi certainement améliorer la stabilité des dispositifs.
- Un autre axe d'amélioration possible serait de remplacer l'électrode métallique de polarisation par une réelle électrode de référence (par exemple  $\text{Ag} / \text{AgCl}$ ) afin d'éliminer les problèmes liés à l'utilisation d'une pseudo-référence.

L'étude de cette nouvelle génération de dispositifs permettrait de quantifier précisément les performances de cette méthode de détection. Enfin, un développement intéressant de ce travail serait son intégration sur un laboratoire sur puce et son couplage avec un système de préparation d'échantillon afin d'obtenir des solutions analysables par détection électrique directe (avec un contrôle de la salinité et du pH de la solution tampon).

## **ANNEXES**

---

---

**ANNEXE A – REALISATION DES DISPOSITIFS PUCE A PUCE**

**ANNEXE B – DESIGN DES PUCES HYBRIDES**

**ANNEXE C – FONCTIONNEMENT DU LOCK-IN**

**ANNEXE D – MESURE DE L'ANGLE DE CONTACT**

**ANNEXE E – TECHNIQUE DE REFLEXION MULTIPLE INTERNE**



---

# ANNEXE A REALISATION DES DISPOSITIFS PUCE

## A PUCE

---

### PROTOCOLE DE REALISATION DES DISPOSITIFS PUCE A PUCE

Ces dispositifs sont réalisés à partir de substrat SOI dont la couche de silicium de surface est amincie à 50 nm et dopée fortement (de type n ou p). Les substrats sont ensuite découpés en puces individuelles de 20x20 mm<sup>2</sup>. Une partie du travail de thèse a consisté à réaliser, à partir de ces puces 20x20 mm<sup>2</sup>, des dispositifs dans la salle blanche souple Nanofab de l'Institut Néel selon le protocole suivant.

La puce est nettoyée successivement par ultrasons dans un bain d'acétone, d'éthanol puis d'EDI pendant 5 minutes chacun. Un amorceur d'adhérence est déposé manuellement sur la puce et est étalé grâce à une tournette (vitesse 2700 tpm ; accélération 2000 tpm.s<sup>-1</sup> pendant 30 s). La résine positive S1818 est ensuite déposée et étalée de la même façon (vitesse 4000 tpm ; accélération 4000 tpm.s<sup>-1</sup> pendant 30 s). La puce est ensuite déposée sur une plaque chauffante à 115°C pendant 1 minute, puis insolée pendant 4 minutes à travers un masque en Soda Lime fabriqué par *Deltamask*. L'insolateur utilisé est le modèle *MJB3* de la marque *Karl Suss* dont la longueur d'onde est de 248 nm. La résine est développée dans un bain de Microposit Developer / EDI (1:1) pendant 1 minute.

La puce est plongée dans un bain de HF 1 % pendant 1 minute (afin d'enlever l'oxyde natif présent sur le silicium) et immédiatement positionnée dans l'évaporateur par canon à électrons. Une couche de titane de 5 nm, puis une couche d'or de 100 nm sont successivement déposées à des vitesses respectives d'environ 0.05 nm.s<sup>-1</sup> et 0.12 nm.s<sup>-1</sup>. Le vide dans le sas de dépôt est de 5x10<sup>-7</sup> mbar. La puce est plongée dans un bain ultrasons d'acétone pendant 1 minute afin d'enlever la résine qui n'a pas été développée et le métal qui la recouvre. On définit ainsi les électrodes métalliques de contact sur la puce.

La résine positive PMMA 2 % est déposée manuellement sur la puce et étalée à la tournette (vitesse 4000 tpm ; accélération 4000 tpm.s<sup>-1</sup> pendant 60 s). La puce est ensuite chauffée à 180°C pendant 5 minutes, puis placée dans le MEB / E-beam *LEO 1530*. Avant d'insoler la

résine au niveau du nanofil, il est nécessaire de s'aligner correctement sur les lignes de contact réalisées. Pour cela, des croix d'alignement sont dessinées sur le masque « contacts » et sont recouvertes d'or lors de la première étape. Pour obtenir un alignement efficace, il est nécessaire d'avoir, dans un carré de 500  $\mu\text{m}$  de côté centré autour du nanofil, deux croix d'alignement qui sont en fait des rectangles d'environ 40  $\mu\text{m}$  sur 5  $\mu\text{m}$ , l'un dirigé horizontalement, l'autre verticalement ; de même dans un carré de 100  $\mu\text{m}$  centré autour du nanofil, deux autres croix d'alignement sont nécessaires, de 20  $\mu\text{m}$  sur 5  $\mu\text{m}$  (Figure A-1).

La stratégie d'alignement est la suivante :

- Un premier alignement mécanique grossier est effectué grâce à des croix d'alignement situées aux quatre coins de la puce.
- Le faisceau du MEB est déplacé pour atteindre le milieu du nanofil, à un grossissement permettant d'avoir une fenêtre de 500  $\mu\text{m}$ .
- Sans changer de grossissement et sans se déplacer, le logiciel impose au MEB de balayer les deux rectangles d'alignement, l'un verticalement, l'autre horizontalement.
- Le logiciel connaissant exactement les positions des croix d'alignement par rapport au centre du nanofil, un déplacement en x et y s'en suit pour recentrer plus précisément le faisceau en gardant le même grossissement.
- Le grossissement est alors augmenté pour avoir une fenêtre de 100  $\mu\text{m}$ , sans se déplacer.
- Les deux plus petits rectangles d'alignement sont balayés par le faisceau comme précédemment, ce qui permet de réajuster à nouveau la position du faisceau au centre du nanofil.
- L'insolation du nanofil peut alors commencer, à un grossissement permettant d'avoir une fenêtre de 100  $\mu\text{m}$ . Il est important d'insoler le nanofil avec le plus fort grossissement possible, afin d'obtenir la meilleure résolution possible.

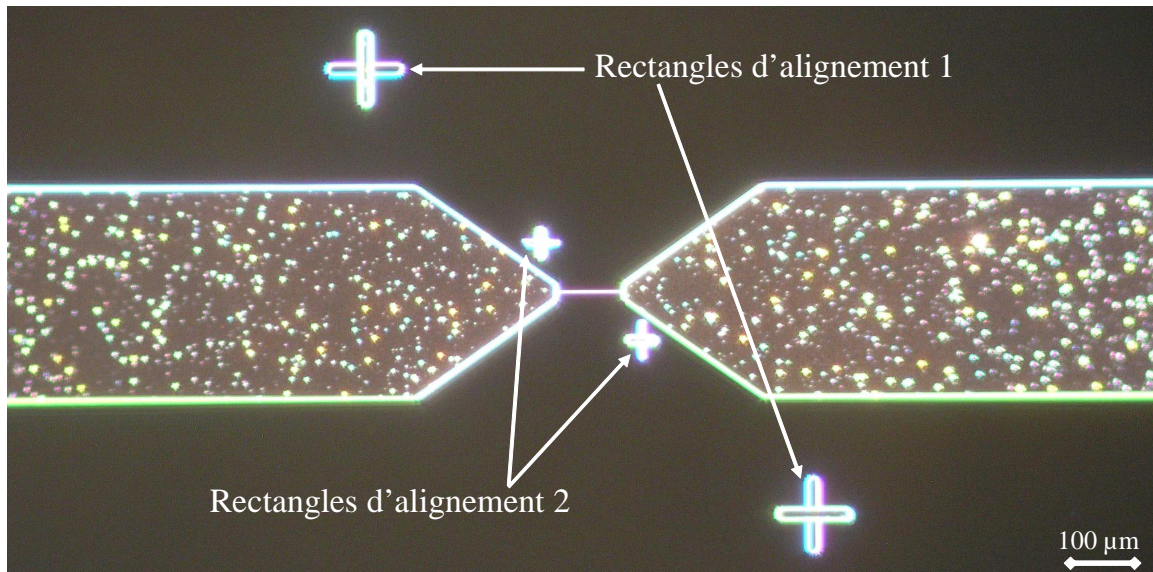


Figure A-1 : Photo optique en champ sombre des croix d'alignement utilisées

Suite à l'insolation, la puce est plongée dans un mélange de MIBK : isopropanol = 1 : 3 pendant 30 secondes pour développer la résine, rincée dans un bain d'isopropanol, puis à nouveau placée dans l'évaporateur par canon à électrons. Une couche de 15 nm d'aluminium est déposée à la vitesse de  $0.15 \text{ nm.s}^{-1}$ . La puce est ensuite plongée dans un bain de NMP chauffé à  $80^\circ\text{C}$  pendant 2 heures pour réaliser le lift-off d'aluminium. Suite à cette étape, il ne reste de l'aluminium qu'à l'endroit du futur nanofil.

Le silicium à nu est gravé grâce à une gravure ionique réactive dans un bâti *Plassys*. Du gaz  $\text{SF}_6$  à un débit de  $20 \text{ cm}^3.\text{min}^{-1}$  est introduit dans l'enceinte et est transformé en un plasma réactif par l'intermédiaire d'une alimentation RF de puissance 20 W. Le plasma réagit avec la surface de l'échantillon et les produits de réaction sont extraits par le système de pompage. La pression est maintenue à  $2 \times 10^{-2}$  mbar et la température à  $15^\circ\text{C}$  pendant tout le procédé. La réaction de gravure est suivie par laser et dure environ 30 secondes. Il ne reste ensuite plus qu'à graver chimiquement l'aluminium dans un bain de *Microposit MF319 Developer* chauffé à  $70^\circ\text{C}$  pour obtenir le nanofil de silicium. Il est possible d'obtenir, par cette méthode, des nanofils de 50 nm de largeur.

La puce est nettoyée dans un bain ultrasons successivement d'acétone et d'éthanol pendant 5 minutes avant d'être rincée à l'EDI. La résine positive *PI2723* (de *HD Microsystems*) est déposée manuellement et étalée à la tournette (vitesse : 5500 tpm ; accélération  $5000 \text{ tpm.s}^{-1}$  pendant 30 s). La puce est ensuite chauffée à  $75^\circ\text{C}$  sur plaque chauffante pendant 5 minutes avant d'être insolée pendant 10 minutes à travers un masque en Soda Lime fabriqué par *Deltamask*.

La puce est développée et rincée en étant plongée successivement 30 secondes dans un bain de *DE6180*, 7 secondes dans un bain de *DE6180* : *RI9180* = 1 : 1, et enfin 20 secondes dans un bain de *RI9180*. Les solutions de développement et rinçage sont fabriquées par *HD Microsystems*. Cela permet d'enlever la résine sur les plots de reprise de contact, ainsi que sur les nanofils. La procédure de recuit de la puce, nécessaire pour rendre la couche de passivation résistante aux produits chimiques utilisés, a d'abord lieu à l'air, puis sous ambiance inerte (argon) (Figure A-2).

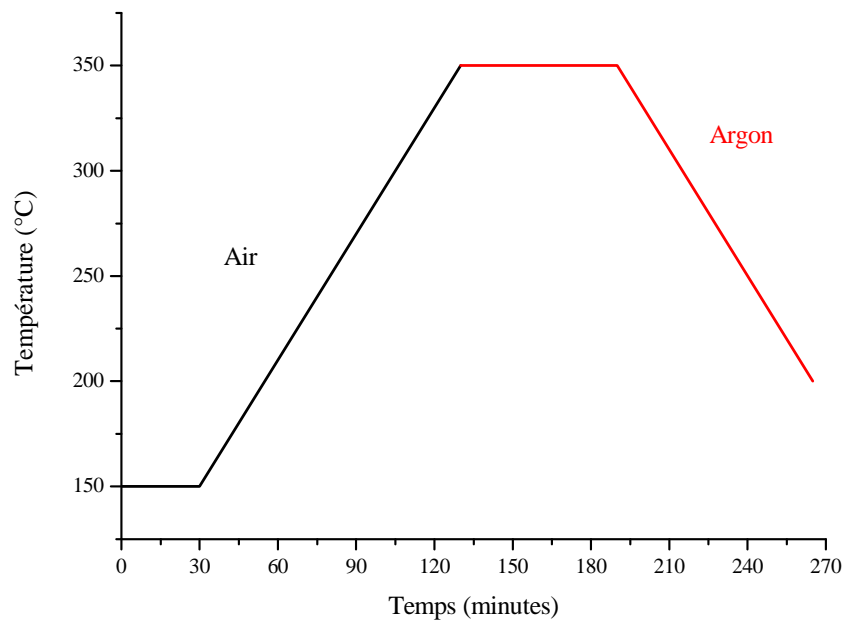


Figure A-2 : Procédure de recuit de la résine PI2723

## DESIGN DES PUCES

Le travail de thèse a consisté à concevoir les dessins des masques utilisés pour la fabrication des dispositifs puce à puce, ainsi qu'à les dessiner sur le logiciel spécifique *CléWin*. Les masques sont ensuite fabriqués par la société *Karl Suss*. Trois générations successives de masques ont été dessinés afin d'en améliorer le design en :

- Augmentant la longueur des nanofils pour ne pas avoir de problèmes liés à l'alignement lors de l'ouverture de la couche de passivation
- Augmentant le nombre de nanofils en ayant une source commune pour plusieurs nanofils
- Augmentant le nombre de canaux fluidiques réalisables à l'étape de packaging pour augmenter le nombre de tests possibles.

La Figure A-3 représente la troisième génération du masque utilisé pour définir la zone active.

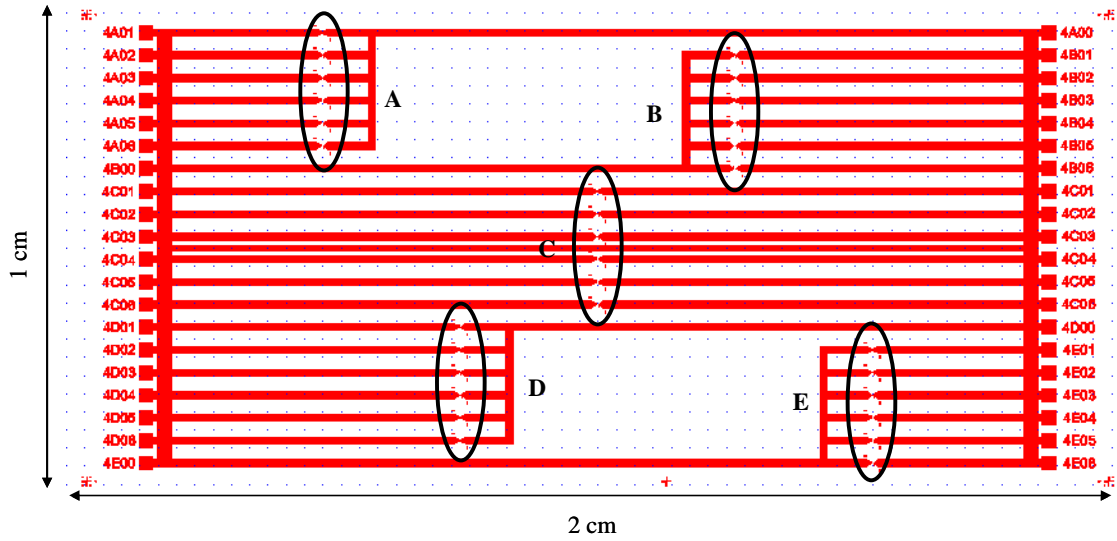


Figure A-3 : Masque de la zone active (en rouge)

On distingue sur ce dessin cinq groupements de 6 nanofils chacun. Les nanofils des groupements A, B, D et E ont une source commune et un drain pour chaque nanofil. Dans chaque groupement, 3 nanofils ont une longueur de 25  $\mu\text{m}$ , et 3 autres nanofils ont une longueur de 50  $\mu\text{m}$ . Les largeurs des nanofils sont comprises entre 50 et 500 nm et changent selon les puces. Ce design permet de créer 5 canaux fluidiques différents lors de l'étape de packaging, comme représenté sur la Figure A-4.

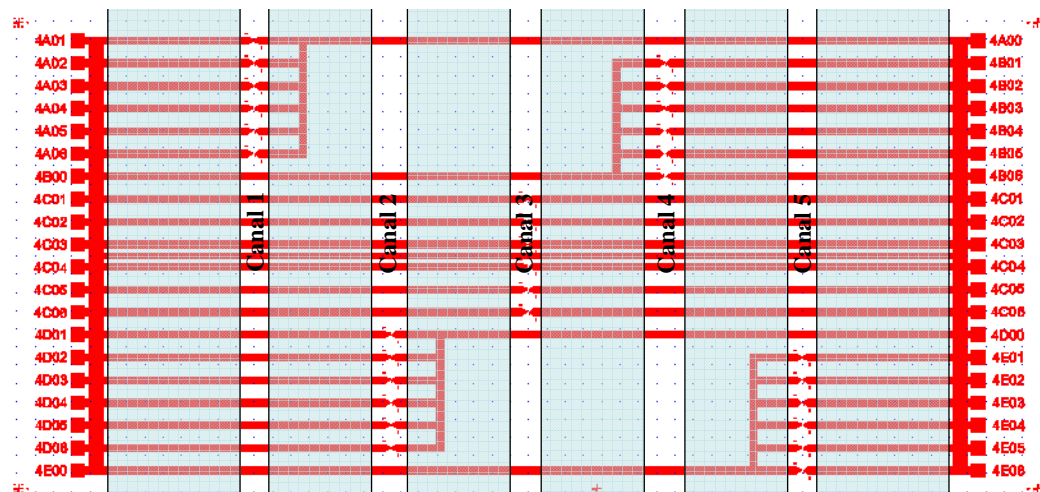


Figure A-4 : Packaging de la puce





## ANNEXE B DESIGN DES PUCES HYBRIDES

Le travail de thèse a consisté à concevoir les dessins des masques utilisés pour la fabrication des dispositifs sur wafer de 200 mm, et à superviser leur définition sur le logiciel spécifique *Cadence* par le Département Conception et Intégration Système (DCIS) du CEA / LETI. Les masques sont ensuite fabriqués par la société *Photronics*. La Figure B-1 représente le masque utilisé pour définir la zone active.

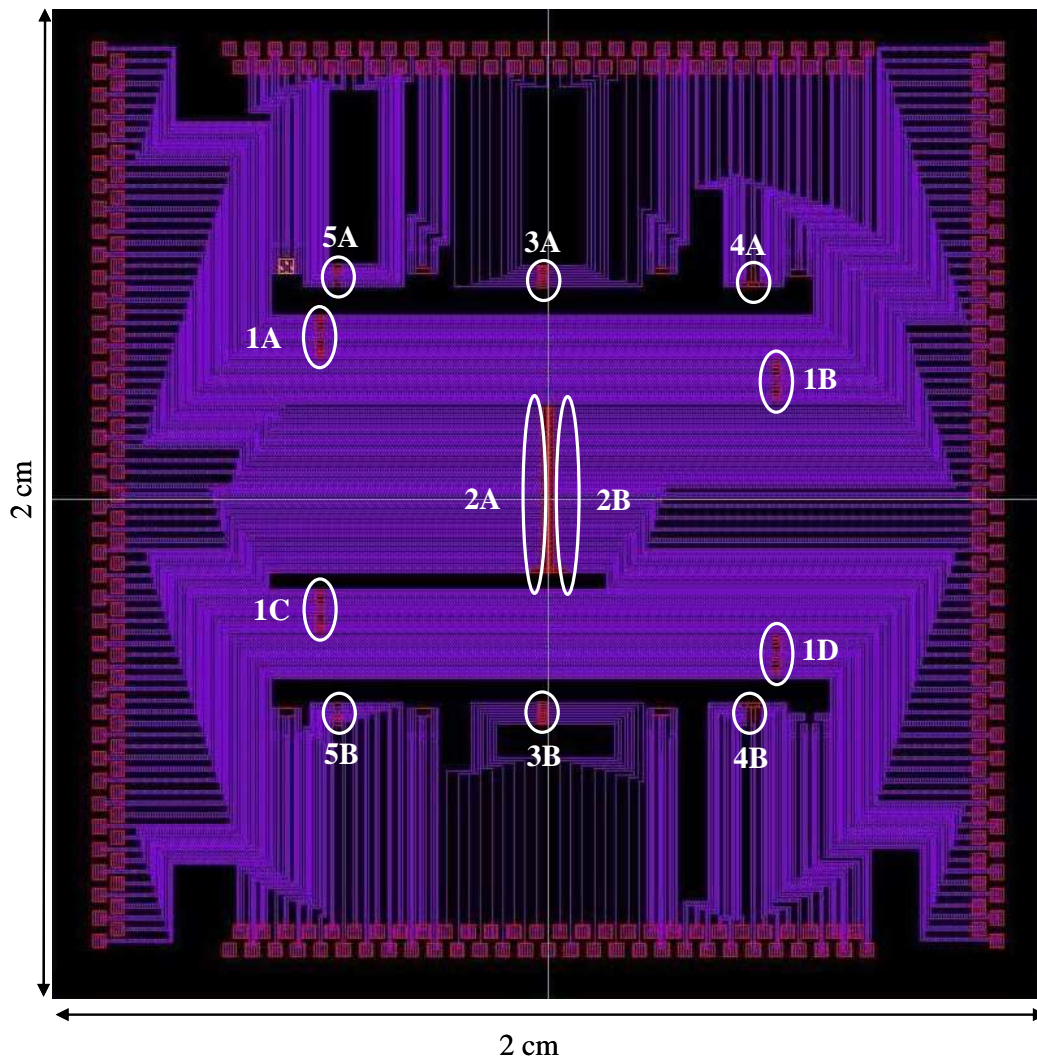


Figure B-1 : Dessin du masque zone active

Quatre groupements de 11 nanofils chacun sont repérés sur le dessin du masque. Les groupements 1A et 1C contiennent des nanofils de même dimension, ainsi que les groupements 1B et 1D. Les groupements 2A et 2B contiennent chacun 15 nanofils de mêmes dimensions. Des essais de dispositifs dont le canal de conduction présente une longueur très petite devant leur largeur sont réalisés sur les groupements 3A et 3B afin de valider certains points technologiques non utilisés dans cette étude. Les groupements 4A/4B et 5A/5B comportent respectivement 4 et 5 nanofils chacun. Ce sont les groupements qui présentent les dimensions les plus critiques au niveau de la largeur du nanofil désirée. Les dimensions des nanofils des groupements 1A à 1D (qui ont été les nanofils utilisés dans cette étude) sont résumées dans le Tableau B-1.

1A / 1C			1B / 1D		
Fil	Z (µm)	W (nm)	Fil	Z (µm)	W (nm)
1A01 / 1C01	8	40	1B01 / 1D01	0.5	280
1A02 / 1C02	8	100	1B02 / 1D02	2	40
1A03 / 1C03	8	160	1B03 / 1D03	2	70
1A04 / 1C04	8	280	1B04 / 1D04	2	100
1A05 / 1C05	4	40	1B05 / 1D05	2	130
1A06 / 1C06	4	100	1B06 / 1D06	2	160
1A07 / 1C07	4	160	1B07 / 1D07	2	280
1A08 / 1C08	4	280	1B08 / 1D08	2	500
1A09 / 1C09	0.5	40	1B09 / 1D09	2	1000
1A10 / 1C10	0.5	100	1B10 / 1D10	2	10000
1A11 / 1C11	0.5	160	1B11 / 1D11	2	70000

**Tableau B-1 : Dimensions des nanofils des groupements 1A, 1B, 1C et 1D**

Le design imaginé pour cette puce permet une utilisation dans deux sens différents selon les canaux fluidiques créés lors de l'étape de packaging (Figure B-2). Le premier sens de packaging permet de créer 3 canaux fluidiques :

- le premier pour tester les nanofils des groupements 1A et 1C
- le deuxième pour tester les nanofils des groupements 2A et 2B
- le troisième pour tester les nanofils des groupements 1B et 1D

Le deuxième sens de packaging permet quant à lui de créer 2 canaux fluidiques :

- le premier pour tester les nanofils des groupements 3A, 4A et 5A
- le deuxième pour tester les nanofils des groupements 3B, 4B et 5B

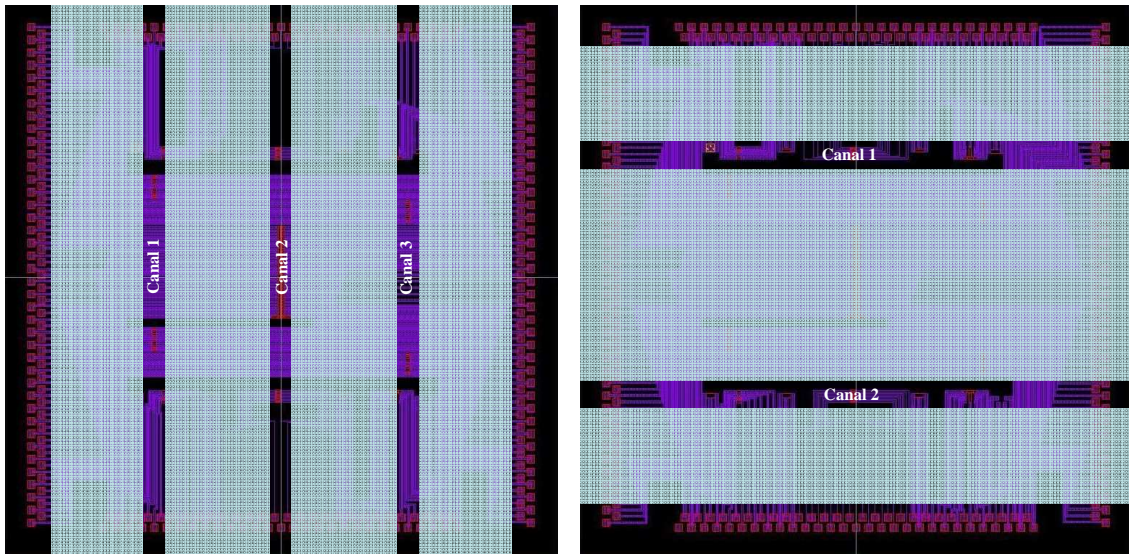


Figure B-2 : Deux choix de packaging de la puce



## ANNEXE C FONCTIONNEMENT DU LOCK-IN

Le lock-in *SR830* utilisé dans cette étude permet de mesurer de très faibles signaux sinusoïdaux, jusqu'au nanovolt. Des mesures précises peuvent être réalisées même si le signal est pollué par du bruit. Ces amplificateurs utilisent une technique appelée détection synchrone (ou phase sensitive detection) qui restitue en sortie la composante du signal qui est à une fréquence de référence et une phase données. Les signaux des bruits à des fréquences autres que celle de référence sont rejetées par un filtre et n'affectent pas la mesure.

Concrètement, le lock-in génère un propre signal sinusoïdal de référence :

$$V_{ref} \sin(\omega_{ref} t + \theta_{ref}) \quad (C-1)$$

Imaginons que l'on cherche à détecter un signal de la forme suivante :

$$V_{sig} \sin(\omega_{sig} t + \theta_{sig}) \quad (C-2)$$

Le lock-in permet, par l'intermédiaire du phase sensitive detector (ou PSD), de multiplier le signal à mesurer par le signal de référence du lock-in. On obtient alors :

$$V_{PSD1} = \frac{1}{2} V_{sig} V_{ref} \begin{bmatrix} \cos\left(\left(\omega_{sig} - \omega_{ref}\right)t + \theta_{sig} - \theta_{ref}\right) \\ -\cos\left(\left(\omega_{sig} + \omega_{ref}\right)t + \theta_{sig} + \theta_{ref}\right) \end{bmatrix} \quad (C-3)$$

La sortie du PSD est composée de deux signaux sinusoïdaux, l'un à la fréquence  $(\omega_{sig} - \omega_{ref})$  et l'autre à la fréquence  $(\omega_{sig} + \omega_{ref})$ .

Si la référence interne du lock-in est synchronisée à la référence du signal à mesurer, c'est-à-dire si  $\omega_{sig}$  est égal à  $\omega_{ref}$ , on obtient alors en sortie du PSD un signal continu, et un signal sinusoïdal à la fréquence  $2\omega_{ref}$ . Suite au passage de ce signal par un filtre passe-bas, on obtient :

$$V_{PSD1} = \frac{1}{2} V_{sig} V_{ref} \cos(\theta_{sig} - \theta_{ref}) \quad (C-4)$$

Imaginons que le lock-in contienne un deuxième PSD qui multiplie le signal à détecter par le signal de référence du lock-in décalé de  $90^\circ$ , c'est-à-dire par  $V_{ref} \sin(\omega_{ref} t + \theta_{ref} + 90)$ . Après un passage par un filtre passe-bas, on obtient :

$$V_{PSD2} = \frac{1}{2} V_{sig} V_{ref} \sin(\theta_{sig} - \theta_{ref}) \quad (C-5)$$

On obtient alors en sortie du lock-in deux signaux :

$$X = V_{sig} \cos(\theta_m) \propto V_{PSD1} \quad (C-6)$$

$$Y = V_{sig} \sin(\theta_m) \propto V_{PSD2} \quad (C-7)$$

où  $\theta_m$  est le déphasage entre le signal mesuré et le signal de référence.

On peut aussi choisir d'afficher directement en sortie du lock-in l'amplitude et le déphasage du signal mesuré :

$$R_m = \sqrt{X^2 + Y^2} = V_{sig} \quad (C-8)$$

$$\theta_m = \tan^{-1}(Y/X) \quad (C-9)$$

Dans notre cas, l'électrode de drain du dispositif est directement polarisée par le lock-in à une fréquence donnée et à une phase nulle. La référence du lock-in est synchronisée sur le signal de polarisation de l'électrode de drain. Le courant de drain à mesurer en sortie du dispositif est amplifié par l'amplicateur de courant *Keithley 428*, ce qui permet de mesurer en entrée du lock-in une tension sinusoïdale de même fréquence que la fréquence d'excitation de l'électrode de drain choisie. Le déphasage du signal mesuré par rapport au signal imposé au drain permet de savoir si le dispositif est en régime passant (c'est le cas si  $V_G > V_T$ , le dispositif est alors conducteur et peut être assimilé à une résistance, et ainsi le déphasage  $\theta_m$  est quasiment nul) ou bloqué (c'est le cas si  $V_G < V_T$ , le dispositif ne conduit pas et  $\theta_m$  est environ égal à  $90^\circ$ ).

## ANNEXE D MESURE DE L'ANGLE DE CONTACT

Lorsqu'une goutte de liquide est déposée sur une surface solide plane, l'angle entre la tangente à la goutte au point de contact et la surface solide est appelé angle de contact ( $\theta_c$ ). Il rend compte de l'aptitude d'un liquide à s'étaler sur une surface et dépend des interactions entre le liquide et le solide. Si on utilise l'eau comme liquide de mesure d'angle de contact, on peut déduire le caractère hydrophobe (faible énergie de surface, angle de contact supérieur à  $90^\circ$ ) ou hydrophile (grande énergie de surface, angle de contact inférieur à  $90^\circ$ ) de la surface. La procédure générale consiste à déposer une goutte de liquide (L) sur la surface du solide (S) à caractériser puis à mesurer l'angle  $\theta$  défini par la surface de l'échantillon et de la goutte. Cet angle est mesuré, par convention, à l'intérieur du liquide comme représenté sur la Figure D-1.

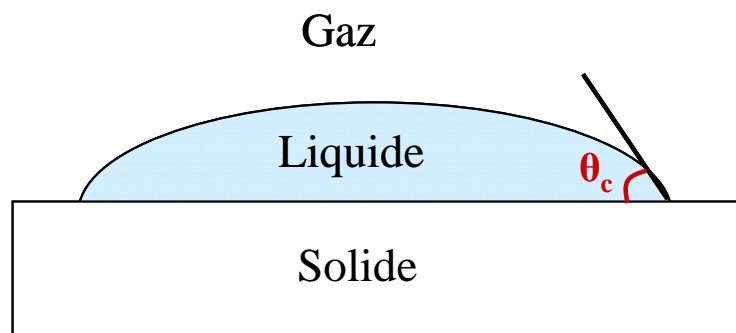


Figure D-1 : Représentation schématique de l'angle de contact

L'équation de Young décrit l'angle de contact statique  $\theta_c$  d'une goutte sur une surface idéale, c'est-à-dire plane et homogène. L'angle de contact est lié à la tension superficielle du liquide ( $\gamma_L$ ), la tension interfaciale entre le liquide et le solide ( $\gamma_{LS}$ ) et l'énergie de surface du solide ( $\gamma_S$ ):

$$\gamma_S = \gamma_{LS} + \gamma_L \cos \theta_c \quad (D-1)$$



L'appareil utilisé lors de ces travaux est un *Digidrop* de *GBX Instrument*. Afin d'assurer une bonne reproductibilité de la mesure, certains paramètres doivent être contrôlés :

- les conditions extérieures : les mesures sont réalisées en salle blanche,
- la propreté de la surface,
- la taille de la goutte (1 à 2  $\mu\text{L}$ ) pour pouvoir négliger la gravité,
- l'acquisition 500 ms après le dépôt.

---

## ANNEXE E    TECHNIQUE DE REFLEXION MULTIPLE INTERNE

---

La technique de FTIR (Fourier Transformed InfraRed spectroscopy) est une technique d'analyse basée sur l'interaction d'un rayonnement infrarouge avec les liaisons interatomiques. L'avantage de la technique MIR-FTIR (Multiple Internal Reflexion FTIR) réside dans sa configuration optique plus sensible que la transmission simple, notamment dans le cas d'une géométrie à deux prismes. Ce système permet d'atteindre une sensibilité d'un centième de monocouche ( $\sim 10^{12}$  liaisons.cm<sup>-1</sup>) [259]. Les principaux avantages et spécificités de cette géométrie sont :

- sa facilité et sa rapidité d'utilisation (aucun alignement requis) ;
- sa versatilité. Des études similaires peuvent être effectuées sur n'importe quelle taille d'échantillon, sans modifier l'alignement du banc optique ;
- sa modularité. Il est en effet possible de changer le nombre de réflexions à l'intérieur de l'échantillon, en changeant la distance entre les prismes (détermination possible des coefficients absolus d'absorption IR sans avoir recours à une référence).

Dans ce dispositif, décrit sur la Figure E-1, le faisceau infrarouge est introduit dans l'échantillon de silicium poli double face au moyen d'un prisme de couplage. Il se réfléchit ensuite sur les faces internes de l'échantillon un grand nombre de fois. Enfin, le rayon est collecté dans un autre prisme de couplage et envoyé vers le détecteur. A chaque réflexion, l'information apportée par les absorptions des espèces présentes en surface est accumulée, ce qui permet d'améliorer la sensibilité.

Dans le cadre de cette étude, les mesures ont été effectuées sur un spectromètre *Brucker IFS55* équipé d'un détecteur HgCdTe large bande, ayant une résolution de 4 cm<sup>-1</sup>. Les mesures ont été obtenues en 200 acquisitions de spectres pour chaque analyse. Les prismes de couplage présentent un angle utile de 30-32° et sont séparés d'une distance variable permettant de définir la distance de propagation  $Z_p$ . Le nombre de réflexions  $W$  peut être calculé selon la relation suivante :

$$W = \frac{Z_p}{e \tan \theta} \quad (E-1)$$

avec  $Z_p$  la distance entre les prismes,  $e$  l'épaisseur du substrat (0.5 mm) et  $\theta$  l'angle dans le prisme ( $32^\circ$ ).

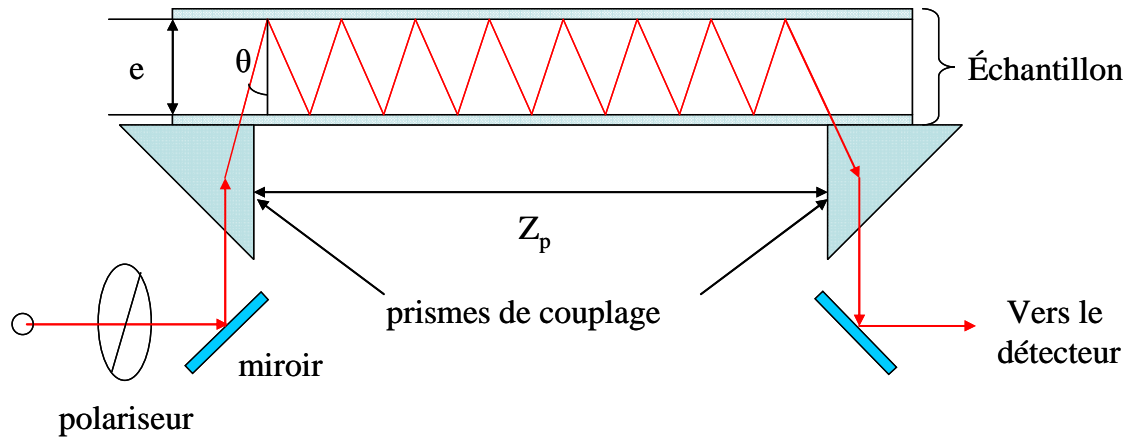


Figure E-1 : Représentation schématique du dispositif MIR

Pour les échantillons de type lame de microscope (15 mm x 75 mm) avec une distance de propagation  $Z_p$  de 65 mm, le nombre de réflexion est d'environ 200. Lors du parcours dans l'échantillon, il faut minimiser les pertes d'intensité. La rugosité des faces de l'échantillon doit donc être la plus faible possible pour limiter les pertes de diffusion de la lumière aux interfaces. La profondeur de pénétration est de l'ordre du micromètre.

Comme décrit par Rochat, l'absorbance d'une liaison chimique X est exprimée par [279]:

$$ABS_X = K[X] + cste \quad \text{où} \quad K = (\gamma \sigma_X Z_p) / (2.3e \tan \theta) \quad (E-2)$$

avec  $[X]$  la concentration surfacique de l'espèce X (en molécules.cm<sup>-2</sup>),  $\gamma$  le coefficient de sensibilité de l'instrument et  $\sigma_X$  la section efficace d'absorption de l'espèce X (en cm<sup>2</sup>).

L'absorbance obtenue est donc linéairement dépendante de la distance  $Z_p$ , et lorsque la section efficace de l'espèce est disponible dans la littérature, la détermination quantitative de l'espèce est possible.

Toutes les mesures sont réalisées par rapport à un échantillon de référence (même matériau, mêmes lavages, mais sans fonctionnalisation), qui est soustrait lors du traitement informatique du signal.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] S. C. Terry, "Ph.D. thesis," Standford, 1975.
- [2] S. C. Terry, J. H. Jerman, and J. B. Angell, "A gas chromatographic air analyzer fabricated on a silicon wafer," *Ieee Transactions on Electron Devices*, vol. 26, pp. 1880-1886, 1979.
- [3] A. Manz, N. Graber, and H. M. Widmer, "Miniaturized Total Chemical-Analysis Systems - a Novel Concept for Chemical Sensing," *Sensors and Actuators B-Chemical*, vol. 1, pp. 244-248, Jan 1990.
- [4] D. R. Reyes, D. Iossifidis, P. A. Auroux, and A. Manz, "Micro total analysis systems. 1. Introduction, theory, and technology," *Analytical Chemistry*, vol. 74, pp. 2623-2636, Jun 15 2002.
- [5] P. A. Auroux, D. Iossifidis, D. R. Reyes, and A. Manz, "Micro total analysis systems. 2. Analytical standard operations and applications," *Analytical Chemistry*, vol. 74, pp. 2637-2652, Jun 15 2002.
- [6] T. Vilknér, D. Janásek, and A. Manz, "Micro total analysis systems. Recent developments," *Analytical Chemistry*, vol. 76, pp. 3373-3385, Jun 15 2004.
- [7] P. S. Dittrich, K. Tachikawa, and A. Manz, "Micro total analysis systems. Latest advancements and trends," *Analytical Chemistry*, vol. 78, pp. 3887-3907, Jun 15 2006.
- [8] J. West, M. Becker, S. Tombrink, and A. Manz, "Micro total analysis systems: Latest achievements," *Analytical Chemistry*, vol. 80, pp. 4403-4419, Jun 15 2008.
- [9] "<http://www.isiknowledge.com>."
- [10] P. Connolly, "Clinical diagnostics opportunities for biosensors and bioelectronics," *Biosensors & Bioelectronics*, vol. 10, pp. 1-6, 1995.
- [11] A. J. Tudos, G. A. J. Besselink, and R. B. M. Schasfoort, "Trends in miniaturized total analysis systems for point-of-care testing in clinical chemistry," *Lab on a Chip*, vol. 1, pp. 83-95, 2001.
- [12] N. S. Hobson, I. Tothill, and A. P. F. Turner, "Microbial detection," *Biosensors & Bioelectronics*, vol. 11, pp. 455-477, 1996.
- [13] F. E. Ahmed, "Detection of genetically modified organisms in foods," *Trends in Biotechnology*, vol. 20, pp. 215-223, May 2002.
- [14] S. D. Richardson and T. A. Ternes, "Water analysis: Emerging contaminants and current issues," *Analytical Chemistry*, vol. 77, pp. 3807-3838, Jun 15 2005.
- [15] S. D. Richardson, "Water analysis: Emerging contaminants and current issues," *Analytical Chemistry*, vol. 79, pp. 4295-4323, Jun 15 2007.
- [16] C. J. Koester, S. L. Simonich, and B. K. Esser, "Environmental analysis," *Analytical Chemistry*, vol. 75, pp. 2813-2829, Jun 15 2003.
- [17] C. J. Koester and A. Moulik, "Trends in environmental analysis," *Analytical Chemistry*, vol. 77, pp. 3737-3754, Jun 15 2005.
- [18] S. S. Iqbal, M. W. Mayo, J. G. Bruno, B. V. Bronk, C. A. Batt, and J. P. Chambers, "A review of molecular recognition technologies for detection of biological threat agents," *Biosensors & Bioelectronics*, vol. 15, pp. 549-578, 2000.

- [19] J. Wang, "Microchip devices for detecting terrorist weapons," *Analytica Chimica Acta*, vol. 507, pp. 3-10, Apr 1 2004.
- [20] A. M. Skelley, J. R. Scherer, A. D. Aubrey, W. H. Grover, R. H. C. Ivester, P. Ehrenfreund, F. J. Grunthaler, J. L. Bada, and R. A. Mathies, "Development and evaluation of a microdevice for amino acid biomarker detection and analysis on Mars," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 102, pp. 1041-1046, Jan 25 2005.
- [21] J. Lichtenberg, N. F. de Rooij, and E. Verpoorte, "Sample pretreatment on microfabricated devices," *Talanta*, vol. 56, pp. 233-266, Feb 11 2002.
- [22] G. Kittilsland, G. Stemme, and B. Norden, "A Submicron Particle Filter in Silicon," *Sensors and Actuators a-Physical*, vol. 23, pp. 904-907, Apr 1990.
- [23] T. A. Desai, D. J. Hansford, L. Leoni, M. Essenpreis, and M. Ferrari, "Nanoporous anti-fouling silicon membranes for biosensor applications," *Biosensors & Bioelectronics*, vol. 15, pp. 453-462, Nov 2000.
- [24] S. C. Jacobson and J. M. Ramsey, "Microchip Electrophoresis with Sample Stacking," *Electrophoresis*, vol. 16, pp. 481-486, Apr 1995.
- [25] R. D. Oleschuk, L. L. Shultz-Lockyear, Y. B. Ning, and D. J. Harrison, "Trapping of bead-based reagents within microfluidic systems: On-chip solid-phase extraction and electrochromatography," *Analytical Chemistry*, vol. 72, pp. 585-590, Feb 1 2000.
- [26] P. Wilding, M. A. Shoffner, and L. J. Kricka, "Pcr in a Silicon Microstructure," *Clinical Chemistry*, vol. 40, pp. 1815-1818, Sep 1994.
- [27] J. W. Hong, T. Fujii, M. Seki, T. Yamamoto, and I. Endo, "Integration of gene amplification and capillary gel electrophoresis on a polydimethylsiloxane-glass hybrid microchip," *Electrophoresis*, vol. 22, pp. 328-333, Jan 2001.
- [28] S. C. Jacobson and J. M. Ramsey, "Integrated microdevice for DNA restriction fragment analysis," *Analytical Chemistry*, vol. 68, pp. 720-723, Mar 1 1996.
- [29] N. Gottschlich, C. T. Culbertson, T. E. McKnight, S. C. Jacobson, and J. M. Ramsey, "Integrated microchip-device for the digestion, separation and postcolumn labeling of proteins and peptides," *Journal of Chromatography B*, vol. 745, pp. 243-249, Aug 4 2000.
- [30] S. C. Jacobson, L. B. Koutny, R. Hergenroder, A. W. Moore, and J. M. Ramsey, "Microchip Capillary Electrophoresis with an Integrated Postcolumn Reactor," *Analytical Chemistry*, vol. 66, pp. 3472-3476, Oct 15 1994.
- [31] J. C. T. Eijkel, A. Prak, S. Cowen, D. H. Craston, and A. Manz, "Micromachined heated chemical reactor for pre-column derivatisation," *Journal of Chromatography A*, vol. 815, pp. 265-271, Jul 31 1998.
- [32] E. M. Southern, "Detection of Specific Sequences among DNA Fragments Separated by Gel-Electrophoresis," *Journal of Molecular Biology*, vol. 98, pp. 503-&, 1975.
- [33] L. R. Zeph, X. Y. Lin, and G. Stotzky, "Comparison of 3 Nonradioactive and a Radioactive DNA Probe for the Detection of Target DNA by DNA Hybridization," *Current Microbiology*, vol. 22, pp. 79-84, Feb 1991.
- [34] P. Zwadyk, R. C. Cooksey, and C. Thornsberry, "Commercial Detection Methods for Biotinylated Gene Probes - Comparison with P-32 Labeled DNA Probes," *Current Microbiology*, vol. 14, pp. 95-100, 1986.
- [35] T. M. Herne and M. J. Tarlov, "Characterization of DNA probes immobilized on gold surfaces," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 119, pp. 8916-8920, Sep 24 1997.
- [36] M. Eggers, M. Hogan, R. K. Reich, J. Lamture, D. Ehrlich, M. Hollis, B. Kosicki, T. Powdrill, K. Beattie, S. Smith, R. Varma, R. Gangadharan, A. Mallik, B. Burke, and D. Wallace, "A Microchip for Quantitative Detection of Molecules Utilizing

- Luminescent and Radioisotope Reporter Groups," *Biotechniques*, vol. 17, pp. 516-&, Sep 1994.
- [37] J. B. Lamture, K. L. Beattie, B. E. Burke, M. D. Eggers, D. J. Ehrlich, R. Fowler, M. A. Hollis, B. B. Kosicki, R. K. Reich, S. R. Smith, R. S. Varma, and M. E. Hogan, "Direct-Detection of Nucleic-Acid Hybridization on the Surface of a Charge-Coupled-Device," *Nucleic Acids Research*, vol. 22, pp. 2121-2125, Jun 11 1994.
- [38] D. W. Luebbers and N. Opitz, "Optical fluorescence sensors for continuous measurement of chemical concentration in biological systems," *sensors and Actuators* vol. 4, pp. 641-654, 1983.
- [39] J. I. Peterson and G. G. Vurek, "Fiber-Optic Sensors for Biomedical Applications," *Science*, vol. 224, pp. 123-127, 1984.
- [40] S. M. Borisov and O. S. Wolfbeis, "Optical biosensors," *Chemical Reviews*, vol. 108, pp. 423-461, Feb 2008.
- [41] B. G. Healey, R. S. Matson, and D. R. Walt, "Fiberoptic DNA sensor array capable of detecting point mutations," *Analytical Biochemistry*, vol. 251, pp. 270-279, Sep 5 1997.
- [42] M. Bowden, L. N. Song, and D. R. Walt, "Development of a microfluidic platform with an optical imaging microarray capable of attomolar target DNA detection," *Analytical Chemistry*, vol. 77, pp. 5583-5588, Sep 1 2005.
- [43] D. Gerion, F. Q. Chen, B. Kannan, A. H. Fu, W. J. Parak, D. J. Chen, A. Majumdar, and A. P. Alivisatos, "Room-temperature single-nucleotide polymorphism and multiallele DNA detection using fluorescent nanocrystals and microarrays," *Analytical Chemistry*, vol. 75, pp. 4766-4772, Sep 15 2003.
- [44] A. P. Abel, M. G. Weller, G. L. Duveneck, M. Ehrat, and H. M. Widmer, "Fiber-optic evanescent wave biosensor for the detection of oligonucleotides," *Analytical Chemistry*, vol. 68, pp. 2905-2912, Sep 1 1996.
- [45] L. N. Song, S. Ahn, and D. R. Walt, "Fiber-optic microsphere-based arrays for multiplexed biological warfare agent detection," *Analytical Chemistry*, vol. 78, pp. 1023-1033, Feb 15 2006.
- [46] <http://affymetrix.com>.
- [47] <http://www.chem.agilent.com>.
- [48] <http://amersham.com>.
- [49] H. Marsoner, H. Karpf, and A. Leitner, "Sensor element for determination of concentration of substances," US: 4755667, 1988.
- [50] G. N. Lu, M. B. Chouikha, G. Sou, and M. Sedjil, "Colour detection using a buried double p-n junction structure implemented in the CMOS process," *Electronics Letters*, vol. 32, pp. 594-596, Mar 14 1996.
- [51] T. Vo-Dinh, J. P. Alarie, N. Isola, D. Landis, A. L. Wintenberg, and M. N. Ericson, "DNA biochip using a phototransistor integrated circuit," *Analytical Chemistry*, vol. 71, pp. 358-363, Jan 15 1999.
- [52] V. Namasivayam, R. S. Lin, B. Johnson, S. Brahmasandra, Z. Razzacki, D. T. Burke, and M. A. Burns, "Advances in on-chip photodetection for applications in miniaturized genetic analysis systems," *Journal of Micromechanics and Microengineering*, vol. 14, pp. 81-90, Jan 2004.
- [53] J. A. Chediak, Z. S. Luo, J. G. Seo, N. Cheung, L. P. Lee, and T. D. Sands, "Heterogeneous integration of CdS filters with GaN LEDs for fluorescence detection microsystems," *Sensors and Actuators a-Physical*, vol. 111, pp. 1-7, Mar 1 2004.
- [54] K. Misiakos, S. E. Kakabakos, P. S. Petrou, and H. H. Ruf, "A monolithic silicon optoelectronic transducer as a real-time affinity biosensor," *Analytical Chemistry*, vol. 76, pp. 1366-1373, Mar 1 2004.

- [55] E. Mavrogiannopoulou, P. S. Petrou, S. E. Kakabakos, and K. Misiakos, "Real-time detection of BRCA1 gene mutations using a monolithic silicon optocoupler array," *Biosensors & Bioelectronics*, vol. 24, pp. 1341-1347, Jan 1 2009.
- [56] R. Elghanian, J. J. Storhoff, R. C. Mucic, R. L. Letsinger, and C. A. Mirkin, "Selective colorimetric detection of polynucleotides based on the distance-dependent optical properties of gold nanoparticles," *Science*, vol. 277, pp. 1078-1081, Aug 22 1997.
- [57] J. J. Storhoff, A. A. Lazarides, R. C. Mucic, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, and G. C. Schatz, "What controls the optical properties of DNA-linked gold nanoparticle assemblies?," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 122, pp. 4640-4650, May 17 2000.
- [58] Y. C. Cao, R. C. Jin, S. Thaxton, and C. A. Mirkin, "A two-color-change, nanoparticle-based method for DNA detection," *Talanta*, vol. 67, pp. 449-455, Sep 15 2005.
- [59] A. Charrier, N. Candoni, and F. Thibaudau, "DNA detection method based on the two-dimensional aggregation and selective desorption of nanoparticle probes," *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 110, pp. 12896-12900, Jul 6 2006.
- [60] A. Charrier, N. Candoni, N. Liachenko, and F. Thibaudau, "2D aggregation and selective desorption of nanoparticle probes: A new method to probe DNA mismatches and damages," *Biosensors & Bioelectronics*, vol. 22, pp. 1881-1886, Apr 15 2007.
- [61] H. O. Z. Albrecht, *Phys. Chem.*, vol. 136, p. 321, 1928.
- [62] V. Pavlov, Y. Xiao, R. Gill, A. Dishon, M. Kotler, and I. Willner, "Amplified chemiluminescence surface detection of DNA and telomerase activity using catalytic nucleic acid labels," *Analytical Chemistry*, vol. 76, pp. 2152-2156, Apr 1 2004.
- [63] M. L. Yang, C. Z. Liu, K. J. Qian, P. G. He, and Y. Z. Fang, "Study on the electrochemiluminescence behavior of ABEI and its application in DNA hybridization analysis," *Analyst*, vol. 127, pp. 1267-1271, 2002.
- [64] F. Mallard, G. Marchand, F. Ginot, and R. Campagnolo, "Opto-electronic DNA chip: high performance chip reading with an all-electric interface," *Biosensors & Bioelectronics*, vol. 20, pp. 1813-1820, Mar 15 2005.
- [65] <http://www.biacore.com>.
- [66] T. M. Chinowsky, J. G. Quinn, D. U. Bartholomew, R. Kaiser, and J. L. Elkind, "Performance of the Spreeta 2000 integrated surface plasmon resonance affinity sensor," *Sensors and Actuators B-Chemical*, vol. 91, pp. 266-274, Jun 1 2003.
- [67] J. Homola, "Surface plasmon resonance sensors for detection of chemical and biological species," *Chemical Reviews*, vol. 108, pp. 462-493, Feb 2008.
- [68] F. Mannelli, A. Minunni, S. Tombelli, R. H. Wang, M. M. Spiriti, and M. Mascini, "Direct immobilisation of DNA probes for the development of affinity biosensors," *Bioelectrochemistry*, vol. 66, pp. 129-138, Apr 2005.
- [69] W. O. Ho, D. Athey, and C. J. Mcneil, "Amperometric Detection of Alkaline-Phosphatase Activity at a Horseradish-Peroxidase Enzyme Electrode Based on Activated Carbon - Potential Application to Electrochemical Immunoassay," *Biosensors & Bioelectronics*, vol. 10, pp. 683-691, Fal 1995.
- [70] O. Niwa, "Electroanalysis with Interdigitated Array Microelectrodes," *Electroanalysis*, vol. 7, pp. 606-613, Jul 1995.
- [71] F. F. Bier, E. Ehrentreich-Forster, F. W. Scheller, A. Makower, A. Eremenko, U. Wollenberger, C. G. Bauer, D. Pfeiffer, and N. Michael, "Ultrasensitive biosensors," *Sensors and Actuators B-Chemical*, vol. 33, pp. 5-12, Jul 1996.
- [72] J. Wang, "Electrochemical biosensors: Towards point-of-care cancer diagnostics," *Biosensors & Bioelectronics*, vol. 21, pp. 1887-1892, Apr 15 2006.



- [73] M. T. Castaneda, S. Alegret, and A. Merkoci, "Electrochemical sensing of DNA using gold nanoparticles," *Electroanalysis*, vol. 19, pp. 743-753, Apr 2007.
- [74] R. Koncki, "Recent developments in potentiometric biosensors for biomedical analysis," *Analytica Chimica Acta*, vol. 599, pp. 7-15, Sep 5 2007.
- [75] K. R. Rogers, "Recent advances in biosensor techniques for environmental monitoring," *Analytica Chimica Acta*, vol. 568, pp. 222-231, May 24 2006.
- [76] M. Badihi-Mossberg, V. Buchner, and J. Rishpon, "Electrochemical Biosensors for pollutants in the environment," *Electroanalysis*, vol. 19, pp. 2015-2028, Oct 2007.
- [77] F. Ricci, G. Volpe, L. Micheli, and G. Palleschi, "A review on novel developments and applications of immunosensors in food analysis," *Analytica Chimica Acta*, vol. 605, pp. 111-129, Dec 19 2007.
- [78] B. J. Privett, J. H. Shin, and M. H. Schoenfish, "Electrochemical sensors," *Analytical Chemistry*, vol. 80, pp. 4499-4517, Jun 15 2008.
- [79] S. Takenaka, K. Yamashita, M. Takagi, Y. Uto, and H. Kondo, "DNA sensing on a DNA probe-modified electrode using ferrocenylnaphthalene diimide as the electrochemically active ligand," *Analytical Chemistry*, vol. 72, pp. 1334-1341, Mar 15 2000.
- [80] F. Patolsky, E. Katz, A. Bardea, and I. Willner, "Enzyme-linked amplified electrochemical sensing of oligonucleotide-DNA interactions by means of the precipitation of an insoluble product and using impedance spectroscopy," *Langmuir*, vol. 15, pp. 3703-3706, May 25 1999.
- [81] Z. Q. Gao, S. Rafea, and L. H. Lim, "Detection of nucleic acids using enzyme-catalyzed template-guided deposition of polyaniline," *Advanced Materials*, vol. 19, pp. 602-+, Feb 19 2007.
- [82] S. H. Liu, J. N. Ye, P. G. He, and Y. H. Fang, "Voltammetric determination of sequence-specific DNA by electroactive intercalator on graphite electrode," *Analytica Chimica Acta*, vol. 335, pp. 239-243, Dec 20 1996.
- [83] F. Yan, A. Erdem, B. Meric, K. Kerman, M. Ozsoz, and O. A. Sadik, "Electrochemical DNA biosensor for the detection of specific gene related to *Microcystis* species," *Electrochemistry Communications*, vol. 3, pp. 224-228, May 2001.
- [84] S. J. Park, T. A. Taton, and C. A. Mirkin, "Array-based electrical detection of DNA with nanoparticle probes," *Science*, vol. 295, pp. 1503-1506, Feb 22 2002.
- [85] <http://www.combimatrix.com>.
- [86] A. L. Ghindilis, M. W. Smith, K. R. Schwarzkopf, K. M. Roth, K. Peyvan, S. B. Munro, M. J. Lodes, A. G. Stover, K. Bernards, K. Dill, and A. McShea, "CombiMatrix oligonucleotide arrays: Genotyping and gene expression assays employing electrochemical detection," *Biosensors & Bioelectronics*, vol. 22, pp. 1853-1860, Apr 15 2007.
- [87] E. Palecek, "Oscillographic Polarography of Highly Polymerized Deoxyribonucleic Acid," *Nature*, vol. 188, pp. 656-657, 1960.
- [88] J. Wang, G. Rivas, J. R. Fernandes, J. L. L. Paz, M. Jiang, and R. Waymire, "Indicator-free electrochemical DNA hybridization biosensor," *Analytica Chimica Acta*, vol. 375, pp. 197-203, Nov 30 1998.
- [89] J. Wang and A. N. Kawde, "Pencil-based renewable biosensor for label-free electrochemical detection of DNA hybridization," *Analytica Chimica Acta*, vol. 431, pp. 219-224, Mar 15 2001.
- [90] A. Erdem, M. I. Pividori, A. Lermo, A. Bonanni, M. del Valle, and S. Alegret, "Genomagnetic assay based on label-free electrochemical detection using magneto-



- composite electrodes," *Sensors and Actuators B-Chemical*, vol. 114, pp. 591-598, Apr 26 2006.
- [91] T. Nomura and M. Okuhara, "Frequency-Shifts of Piezoelectric Quartz Crystals Immersed in Organic Liquids," *Analytica Chimica Acta*, vol. 142, pp. 281-284, 1982.
- [92] N. C. Fawcett, J. A. Evans, L. C. Chien, and N. Flowers, "Nucleic-Acid Hybridization Detected by Piezoelectric Resonance," *Analytical Letters*, vol. 21, pp. 1099-1114, 1988.
- [93] J. Wang, M. Jiang, T. W. Nilsen, and R. C. Getts, "Dendritic nucleic acid probes for DNA biosensors," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 120, pp. 8281-8282, Aug 19 1998.
- [94] X. C. Zhou, L. Q. Huang, and S. F. Y. Li, "Microgravimetric DNA sensor based on quartz crystal microbalance: comparison of oligonucleotide immobilization methods and the application in genetic diagnosis," *Biosensors & Bioelectronics*, vol. 16, pp. 85-95, Jan 2001.
- [95] F. Patolsky, A. Lichtenstein, and I. Willner, "Amplified microgravimetric quartz-crystal-microbalance assay of DNA using oligonucleotide-functionalized liposomes or biotinylated liposomes," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 122, pp. 418-419, Jan 19 2000.
- [96] F. Patolsky, A. Lichtenstein, and I. Willner, "Electronic transduction of DNA sensing processes on surfaces: Amplification of DNA detection and analysis of single-base mismatches by tagged liposomes," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 123, pp. 5194-5205, Jun 6 2001.
- [97] I. Willner, F. Patolsky, Y. Weizmann, and B. Willner, "Amplified detection of single-base mismatches in DNA using micro gravimetric quartz-crystal-microbalance transduction," *Talanta*, vol. 56, pp. 847-856, Apr 1 2002.
- [98] <http://www.technobiochip.com/>.
- [99] B. A. Cavic and M. Thompson, "Interfacial nucleic acid chemistry studied by acoustic shear wave propagation," *Analytica Chimica Acta*, vol. 469, pp. 101-113, Sep 26 2002.
- [100] R. Gabl, H. D. Feucht, H. Zeininger, G. Eckstein, M. Schreiter, R. Primig, D. Pitzer, and W. Wersing, "First results on label-free detection of DNA and protein molecules using a novel integrated sensor technology based on gravimetric detection principles," *Biosensors & Bioelectronics*, vol. 19, pp. 615-620, Jan 15 2004.
- [101] Y. Hur, J. Han, J. Seon, Y. E. Pak, and Y. Roh, "Development of an SH-SAW sensor for the detection of DNA hybridization," *Sensors and Actuators a-Physical*, vol. 120, pp. 462-467, May 17 2005.
- [102] G. U. Lee, L. A. Chrisey, and R. J. Colton, "Direct Measurement of the Forces between Complementary Strands of DNA," *Science*, vol. 266, pp. 771-773, Nov 4 1994.
- [103] G. U. Lee, D. A. Kidwell, and R. J. Colton, "Sensing Discrete Streptavidin Biotin Interactions with Atomic-Force Microscopy," *Langmuir*, vol. 10, pp. 354-357, Feb 1994.
- [104] E. L. Florin, V. T. Moy, and H. E. Gaub, "Adhesion Forces between Individual Ligand-Receptor Pairs," *Science*, vol. 264, pp. 415-417, Apr 15 1994.
- [105] J. Fritz, M. K. Baller, H. P. Lang, H. Rothuizen, P. Vettiger, E. Meyer, H. J. Guntherodt, C. Gerber, and J. K. Gimzewski, "Translating biomolecular recognition into nanomechanics," *Science*, vol. 288, pp. 316-318, Apr 14 2000.
- [106] L. G. Carrascosa, M. Moreno, M. Alvarez, and L. M. Lechuga, "Nanomechanical biosensors: a new sensing tool," *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, vol. 25, pp. 196-206, Mar 2006.

- [107] P. S. Waggoner and H. G. Craighead, "Micro- and nanomechanical sensors for environmental, chemical, and biological detection," *Lab on a Chip*, vol. 7, pp. 1238-1255, 2007.
- [108] K. M. Goeders, J. S. Colton, and L. A. Bottomley, "Microcantilevers: Sensing chemical interactions via mechanical motion," *Chemical Reviews*, vol. 108, pp. 522-542, Feb 2008.
- [109] K. M. Hansen, H. F. Ji, G. H. Wu, R. Datar, R. Cote, A. Majumdar, and T. Thundat, "Cantilever-based optical deflection assay for discrimination of DNA single-nucleotide mismatches," *Analytical Chemistry*, vol. 73, pp. 1567-1571, Apr 1 2001.
- [110] G. H. Wu, H. F. Ji, K. Hansen, T. Thundat, R. Datar, R. Cote, M. F. Hagan, A. K. Chakraborty, and A. Majumdar, "Origin of nanomechanical cantilever motion generated from biomolecular interactions," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 98, pp. 1560-1564, Feb 13 2001.
- [111] J. C. Stachowiak, M. Yue, K. Castelino, A. Chakraborty, and A. Majumdar, "Chemomechanics of surface stresses induced by DNA hybridization," *Langmuir*, vol. 22, pp. 263-268, Jan 3 2006.
- [112] M. Su, S. U. Li, and V. P. Dravid, "Microcantilever resonance-based DNA detection with nanoparticle probes," *Applied Physics Letters*, vol. 82, pp. 3562-3564, May 19 2003.
- [113] K. L. Ekinici, X. M. H. Huang, and M. L. Roukes, "Ultrasensitive nanoelectromechanical mass detection," *Applied Physics Letters*, vol. 84, pp. 4469-4471, May 31 2004.
- [114] K. L. Ekinici and M. L. Roukes, "Nanoelectromechanical systems," *Review of Scientific Instruments*, vol. 76, pp. -, Jun 2005.
- [115] P. Bergveld, "Development, Operation, and Application of Ion-Sensitive Field-Effect Transistor as a Tool for Electrophysiology," *Ieee Transactions on Biomedical Engineering*, vol. Bm19, pp. 342-&, 1972.
- [116] P. Bergveld, "Development of an Ion-Sensitive Solid-State Device for Neurophysiological Measurements," *Ieee Transactions on Biomedical Engineering*, vol. Bm17, pp. 70-&, 1970.
- [117] E. Souteyrand, J. P. Cloarec, J. R. Martin, C. Wilson, I. Lawrence, S. Mikkelsen, and M. F. Lawrence, "Direct detection of the hybridization of synthetic homo-oligomer DNA sequences by field effect," *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 101, pp. 2980-2985, Apr 10 1997.
- [118] J. Hahn and C. M. Lieber, "Direct ultrasensitive electrical detection of DNA and DNA sequence variations using nanowire nanosensors," *Nano Letters*, vol. 4, pp. 51-54, Jan 2004.
- [119] D. Erickson, S. Mandal, A. H. J. Yang, and B. Cordovez, "Nanobiosensors: optofluidic, electrical and mechanical approaches to biomolecular detection at the nanoscale," *Microfluidics and Nanofluidics*, vol. 4, pp. 33-52, Jan 2008.
- [120] A. Sassolas, B. D. Leca-Bouvier, and L. J. Blum, "DNA biosensors and microarrays," *Chemical Reviews*, vol. 108, pp. 109-139, Jan 2008.
- [121] P. Puget, "Laboratoires sur puce," in *Les nanosciences - 3.Nanobiotechnologies et nanobiologie*, Belin, Ed., 2007.
- [122] L. Nicu and T. Leichle, "Biosensors and tools for surface functionalization from the macro-to the nanoscale: The way forward," *Journal of Applied Physics*, vol. 104, pp. -, Dec 1 2008.
- [123] M. J. Schoning and A. Poghossian, "Recent advances in biologically sensitive field-effect transistors (BioFETs)," *Analyst*, vol. 127, pp. 1137-1151, 2002.

- [124] L. Bousse, N. F. Derooij, and P. Bergveld, "Operation of Chemically Sensitive Field-Effect Sensors as a Function of the Insulator-Electrolyte Interface," *Ieee Transactions on Electron Devices*, vol. 30, pp. 1263-1270, 1983.
- [125] R. E. G. Vanhal, J. C. T. Eijkel, and P. Bergveld, "A Novel Description of Isfet Sensitivity with the Buffer Capacity and Double-Layer Capacitance as Key Parameters," *Sensors and Actuators B-Chemical*, vol. 24, pp. 201-205, Mar 1995.
- [126] R. E. G. vanHal, J. C. T. Eijkel, and P. Bergveld, "A general model to describe the electrostatic potential at electrolyte oxide interfaces," *Advances in Colloid and Interface Science*, vol. 69, pp. 31-62, Dec 1 1996.
- [127] P. Bergveld, "The future of biosensors," *Sensors and Actuators a-Physical*, vol. 56, pp. 65-73, Aug 1996.
- [128] P. Bergveld, "Thirty years of ISFETOLOGY - What happened in the past 30 years and what may happen in the next 30 years," *Sensors and Actuators B-Chemical*, vol. 88, pp. 1-20, Jan 1 2003.
- [129] J. Janata and R. J. Huber, *Solid State Chemical Sensor*. Orlando: Academic Press, 1985.
- [130] G. F. Blackburn, "Chemically sensitive field effect transistors," in *Biosensors : Fundamentals and Applications*, O. S. Publications, Ed. Oxford, 1987.
- [131] I. Lundström, A. Van den Berg, B. H. Van der Schoot, H. H. Van den Vlekkert, M. Armgarth, and C. I. Nylander, in *Sensors : A Comprehensive Survey*. vol. 2, 1991, pp. 467-528.
- [132] C. Cane, I. Gracia, and A. Merlos, "Microtechnologies for pH ISFET chemical sensors," *Microelectronics Journal*, vol. 28, pp. 389-405, May 1997.
- [133] J. Janata, M. Josowicz, P. Vanysek, and D. M. DeVaney, "Chemical sensors," *Analytical Chemistry*, vol. 70, pp. 179r-208r, Jun 15 1998.
- [134] M. Chudy, W. Wroblewski, A. Dybko, and Z. Brzozka, "Multi-ion analysis based on versatile sensor head," *Sensors and Actuators B-Chemical*, vol. 78, pp. 320-325, Aug 30 2001.
- [135] C. Jimenez, I. Marques, and J. Bartroli, "Continuous-flow system for on line water monitoring using back side contact ISFET-based sensors," *Analytical Chemistry*, vol. 68, pp. 3801-3807, Nov 1 1996.
- [136] Z. Elbhiri, Y. Chevalier, J. M. Chovelon, and N. Jaffrezic-Renault, "Grafting of phosphonate groups on the silica surface for the elaboration of ion-sensitive field-effect transistors," *Talanta*, vol. 52, pp. 495-507, Jun 30 2000.
- [137] J. J. Xu, X. L. Luo, and H. Y. Chen, "Analytical aspects of FET-based biosensors," *Frontiers in Bioscience*, vol. 10, pp. 420-430, Jan 1 2005.
- [138] S. Caras and J. Janata, "Field-Effect Transistor Sensitive to Penicillin," *Analytical Chemistry*, vol. 52, pp. 1935-1937, 1980.
- [139] A. Poghossian, T. Yoshinobu, A. Simonis, H. Ecken, H. Luth, and M. J. Schoning, "Penicillin detection by means of field-effect based sensors: EnFET, capacitive EIS sensor or LAPS?," *Sensors and Actuators B-Chemical*, vol. 78, pp. 237-242, Aug 30 2001.
- [140] A. P. Soldatkin, D. V. Gorchkov, C. Martelet, and N. JaffrezicRenault, "Application of charged polymeric materials as additional permselective membranes for modulation of the working characteristics of penicillin sensitive ENFETs," *Materials Science & Engineering C-Biomimetic Materials Sensors and Systems*, vol. 5, pp. 35-40, Sep 1997.
- [141] H. I. Seo, C. S. Kim, B. K. Sohn, T. Yeow, M. T. Son, and M. Haskard, "ISFET glucose sensor based on a new principle using the electrolysis of hydrogen peroxide," *Sensors and Actuators B-Chemical*, vol. 40, pp. 1-5, May 1 1997.

- [142] A. B. Kharitonov, M. Zayats, A. Lichtenstein, E. Katz, and I. Willner, "Enzyme monolayer-functionalized field-effect transistors for biosensor applications," *Sensors and Actuators B-Chemical*, vol. 70, pp. 222-231, Nov 1 2000.
- [143] T. Kullick, U. Beck, J. Schubert, T. Scheper, and K. Schugerl, "Application of Enzyme-Field Effect Transistor Sensor Arrays as Detectors in a Flow-Injection Analysis System for Simultaneous Monitoring of Medium Components .2. Monitoring of Cultivation Processes," *Analytica Chimica Acta*, vol. 300, pp. 25-31, Jan 20 1995.
- [144] D. V. Gorchkov, S. Poyard, A. P. Soldatkin, N. JaffrezicRenault, and C. Martelet, "Application of the charged polymeric materials as additional permselective membranes for improvement of the performance characteristics of urea-sensitive ENFETs .2. Urea determination in blood serum," *Materials Science & Engineering C-Biomimetic Materials Sensors and Systems*, vol. 5, pp. 29-34, Sep 1997.
- [145] D. V. Gorchkov, A. P. Soldatkin, S. Poyard, N. JaffrezicRenault, and C. Martelet, "Application of charged polymeric materials as additional permselective membranes for improvement of the performance characteristics of urea-sensitive enzymatic field effect transistors .1. Determination of urea in model solutions," *Materials Science & Engineering C-Biomimetic Materials Sensors and Systems*, vol. 5, pp. 23-28, Sep 1997.
- [146] Y. I. Korpan, A. P. Soldatkin, M. V. Gonchar, A. A. Sibirny, T. D. Gibson, and A. V. Elskaya, "A novel enzyme biosensor specific for formaldehyde based on pH-sensitive field effect transistors," *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, vol. 68, pp. 209-213, Feb 1997.
- [147] A. K. Singh, A. W. Flounders, J. V. Volponi, C. S. Ashley, K. Wally, and J. S. Schoeniger, "Development of sensors for direct detection of organophosphates. Part I: immobilization, characterization and stabilization of acetylcholinesterase and organophosphate hydrolase on silica supports," *Biosensors & Bioelectronics*, vol. 14, pp. 703-713, Dec 1999.
- [148] J. F. Schenck, "Theory, Design, and Biomedical Applications of Solid State Chemical Sensors," P. W. Cheung, Ed.: CRC Press, Boca Raton, 1978, pp. 165-173.
- [149] H. Berney, J. West, E. Haefele, J. Alderman, W. Lane, and J. K. Collins, "A DNA diagnostic biosensor: development, characterisation and performance," *Sensors and Actuators B-Chemical*, vol. 68, pp. 100-108, Aug 25 2000.
- [150] J. Fritz, E. B. Cooper, S. Gaudet, P. K. Sorger, and S. R. Manalis, "Electronic detection of DNA by its intrinsic molecular charge," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 99, pp. 14142-14146, Oct 29 2002.
- [151] D. S. Kim, Y. T. Jeong, H. J. Park, J. K. Shin, P. Choi, J. H. Lee, and G. Lim, "An FET-type charge sensor for highly sensitive detection of DNA sequence," *Biosensors & Bioelectronics*, vol. 20, pp. 69-74, Jul 30 2004.
- [152] F. Uslu, S. Ingebrandt, D. Mayer, S. Bocker-Meffert, M. Odenthal, and A. Offenhausser, "Labelfree fully electronic nucleic acid detection system based on a field-effect transistor device," *Biosensors & Bioelectronics*, vol. 19, pp. 1723-1731, Jul 15 2004.
- [153] F. Pouthas, C. Gentil, D. Cote, G. Zeck, B. Straub, and U. Bockelmann, "Spatially resolved electronic detection of biopolymers," *Physical Review E*, vol. 70, pp. -, Sep 2004.
- [154] S. Ingebrandt and A. Offenhausser, "Label-free detection of DNA using field-effect transistors," *Physica Status Solidi a-Applications and Materials Science*, vol. 203, pp. 3399-3411, Nov 2006.

- [155] A. Poghosian, A. Cherstvy, S. Ingebrandt, A. Offenhausser, and M. J. Schoning, "Possibilities and limitations of label-free detection of DNA hybridization with field-effect-based devices," *Sensors and Actuators B-Chemical*, vol. 111, pp. 470-480, Nov 11 2005.
- [156] Y. Cui, X. F. Duan, J. T. Hu, and C. M. Lieber, "Doping and electrical transport in silicon nanowires," *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 104, pp. 5213-5216, Jun 8 2000.
- [157] Y. Cui, Z. H. Zhong, D. L. Wang, W. U. Wang, and C. M. Lieber, "High performance silicon nanowire field effect transistors," *Nano Letters*, vol. 3, pp. 149-152, Feb 2003.
- [158] J. Y. Yu, S. W. Chung, and J. R. Heath, "Silicon nanowires: Preparation, device fabrication, and transport properties," *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 104, pp. 11864-11870, Dec 21 2000.
- [159] S. J. Tans, A. R. M. Verschueren, and C. Dekker, "Room-temperature transistor based on a single carbon nanotube," *Nature*, vol. 393, pp. 49-52, May 7 1998.
- [160] R. Martel, T. Schmidt, H. R. Shea, T. Hertel, and P. Avouris, "Single- and multi-wall carbon nanotube field-effect transistors," *Applied Physics Letters*, vol. 73, pp. 2447-2449, Oct 26 1998.
- [161] S. Heinze, J. Tersoff, R. Martel, V. Derycke, J. Appenzeller, and P. Avouris, "Carbon nanotubes as Schottky barrier transistors," *Physical Review Letters*, vol. 89, pp. -, Sep 2 2002.
- [162] Y. Cui, Q. Wei, H. Park, and C. M. Lieber, "Nanowire nanosensors for highly sensitive and selective detection of biological and chemical species," *Science*, vol. 293, pp. 1289-92, Aug 17 2001.
- [163] F. Patolsky, G. F. Zheng, O. Hayden, M. Lakadamyali, X. W. Zhuang, and C. M. Lieber, "Electrical detection of single viruses," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 101, pp. 14017-14022, Sep 28 2004.
- [164] G. F. Zheng, F. Patolsky, Y. Cui, W. U. Wang, and C. M. Lieber, "Multiplexed electrical detection of cancer markers with nanowire sensor arrays," *Nature Biotechnology*, vol. 23, pp. 1294-1301, Oct 2005.
- [165] Z. Li, Y. Chen, X. Li, T. I. Kamins, K. Nauka, and R. S. Williams, "Sequence-specific label-free DNA sensors based on silicon nanowires," *Nano Letters*, vol. 4, pp. 245-247, Feb 2004.
- [166] Z. Li, B. Rajendran, T. I. Kamins, X. Li, Y. Chen, and R. S. Williams, "Silicon nanowires for sequence-specific DNA sensing: device fabrication and simulation," *Applied Physics a-Materials Science & Processing*, vol. 80, pp. 1257-1263, Mar 2005.
- [167] K. Besteman, J. O. Lee, F. G. M. Wiertz, H. A. Heering, and C. Dekker, "Enzyme-coated carbon nanotubes as single-molecule biosensors," *Nano Letters*, vol. 3, pp. 727-730, Jun 2003.
- [168] A. Star, J. C. P. Gabriel, K. Bradley, and G. Gruner, "Electronic detection of specific protein binding using nanotube FET devices," *Nano Letters*, vol. 3, pp. 459-463, Apr 2003.
- [169] A. Star, E. Tu, J. Niemann, J. C. P. Gabriel, C. S. Joiner, and C. Valcke, "Label-free detection of DNA hybridization using carbon nanotube network field-effect transistors," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 103, pp. 921-926, Jan 24 2006.
- [170] G. Gruner, "Carbon nanotube transistors for biosensing applications," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 384, pp. 322-335, Jan 2006.
- [171] M. J. Schoning and A. Poghosian, "Bio FEDs (Field-Effect devices): State-of-the-art and new directions," *Electroanalysis*, vol. 18, pp. 1893-1900, Oct 2006.



- [172] P. E. Sheehan and L. J. Whitman, "Detection limits for nanoscale biosensors," *Nano Letters*, vol. 5, pp. 803-807, Apr 2005.
- [173] P. R. Nair and M. A. Alam, "Performance limits of nanobiosensors," *Applied Physics Letters*, vol. 88, pp. -, Jun 5 2006.
- [174] C. M. Hangarter and N. V. Myung, "Magnetic alignment of nanowires," *Chemistry of Materials*, vol. 17, pp. 1320-1324, Mar 22 2005.
- [175] S. Evoy, N. DiLello, V. Deshpande, A. Narayanan, H. Liu, M. Riegelman, B. R. Martin, B. Hailer, J. C. Bradley, W. Weiss, T. S. Mayer, Y. Gogotsi, H. H. Bau, T. E. Mallouk, and S. Raman, "Dielectrophoretic assembly and integration of nanowire devices with functional CMOS operating circuitry," *Microelectronic Engineering*, vol. 75, pp. 31-42, Jul 2004.
- [176] S. M. Huang, M. Woodson, R. Smalley, and J. Liu, "Growth mechanism of oriented long single walled carbon nanotubes using "fast-heating" chemical vapor deposition process," *Nano Letters*, vol. 4, pp. 1025-1028, Jun 2004.
- [177] D. Whang, S. Jin, Y. Wu, and C. M. Lieber, "Large-scale hierarchical organization of nanowire arrays for integrated nanosystems," *Nano Letters*, vol. 3, pp. 1255-1259, Sep 2003.
- [178] S. M. Sze and K. K. NG, *Physics of semiconductor devices*, 3 ed. Hoboken: Wiley, 2007.
- [179] H. Mathieu, *Physique des semiconducteurs et des composants électroniques*, 5 ed. Paris: Dunod, 2004.
- [180] J. E. Lilienfield, US Patent: 1,877,140 and 1,900,018.
- [181] D. Kahng and M. M. Atalla, "Silicon - silicon dioxide field induced surfaces devices," *IRE Solid-State Device Research Conference*, 1960.
- [182] <http://www.intel.com>.
- [183] S. Iijima, "Helical Microtubules of Graphitic Carbon," *Nature*, vol. 354, pp. 56-58, Nov 7 1991.
- [184] W. Kratschmer, L. D. Lamb, K. Fostiropoulos, and D. R. Huffman, "Solid C-60 - a New Form of Carbon," *Nature*, vol. 347, pp. 354-358, Sep 27 1990.
- [185] A. Thess, R. Lee, P. Nikolaev, H. J. Dai, P. Petit, J. Robert, C. H. Xu, Y. H. Lee, S. G. Kim, A. G. Rinzler, D. T. Colbert, G. E. Scuseria, D. Tomanek, J. E. Fischer, and R. E. Smalley, "Crystalline ropes of metallic carbon nanotubes," *Science*, vol. 273, pp. 483-487, Jul 26 1996.
- [186] W. K. Maser, E. Munoz, A. M. Benito, M. T. Martinez, G. F. de la Fuente, Y. Maniette, E. Anglaret, and J. L. Sauvajol, "Production of high-density single-walled nanotube material by a simple laser-ablation method," *Chemical Physics Letters*, vol. 292, pp. 587-593, Aug 14 1998.
- [187] H. M. Cheng, F. Li, G. Su, H. Y. Pan, L. L. He, X. Sun, and M. S. Dresselhaus, "Large-scale and low-cost synthesis of single-walled carbon nanotubes by the catalytic pyrolysis of hydrocarbons," *Applied Physics Letters*, vol. 72, pp. 3282-3284, Jun 22 1998.
- [188] J. F. Colomer, C. Stephan, S. Lefrant, G. Van Tendeloo, I. Willems, Z. Konya, A. Fonseca, C. Laurent, and J. B. Nagy, "Large-scale synthesis of single-wall carbon nanotubes by catalytic chemical vapor deposition (CCVD) method," *Chemical Physics Letters*, vol. 317, pp. 83-89, Jan 28 2000.
- [189] K. Balasubramanian and M. Burghard, "Biosensors based on carbon nanotubes," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 385, pp. 452-468, Jun 2006.
- [190] S. N. Kim, J. F. Rusling, and F. Papadimitrakopoulos, "Carbon nanotubes for electronic and electrochemical detection of biomolecules," *Advanced Materials*, vol. 19, pp. 3214-3228, Oct 19 2007.

- [191] B. L. Allen, P. D. Kichambare, and A. Star, "Carbon nanotube field-effect-transistor-based biosensors," *Advanced Materials*, vol. 19, pp. 1439-1451, Jun 4 2007.
- [192] R. J. Chen, S. Bangsaruntip, K. A. Drouvalakis, N. W. S. Kam, M. Shim, Y. M. Li, W. Kim, P. J. Utz, and H. J. Dai, "Noncovalent functionalization of carbon nanotubes for highly specific electronic biosensors," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 100, pp. 4984-4989, Apr 29 2003.
- [193] R. J. Chen, H. C. Choi, S. Bangsaruntip, E. Yenilmez, X. W. Tang, Q. Wang, Y. L. Chang, and H. J. Dai, "An investigation of the mechanisms of electronic sensing of protein adsorption on carbon nanotube devices," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 126, pp. 1563-1568, Feb 11 2004.
- [194] X. W. Tang, S. Bansaruntip, N. Nakayama, E. Yenilmez, Y. L. Chang, and Q. Wang, "Carbon nanotube DNA sensor and sensing mechanism," *Nano Letters*, vol. 6, pp. 1632-1636, Aug 9 2006.
- [195] I. Heller, A. M. Janssens, J. Mannik, E. D. Minot, S. G. Lemay, and C. Dekker, "Identifying the mechanism of biosensing with carbon nanotube transistors," *Nano Letters*, vol. 8, pp. 591-595, Feb 2008.
- [196] P. Gambardella, M. Blanc, H. Brune, K. Kuhnke, and K. Kern, "One-dimensional metal chains on Pt vicinal surfaces," *Physical Review B*, vol. 61, pp. 2254-2262, Jan 15 2000.
- [197] M. L. Munford, F. Maroun, R. Cortes, P. Allongue, and A. A. Pasa, "Electrochemical growth of gold on well-defined vicinal H-Si(111) surfaces studied by AFM and XRD," *Surface Science*, vol. 537, pp. 95-112, Jul 1 2003.
- [198] C. Preinesberger, S. K. Becker, S. Vandre, T. Kalka, and M. Dahne, "Structure of DySi<sub>2</sub> nanowires on Si(001)," *Journal of Applied Physics*, vol. 91, pp. 1695-1697, Feb 1 2002.
- [199] J. Nogami, B. Z. Liu, M. V. Katkov, C. Ohbuchi, and N. O. Birge, "Self-assembled rare-earth silicide nanowires on Si(001)," *Physical Review B*, vol. 63, pp. art. no.-233305, Jun 15 2001.
- [200] X. F. Duan and C. M. Lieber, "Laser-assisted catalytic growth of single crystal GaN nanowires," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 122, pp. 188-189, Jan 12 2000.
- [201] P. Gentile, T. David, F. Dhalluin, D. Buttard, N. Pauc, M. Den Hertog, P. Ferret, and T. Baron, "The growth of small diameter silicon nanowires to nanotrees," *Nanotechnology*, vol. 19, pp. -, Mar 26 2008.
- [202] J. B. Hannon, S. Kodambaka, F. M. Ross, and R. M. Tromp, "The influence of the surface migration of gold on the growth of silicon nanowires," *Nature*, vol. 440, pp. 69-71, Mar 2 2006.
- [203] W. Lu and C. M. Lieber, "Semiconductor nanowires," *Journal of Physics D-Applied Physics*, vol. 39, pp. R387-R406, Nov 7 2006.
- [204] D. S. Xu, Y. J. Xu, D. P. Chen, G. L. Guo, L. L. Gui, and Y. Q. Tang, "Preparation of CdS single-crystal nanowires by electrochemically induced deposition," *Advanced Materials*, vol. 12, pp. 520-+, Apr 4 2000.
- [205] W. I. Park, D. H. Kim, S. W. Jung, and G. C. Yi, "Metalorganic vapor-phase epitaxial growth of vertically well-aligned ZnO nanorods," *Applied Physics Letters*, vol. 80, pp. 4232-4234, Jun 3 2002.
- [206] M. S. Sander, R. Gronsky, T. Sands, and A. M. Stacy, "Structure of bismuth telluride nanowire arrays fabricated by electrodeposition into porous anodic alumina templates," *Chemistry of Materials*, vol. 15, pp. 335-339, Jan 14 2003.

- [207] S. Wurm, "EUV Lithography Development and Research Challenges for the 22 nm Half-pitch," *Journal of Photopolymer Science and Technology*, vol. 22, pp. 31-42, 2009.
- [208] C. W. Gwyn, R. Stulen, D. Sweeney, and D. Attwood, "Extreme ultraviolet lithography," *Journal of Vacuum Science & Technology B*, vol. 16, pp. 3142-3149, Nov-Dec 1998.
- [209] R. Viswanathan, D. Seeger, A. Bright, T. Bucelot, A. Pomerene, K. Petrillo, P. Blauner, P. Agnello, J. Warlaumont, J. Conway, and D. Patel, "Fabrication of High-Performance 512k Static-Random Access Memories in 0.25  $\mu$ m Complementary Metal-Oxide-Semiconductor Technology Using X-Ray-Lithography," *Journal of Vacuum Science & Technology B*, vol. 11, pp. 2910-2919, Nov-Dec 1993.
- [210] G. Simon, A. M. Haghiri-Gosnet, J. Bourneix, D. Decanini, Y. Chen, F. Rousseaux, H. Launois, and B. Vidal, "Sub-20 nm x-ray nanolithography using conventional mask technologies on monochromatized synchrotron radiation," *Journal of Vacuum Science & Technology B*, vol. 15, pp. 2489-2494, Nov-Dec 1997.
- [211] W. Chen and H. Ahmed, "Fabrication of 5-7 Nm Wide Etched Lines in Silicon Using 100 Kev Electron-Beam Lithography and Polymethylmethacrylate Resist," *Applied Physics Letters*, vol. 62, pp. 1499-1501, Mar 29 1993.
- [212] X. M. Zhao, Y. N. Xia, and G. M. Whitesides, "Soft lithographic methods for nanofabrication," *Journal of Materials Chemistry*, vol. 7, pp. 1069-1074, Jul 1997.
- [213] Y. N. Xia and G. M. Whitesides, "Soft lithography," *Angewandte Chemie-International Edition*, vol. 37, pp. 551-575, Mar 16 1998.
- [214] S. H. Hong, J. Zhu, and C. A. Mirkin, "Multiple ink nanolithography: Toward a multiple-pen nano-plotter," *Science*, vol. 286, pp. 523-525, Oct 15 1999.
- [215] A. Houel, D. Tonneau, N. Bonnail, H. Dallaporta, and V. I. Safarov, "Direct patterning of nanostructures by field-induced deposition from a scanning tunneling microscope tip," *Journal of Vacuum Science & Technology B*, vol. 20, pp. 2337-2345, Nov-Dec 2002.
- [216] M. F. Crommie, C. P. Lutz, and D. M. Eigler, "Confinement of Electrons to Quantum Corrals on a Metal-Surface," *Science*, vol. 262, pp. 218-220, Oct 8 1993.
- [217] D. M. Eigler and E. K. Schweizer, "Positioning Single Atoms with a Scanning Tunneling Microscope," *Nature*, vol. 344, pp. 524-526, Apr 5 1990.
- [218] W. U. Wang, C. Chen, K. H. Lin, Y. Fang, and C. M. Lieber, "Label-free detection of small-molecule-protein interactions by using nanowire nanosensors," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 102, pp. 3208-3212, Mar 1 2005.
- [219] Z. Q. Gao, A. Agarwal, A. D. Trigg, N. Singh, C. Fang, C. H. Tung, Y. Fan, K. D. Buddharaju, and J. M. Kong, "Silicon nanowire arrays for label-free detection of DNA," *Analytical Chemistry*, vol. 79, pp. 3291-3297, May 1 2007.
- [220] G. J. Zhang, J. H. Chua, R. E. Chee, A. Agarwal, S. M. Wong, K. D. Buddharaju, and N. Balasubramanian, "Highly sensitive measurements of PNA-DNA hybridization using oxide-etched silicon nanowire biosensors," *Biosensors & Bioelectronics*, vol. 23, pp. 1701-1707, Jun 15 2008.
- [221] N. A. Melosh, A. Boukai, F. Diana, B. Gerardot, A. Badolato, P. M. Petroff, and J. R. Heath, "Ultrahigh-density nanowire lattices and circuits," *Science*, vol. 300, pp. 112-115, Apr 4 2003.
- [222] D. W. Wang, B. A. Sheriff, and J. R. Heath, "Silicon p-FETs from ultrahigh density nanowire arrays," *Nano Letters*, vol. 6, pp. 1096-1100, Jun 2006.
- [223] Y. L. Bunimovich, Y. S. Shin, W. S. Yeo, M. Amori, G. Kwong, and J. R. Heath, "Quantitative real-time measurements of DNA hybridization with alkylated



- nonoxidized silicon nanowires in electrolyte solution," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 128, pp. 16323-16331, Dec 20 2006.
- [224] Y. Chen, X. Wang, M. K. Hong, S. Erramilli, P. Mohanty, and C. Rosenberg, "Nanoscale field effect transistor for biomolecular signal amplification," *Applied Physics Letters*, vol. 91, pp. -, Dec 10 2007.
- [225] E. Stern, J. F. Klemic, D. A. Routenberg, P. N. Wyrembak, D. B. Turner-Evans, A. D. Hamilton, D. A. LaVan, T. M. Fahmy, and M. A. Reed, "Label-free immunodetection with CMOS-compatible semiconducting nanowires," *Nature*, vol. 445, pp. 519-522, Feb 1 2007.
- [226] E. Stern, R. Wagner, F. J. Sigworth, R. Breaker, T. M. Fahmy, and M. A. Reed, "Importance of the debye screening length on nanowire field effect transistor sensors," *Nano Letters*, vol. 7, pp. 3405-3409, Nov 2007.
- [227] A. De Luca, F. Ritton, M. Gely, J. Buckley, and M. Heitzmann, "Silicon dry etching process for high topography sub-micro and nano-devices," *under submission*, 2009.
- [228] M. W. Shinwari, M. J. Deen, and D. Landheer, "Study of the electrolyte-insulator-semiconductor field-effect transistor (EISFET) with applications in biosensor design," *Microelectronics Reliability*, vol. 47, pp. 2025-2057, Dec 2007.
- [229] J. O. Bockris, A. K. N. Reddy, and G.-A. M., *Modern Electrochemistry 2A - Fundamentals of Electrochemistry*, 1998.
- [230] L. Bousse, "Single Electrode-Potentials Related to Flat-Band Voltage Measurements on Eos and Mos Structures," *Journal of Chemical Physics*, vol. 76, pp. 5128-5133, 1982.
- [231] G. Molas, "Fabrication, Caractérisation et Modélisation de Dispositifs Mémoire Décanométriques à Nanocristaux de Silicium sur Substrat SOI ": Institut National Polytechnique de Grenoble, 2004.
- [232] Y. Chen, X. H. Wang, S. Erramilli, P. Mohanty, and A. Kalinowski, "Silicon-based nanoelectronic field-effect pH sensor with local gate control," *Applied Physics Letters*, vol. 89, pp. -, Nov 27 2006.
- [233] A. Kim, C. S. Ah, H. Y. Yu, J. H. Yang, I. B. Baek, C. G. Ahn, C. W. Park, M. S. Jun, and S. Lee, "Ultrasensitive, label-free, and real-time immunodetection using silicon field-effect transistors," *Applied Physics Letters*, vol. 91, pp. -, Sep 3 2007.
- [234] B. Ashcroft, B. Takulapalli, J. Yang, G. M. Laws, H. Q. Zhang, N. J. Tao, S. Lindsay, D. Gust, and T. J. Thornton, "Calibration of a pH sensitive buried channel silicon-on-insulator MOSFET for sensor applications," *Physica Status Solidi B-Basic Research*, vol. 241, pp. 2291-2296, Aug 2004.
- [235] J. F. Hsu, B. R. Huang, C. S. Huang, and H. L. Chen, "Silicon nanowires as pH sensor," *Japanese Journal of Applied Physics Part 1-Regular Papers Brief Communications & Review Papers*, vol. 44, pp. 2626-2629, Apr 2005.
- [236] H. S. Im, X. J. Huang, B. Gu, and Y. K. Choi, "A dielectric-modulated field-effect transistor for biosensing," *Nature Nanotechnology*, vol. 2, pp. 430-434, Jul 2007.
- [237] T. Uno, H. Tabata, and T. Kawai, "Peptide-nucleic acid-modified ion-sensitive field-effect transistor-based biosensor for direct detection of DNA hybridization," *Analytical Chemistry*, vol. 79, pp. 52-59, Jan 1 2007.
- [238] F. Patolsky, G. F. Zheng, and C. M. Lieber, "Fabrication of silicon nanowire devices for ultrasensitive, label-free, real-time detection of biological and chemical species," *Nature Protocols*, vol. 1, pp. 1711-1724, 2006.
- [239] P. Bergveld and A. Sibbald, *Analytical and Biomedical Applications fo Ion-Selective Field-Effect Transistors*: Elsevier, 1988.

- [240] Y. Cheng, P. Xiong, C. S. Yun, G. F. Strouse, J. P. Zheng, R. S. Yang, and Z. L. Wang, "Mechanism and Optimization of pH Sensing Using SnO<sub>2</sub> Nanobelt Field Effect Transistors," *Nano Letters*, vol. 8, pp. 4179-4184, Dec 2008.
- [241] I. Y. Park, Z. Y. Li, X. M. Li, A. P. Pisano, and R. S. Williams, "Towards the silicon nanowire-based sensor for intracellular biochemical detection," *Biosensors & Bioelectronics*, vol. 22, pp. 2065-2070, Apr 15 2007.
- [242] D. R. Kim, C. H. Lee, and X. L. Zheng, "Probing Flow Velocity with Silicon Nanowire Sensors," *Nano Letters*, vol. 9, pp. 1984-1988, May 2009.
- [243] B. Bournalon, J. Wong, C. Miko, L. Forro, and M. Bockrath, "A nanoscale probe for fluidic and ionic transport," *Nature Nanotechnology*, vol. 2, pp. 104-107, Feb 2007.
- [244] A. Mansouri, C. Scheuerman, S. Bhattacharjee, D. Y. Kwok, and L. W. Kostiuk, "Transient streaming potential in a finite length microchannel," *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 292, pp. 567-580, Dec 15 2005.
- [245] D. S. Wright, B. S. Flavel, and J. S. Quinton, "Streaming Zeta Potential Measurements Of Surface-Bound Organosilane Molecular Species," *ICONN*, 2006.
- [246] B. J. Kirby and E. F. Hasselbrink, "Zeta potential of microfluidic substrates: 1. Theory, experimental techniques, and effects on separations," *Electrophoresis*, vol. 25, pp. 187-202, Jan 2004.
- [247] M. S. Chun, T. S. Lee, and N. W. Choi, "Microfluidic analysis of electrokinetic streaming potential induced by microflows of monovalent electrolyte solution," *Journal of Micromechanics and Microengineering*, vol. 15, pp. 710-719, Apr 2005.
- [248] D. R. Kim and X. L. Zheng, "Numerical Characterization and Optimization of the Microfluidics for Nanowire Biosensors," *Nano Letters*, vol. 8, pp. 3233-3237, Oct 2008.
- [249] J. Sagiv, "Organized Monolayers by Adsorption .1. Formation and Structure of Oleophobic Mixed Monolayers on Solid-Surfaces," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 102, pp. 92-98, 1980.
- [250] N. Zammattéo, L. Jeanmart, S. Hamels, S. Courtois, P. Louette, L. Hevesi, and J. Remacle, "Comparison between Different Strategies of Covalent Attachment of DNA to Glass Surfaces to Build DNA Microarrays," *Analytical Biochemistry*, vol. 280, pp. 143-150, 2000.
- [251] M. C. Pirrung, "How to make a DNA chip," *Angewandte Chemie-International Edition*, vol. 41, pp. 1277-+, 2002.
- [252] B. A. Cavic, M. E. McGovern, R. Nisman, and M. Thompson, "High surface density immobilization of oligonucleotide on silicon," *Analyst*, vol. 126, pp. 485-490, Apr 2001.
- [253] G. J. Zhang, G. Zhang, J. H. Chua, R. E. Chee, E. H. Wong, A. Agarwal, K. D. Buddharaju, N. Singh, Z. Q. Gao, and N. Balasubramanian, "DNA sensing by silicon nanowire: Charge layer distance dependence," *Nano Letters*, vol. 8, pp. 1066-1070, Apr 2008.
- [254] X. Gi, J. L. Koenig, H. Ishida, and D. D. Wheeler, "Chemical-Reactions of an Epoxy-Functional Silane in Aqueous-Solutions," *Rubber Chemistry and Technology*, vol. 64, pp. 162-171, May-Jun 1991.
- [255] G. Elender, M. Kuhner, and E. Sackmann, "Functionalisation of Si/SiO<sub>2</sub> and glass surfaces with ultrathin dextran films and deposition of lipid bilayers," *Biosensors & Bioelectronics*, vol. 11, pp. 565-577, 1996.
- [256] F. Vinet and A. Hoang, "Procédé d'immobilisation de sondes, en particulier pour réaliser des puces biologiques." vol. 2818662, 2003.

- [257] B. Fouque, A. G. Brachet, S. Getin, P. Pegon, P. Obeid, G. Delapierre, and F. Chatelain, "Improvement of yeast biochip sensitivity using multilayer inorganic sol-gel substrates," *Biosensors & Bioelectronics*, vol. 22, pp. 2151-2157, Apr 15 2007.
- [258] J. P. Blitz, R. S. S. Murthy, and D. E. Leyden, "The Role of Amine Structure on Catalytic Activity for Silylation Reactions with Cab-O-Sil," *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 126, pp. 387-392, Dec 1988.
- [259] M. Olivier, N. Rochat, A. Chabli, G. Lefeuvre, and F. Conne, "Multiple internal reflection spectroscopy: a sensitive non-destructive probe for interfaces and nanometric layers," *Materials Science in Semiconductor Processing*, vol. 4, pp. 15-18, Feb-Jun 2001.
- [260] V. V. Tsukruk, I. Luzinov, and D. Julthongpiput, "Sticky molecular surfaces: Epoxysilane self-assembled monolayers," *Langmuir*, vol. 15, pp. 3029-3032, Apr 27 1999.
- [261] I. Luzinov, D. Julthongpiput, A. Liebmann-Vinson, T. Cregger, M. D. Foster, and V. V. Tsukruk, "Epoxy-terminated self-assembled monolayers: Molecular glues for polymer layers," *Langmuir*, vol. 16, pp. 504-516, Jan 25 2000.
- [262] P. E. Nielsen, M. Egholm, R. H. Berg, and O. Buchardt, "Sequence-Selective Recognition of DNA by Strand Displacement with a Thymine-Substituted Polyamide," *Science*, vol. 254, pp. 1497-1500, Dec 6 1991.
- [263] M. Egholm, O. Buchardt, L. Christensen, C. Behrens, S. M. Freier, D. A. Driver, R. H. Berg, S. K. Kim, B. Norden, and P. E. Nielsen, "Pna Hybridizes to Complementary Oligonucleotides Obeying the Watson-Crick Hydrogen-Bonding Rules," *Nature*, vol. 365, pp. 566-568, Oct 7 1993.
- [264] T. Ratilainen, A. Holmen, E. Tuite, P. E. Nielsen, and B. Norden, "Thermodynamics of sequence-specific binding of PNA to DNA," *Biochemistry*, vol. 39, pp. 7781-7791, Jul 4 2000.
- [265] J. Wang, E. Palecek, P. E. Nielsen, G. Rivas, X. H. Cai, H. Shiraishi, N. Dontha, D. B. Luo, and P. A. M. Farias, "Peptide nucleic acid probes for sequence-specific DNA biosensors," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 118, pp. 7667-7670, Aug 21 1996.
- [266] J. N. Volle, G. Chambon, A. Sayah, C. Reymond, N. Fasel, and M. A. M. Gijs, "Enhanced sensitivity detection of protein immobilization by fluorescent interference on oxidized silicon," *Biosensors & Bioelectronics*, vol. 19, pp. 457-464, Dec 30 2003.
- [267] M. Bras, V. Dugas, F. Bessueille, J. P. Cloarec, J. R. Martin, M. Cabrera, J. P. Chauvet, E. Souteyard, and M. Garrigues, "Optimisation of a silicon/silicon dioxide substrate for a fluorescence DNA microarray," *Biosensors & Bioelectronics*, vol. 20, pp. 797-806, Nov 1 2004.
- [268] D. S. Rickman, C. J. Herbert, and L. P. Aggerbeck, "Optimizing spotting solutions for increased reproducibility of cDNA microarrays," *Nucleic Acids Research*, vol. 31, pp. -, Sep 15 2003.
- [269] C. Preininger, U. Sauer, J. Dayteg, and R. Pichler, "Optimizing processing parameters for signal enhancement of oligonucleotide and protein arrays on ARChip Epoxy," *Bioelectrochemistry*, vol. 67, pp. 155-162, Oct 2005.
- [270] D. E. Yates, S. Levine, and T. W. Healy, "Site-Binding Model of Electrical Double-Layer at Oxide-Water Interface," *Journal of the Chemical Society-Faraday Transactions I*, vol. 70, pp. 1807-1818, 1974.
- [271] D. V. Vezenov, A. Noy, L. F. Rozsnyai, and C. M. Lieber, "Force titrations and ionization state sensitive imaging of functional groups in aqueous solutions by chemical force microscopy," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 119, pp. 2006-2015, Feb 26 1997.

- [272] I. Humenyuk, "Développement des microcapteurs chimiques CHEMFETs pour l'analyse de l'eau," 2005.
- [273] E. D. Minot, A. M. Janssens, I. Heller, H. A. Heering, C. Dekker, and S. G. Lemay, "Carbon nanotube biosensors: The critical role of the reference electrode," *Applied Physics Letters*, vol. 91, pp. -, Aug 27 2007.
- [274] X. T. Vu, R. GhoshMoulick, J. F. Eschermann, R. Stockmann, A. Offenhausser, and S. Ingebrandt, "Fabrication and application of silicon nanowire transistor arrays for biomolecular detection," *Sensors and Actuators B-Chemical*, 2009, in press.
- [275] Y. J. Oh, D. Bottenus, C. F. Ivory, and S. M. Han, "Impact of leakage current and electrolysis on FET flow control and pH changes in nanofluidic channels," *Lab on a Chip*, vol. 9, pp. 1609-1617, 2009.
- [276] L. Bousse, N. F. Derooij, and P. Bergveld, "The Influence of Counterion Adsorption on the Psi-0/Ph Characteristics of Insulator Surfaces," *Surface Science*, vol. 135, pp. 479-496, 1983.
- [277] P. R. Nair and M. A. Alam, "Screening-limited response of nanobiosensors," *Nano Letters*, vol. 8, pp. 1281-1285, May 2008.
- [278] E. Stern, "Label-free sensing with semiconducting nanowires," 2007.
- [279] N. Rochat, A. Troussier, A. Hoang, and F. Vinet, "Multiple internal reflection spectroscopy for quantitative infrared analysis of thin-film surface coating for biological environment," *Materials Science & Engineering C-Biomimetic and Supramolecular Systems*, vol. 23, pp. 99-103, Jan 15 2003.