

Hart und weich: biofunktionalisierter Diamant**

Anke Krüger*

Stichwörter:

Diamant · DNA · Dünne Filme · Nanostrukturen · Oberflächenchemie

Professor Henning Hopf

zum 65. Geburtstag gewidmet

Die Funktionalisierung von Halbleiter- und Kohlenstoffmaterialien hat sich in den letzten Jahren zu einem aktiven Forschungsgebiet im Grenzbereich zwischen organischer Chemie und Materialwissenschaften entwickelt. So wurden auch zahlreiche Arbeiten zur Oberflächenmodifizierung von Diamant publiziert, der unter anderem wegen seiner Dotierbarkeit und Biokompatibilität sowie seiner mechanischen und chemischen Stabilität ein interessantes Material für viele Anwendungen darstellt.

Diamantmaterialien lassen sich mit verschiedenen etablierten Techniken herstellen.^[1] Dabei sind sowohl Verfahren zur Erzeugung ein- und polykristalliner Diamantfilme als auch Synthesemethoden für nano- und mikroskopische Diamantpartikel bekannt. In Abhängigkeit vom angewendeten Verfahren weisen diese Materialien unterschiedliche Oberflächeneigenschaften auf. Hydrierte Diamantfilme sind beispielsweise stark hydrophob, und die unspezifische Adsorption polarer Biomoleküle wird weitgehend vermieden.^[2] Dagegen eignet sich mit polaren, sauerstoffhaltigen Gruppen belegter Diamant zur Adsorption von Poly-L-lysin, Enzymen oder Antikörpern. Diese nichtkovalent modifizierten Diamantmaterialien werden hinsichtlich ihres Einsatzes als Sensormaterialien und für andere biologisch-medizinische Anwendungen untersucht.^[3] Das Vor-

liegen funktioneller Gruppen auf der Diamantoberfläche ermöglicht auch die kovalente Anknüpfung verschiedener Reste. Je nach ursprünglicher Belegung der Diamantoberfläche werden verschiedene Strategien wie die Anbindung über Ester- und Amidgruppen, Silanlinker und die direkte C-C-Verknüpfung verfolgt. Sowohl hydrierte, fluoridierte, carboxylierte als auch hydroxylierte Diamantoberflächen wurden bisher funktionalisiert.^[4]

Dabei zielen viele Arbeiten auf das Aufbringen biologisch aktiver Einheiten wie DNA-Oligonucleotide, Peptide, Enzyme oder Antikörper.^[5] Unter anderem ist der Einsatz in Bioassays und „Lab-on-a-chip“-Anwendungen oder zur Fluoreszenzmarkierung von Wirkstoffen geplant.^[6] Dabei macht man sich neuerdings die inhärente Fluoreszenz defekthaltigen Diamants zunutze: N-V-Zentren, die durch isolierte Stickstoffdefekte im Diamantgitter gekennzeichnet sind, weisen eine charakteristische Fluoreszenz im roten Spektralbereich auf,^[7] die sich für fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen auch an lebenden Zellen eignet.^[8] Vorteilhaft bei einer derartigen Markierung sind neben der günstigen Emissionswellenlänge auch die Emissionsstabilität und die Biokompatibilität des Materials.

Die kovalente Anbindung von DNA-Molekülen an Diamant wurde von mehreren Arbeitsgruppen beschrieben. Takahashi et al. verwendeten terminale Carboxygruppen, die über eine Amidbindung mit den DNA-Molekülen verknüpft werden.^[9] Ando et al. beschrieben die Anbindung über durch Esterbrücken immobilisierte Thymidindereste.^[10] Eine sehr viel stabilere Kuppelung kann durch eine C-C-Bindung erreicht werden. Hamers et al. stellten eine sehr flexible Technik vor, die von

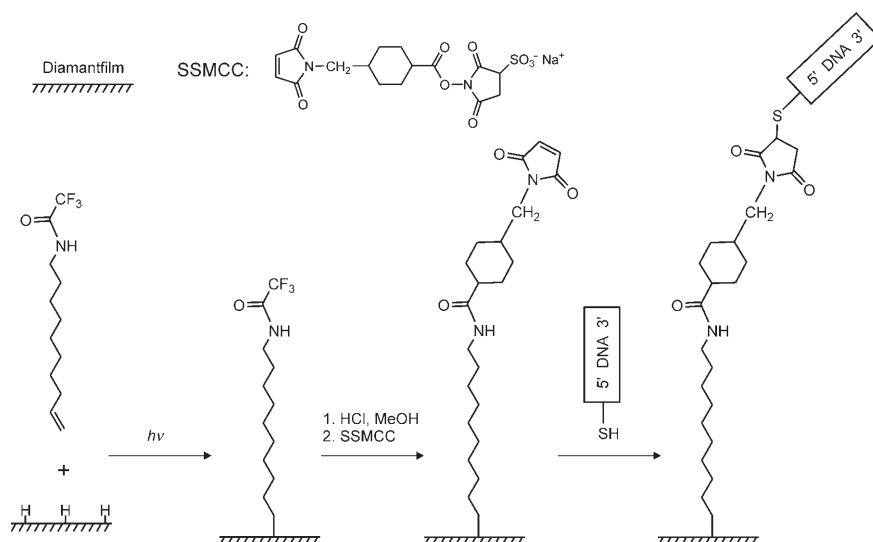
hydrierten Diamantfilmen ausgeht.^[11] Durch eine photochemische Umsetzung mit der endständigen Vinylgruppe einer difunktionellen Verbindung wird die Oberfläche mit dem organischen Rest verknüpft. Durch Entschützen der terminalen Aminogruppe und anschließende Umsetzung mit SSMCC werden die Reste für die DNA-Anbindung vorbereitet. Die Verknüpfung erfolgt dann durch die Reaktion mit thiolmodifizierter DNA (Schema 1).

Über die mikroskopische Untersuchung der Oberflächenstruktur derartiger DNA-modifizierter Diamantoberflächen berichteten kürzlich Nebel et al.^[12] Die Autoren konnten mit den oben beschriebenen Methoden eine kontinuierliche, kovalent gebundene DNA-Schicht auf der Oberfläche eines strukturierten hydrierten (100)-Diamantfilms aufbringen. Die anschließende Umsetzung mit fluoreszenzmarkierten komplementären Oligonucleotiden lieferte dann Diamantfilme, deren Oberflächenstruktur mithilfe von Fluoreszenzmikroskopie charakterisiert wurde. Dabei zeigte sich, dass die anfangs hydrierten Bereiche eine starke Fluoreszenz aufwiesen, während oxidierte Bereiche eine geringe Signalintensität zeigten (nur unspezifische Adsorption).

Die Morphologie der Oberfläche wurde mit kraftmikroskopischen Methoden untersucht. Dabei blieb durch die Messung in einer Pufferlösung die natürliche Konformation der DNA-Moleküle erhalten. Neben dem Nachweis der kovalenten Anbindung der DNA-Moleküle durch Kraftmessungen (Abbildung 1) wurden auch Informationen über die Anordnung und Dicke der DNA-Schicht gewonnen. Die Moleküle bilden einen 76 Å dicken, lochfreien Film und sind in einem Winkel von ca. 36° relativ zur Diamantoberfläche

[*] Dr. A. Krüger
Otto-Diels-Institut für Organische Chemie
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
Otto-Hahn-Platz 3
24098 Kiel (Deutschland)
Fax: (+49) 431-880-1558
E-Mail: akrueger@oc.uni-kiel.de

[**] A.K. dankt dem Fonds der Chemischen Industrie für ein Liebig-Stipendium.



Schema 1. Funktionalisierung einer Diamantoberfläche mit DNA-Oligonucleotiden. SSMCC = Sulfosuccinimidyl-4-(maleimidomethyl)cyclohexan-1-carboxylat.

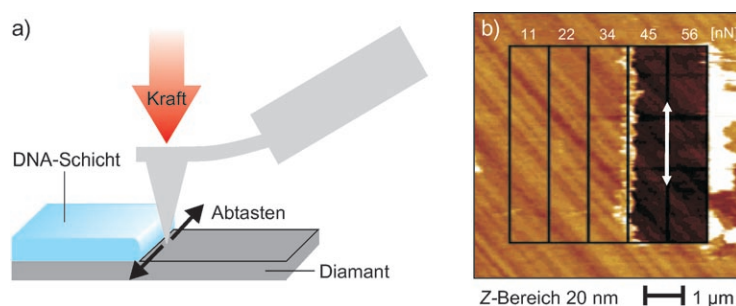


Abbildung 1. a) Untersuchung der Bindungsstärke mithilfe einer Kraftmikroskopspitze (schematisch). b) Kraftabhängiges Entfernen der DNA-Schicht durch Kratzen mit der Mikroskopspitze. (Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [12])

che angeordnet. Damit gelang den Autoren erstmals die mikroskopische Charakterisierung eines biofunktionalisierten Diamantfilms, was besonders im Hinblick auf die Entwicklung von Sensoren auf Diamantbasis von großer Bedeutung ist, da nur eine etablierte Analytik die vollständige Belegung der Oberfläche und die korrekte Orientierung der angebundenen Moleküle sicherstellen kann.

Neben den bereits erwähnten Sensoren kommen für derart funktionalisierte Diamantmaterialien auch Anwendungen in der kontrollierten Wirkstoff-Freisetzung sowie in der Fluoreszenzdiagnostik infrage. Ob Diamant

andere Materialien wie Gold, Siliciumdioxid und Quantenpunkte in diesen Gebieten ablösen wird, bleibt abzuwarten. Eine interessante Alternative und Erweiterung des Repertoires stellt funktionalisierter Diamant aber fraglos dar.

Online veröffentlicht am 4. September 2006

- [1] M. N. R. Ashfold, P. W. May, C. A. Rego, N. M. Everitt, *Chem. Soc. Rev.* **1994**, 23, 21–30; T. R. Anthony, *Vacuum* **1990**, 41, 1356–1359; O. A. Shenderova, V. V. Zhirnov, D. W. Brenner, *Crit. Rev. Solid State Mater. Sci.* **2002**, 27, 227–356; J. B. Donnet, C. Lemoigne, T. K. Wang, C.

- M. Peng, M. Samirant, A. Eckhardt, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1997**, 134, 875–890.
- [2] D. Delabouglise, B. Marcus, M. Mer-moux, P. Bouvier, J. Chane-Tune, J.-P. Petit, P. Mailley, T. Livache, *Chem. Commun.* **2003**, 2698–2699; T. L. Clare, B. H. Clare, B. M. Nichols, N. L. Abbott, R. J. Hamers, *Langmuir* **2005**, 21, 6344–6355.
- [3] T. S. Huang, Y. Tzeng, Y. K. Liu, Y. C. Chen, K. R. Walker, R. Guntupalli, C. Liu, *Diamond Relat. Mater.* **2004**, 13, 1098–1102; L.-C. L. Huang, H.-C. Chang, *Langmuir* **2004**, 20, 5879–5884; X. Kong, L.-C. L. Huang, S.-C. V. Liao, C.-C. Han, H.-C. Chang, *Anal. Chem.* **2005**, 77, 4273–4277.
- [4] V. F. Loktev, V. I. Makal'ski, I. V. Stoyanova, A. V. Kalinkin, V. A. Likhologov, *Carbon* **1990**, 28, 817–819; Y. Liu, Z. Gu, J. L. Margrave, V. N. Khabashe-sku, *Chem. Mater.* **2004**, 16, 3924–3930; T. Nakamura, M. Ishihara, T. Ohana, Y. Koga, *Chem. Commun.* **2003**, 900–901; T. Tsubota, O. Hirabayashi, S. Ida, S. Nagaoka, M. Nagata, Y. Matsumoto, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2002**, 4, 806–811.
- [5] A. Härtl, E. Schmich, J. A. Garrido, J. Hernando, S. C. R. Catharino, S. Walter, P. Feulner, A. Kromka, D. Steinmüller, A. Stutzmann, *Nat. Mater.* **2004**, 3, 736–742; A. Krüger, Y. Liang, G. Jarre, J. Stegk, *J. Mater. Chem.* **2006**, 16, 2322–2328; G.-J. Zhang, K.-S. Song, Y. Nakamura, T. Ueno, T. Funatsu, I. Ohdo-mari, H. Kawarada, *Langmuir* **2006**, 22, 3728–3734.
- [6] K.-S. Song, H. Kawarada, *New Diamond Front. Carbon Technol.* **2005**, 5, 325–335; G. M. Swain, *Semicond. Semimetals* **2004**, 77, 121–148.
- [7] A. Gruber, A. Dräbenstedt, C. Tietz, L. Fleury, J. Wrachtrup, C. von Borczys-kowski, *Science* **1997**, 276, 2012–2014.
- [8] S.-J. Yu, M.-W. Kang, H.-C. Chang, K.-M. Chen, Y.-C. Yu, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 17604–17605.
- [9] K. Takahashi, M. Tanga, O. Takai, H. Okamura, *Diamond Relat. Mater.* **2003**, 12, 572–576.
- [10] K. Ushizawa, Y. Sato, T. Mitsumori, T. Machinami, T. Ueda, T. Ando, *Chem. Phys. Lett.* **2002**, 351, 105–108.
- [11] W. Yang, O. Auciello, J. E. Butler, W. Cai, J. A. Carlisle, J. E. Gerbi, D. M. Gruen, T. Knickerbocker, T. L. Lasseter, J. N. Russel, Jr., L. M. Smith, R. J. Hamers, *Nat. Mater.* **2002**, 1, 253–257.
- [12] B. Rezek, D.-C. Shin, T. Nakamura, C. E. Nebel, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 3884–3885.