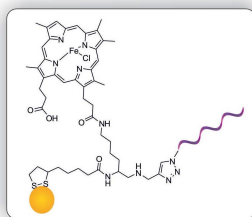
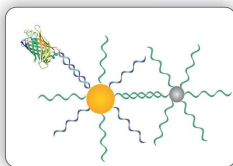




Dania Kendziora (Autor)  
**Biofunktionalisierung von metallischen  
Nanopartikeln zur Entwicklung von Biosensoren**

Dania Marile Kendziora

**Biofunktionalisierung  
von metallischen Nanopartikeln  
zur Entwicklung von Biosensoren**



Cuvillier Verlag Göttingen  
Internationaler wissenschaftlicher Fachverlag

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/6424>

Copyright:  
Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,  
Germany  
Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: [info@cuvillier.de](mailto:info@cuvillier.de), Website: <https://cuvillier.de>



# 1 Einleitung

In den letzten Jahren gerieten Nanopartikel immer mehr in den Focus der Wissenschaft, da sie aufgrund ihrer geringen Größe besondere Eigenschaften besitzen, welche unter anderem für technische Entwicklungen oder in der biomedizinischen Forschung untersucht werden.<sup>[1]</sup> Nanopartikel können sowohl aus anorganischen als auch organischen Ausgangsstoffen synthetisiert werden und sind derzeit industriell vor allem zur Veränderung und Verbesserung von Materialien im Einsatz. Darüber hinaus wurden verschiedene biologische, chemische und medizinische Anwendungen entwickelt. In diesem Zusammenhang sind metallische Nanopartikel von besonderem Interesse, deren spezielle Eigenschaften und Anwendungsmöglichkeiten im Verlauf der folgenden Kapitel beschrieben werden sollen.

## 1.1 Synthese und Eigenschaften von metallischen Nanopartikeln

Als Nanopartikel werden Substanzen bezeichnet, deren Größe zwischen einem und 100 nm und damit zwischen Einzelatomen und „*bulk*“ Material liegt. Die geringe Größe hat besondere Eigenschaften wie zum Beispiel starke optische Absorption, eine Verbesserung des Oberflächen-zu-Volumen Verhältnisses und die Möglichkeit zur Aufnahme in Zellen zur Folge. Diese Eigenschaften verursachen eine Verbesserung der Aktivität und Funktionalität von Nanomaterialien.<sup>[2]</sup> Unterscheiden lassen sich hierbei Oberflächen- bzw. Größen-abhängige Partikeleigenschaften, sowie Größen-abhängige Quanteneffekte.<sup>[3]</sup>

Durch das hohe Oberflächen-zu-Volumen Verhältnis der Nanopartikel werden inhärente Materialeigenschaften verstärkt. Dies zeigt sich zum Beispiel durch verbesserte Katalyse von chemischen Reaktionen oder in vielen Dünnschicht-Anwendungen. Die geringe Größe von Nanopartikeln führt direkt zu veränderten Eigenschaften, die z.B. in optisch transparenten Schichten und in der Molekularbiologie oder Medizin Anwendung finden. Beeinflusst die geringe Größe von Nanopartikeln deren elektronische Organisation, wird dies als Größen-abhängiger Quanteneffekt bezeichnet.<sup>[4]</sup> Eins der bekanntesten Beispiele dafür ist die Verschiebung der Plasmonenresonanz von Gold Nanopartikeln, welche je nach Durchmesser der Partikel variiert und bereits 1857 von Faraday entdeckt wurde.<sup>[5]</sup> Diese resultiert in einem spezifischen Absorptionsma-



ximum, welches sich optisch in einer Farbänderung der Lösung abhängig von der Größe der Nanopartikel bemerkbar macht.<sup>[3]</sup> Durch Anregung der Oberflächenplasmonen von metallischen Nanopartikeln kann zudem deren elektromagnetisches Feld verstärkt werden, was in zahlreichen spektroskopischen Anwendungen resultiert. Das plasmonische elektromagnetische Feld führt u.a. zum Effekt der Oberflächen-verstärkten Raman Spektroskopie (SERS, engl.: *Surface Enhanced Raman Spectroscopy*), auf deren Anwendungsmöglichkeiten später näher eingegangen wird (vgl. Kapitel 1.3.2).<sup>[6]</sup> Darüber hinaus ermöglichen Oberflächenplasmonen die Katalyse von chemischen Reaktionen.<sup>[7]</sup> Die Resonanz der Oberflächenplasmonen hängt neben der Größe auch stark von der Form der Nanostrukturen ab.<sup>[8-10]</sup> Die Variation beider Parameter bestimmt die optischen Eigenschaften von Nanopartikeln und ermöglicht deren Anwendung als optische Sensoren.<sup>[11]</sup> So wurde zum Beispiel die Analyt-induzierte Aggregation von modifizierten Gold Nanopartikeln (AuNP) verwendet, um kolorimetrische Methoden zum Nachweis von Biomolekülen oder Ionen zu entwickeln. Durch gezielte Aggregation der Gold Nanopartikel wird die Größe der Konstrukte und damit deren Farbe verändert. Diese Veränderung kann mittels UV-Vis Spektroskopie untersucht werden.<sup>[12-13]</sup>

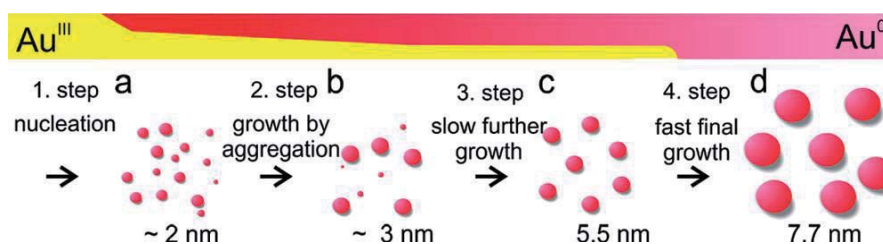
Zur Kontrolle der Größe und Form von Nanopartikeln wurden im Laufe der letzten Jahre unterschiedlichste Methoden zur Synthese von Nanopartikeln entwickelt, die vom Zerkleinern der Feststoffe über Methoden in der Gas-Phase bis hin zu wässrigen Synthesen reichen. So können Nanopartikel zum Beispiel durch Bestrahlung mit einem Laser vom elementaren Feststoff abgespalten werden.<sup>[14-15]</sup> Andere Methoden gehen von der Reduktion von Metallionen aus, welche anschließend durch Zugabe von Liganden kontrolliert Nanopartikel bilden.<sup>[3, 16]</sup> Für biomedizinische Anwendungen spielt die gute Verteilung der Nanopartikel in wässrigem Medium eine wichtige Rolle. Daher werden in den folgenden Kapiteln Synthesen besprochen, die in Nanopartikel resultieren, die in Wasser suspendiert werden können. Es wurden beispielhaft Synthesen für Gold Nanopartikel gewählt, da diese aufgrund ihrer hohen chemischen Stabilität und Anwendbarkeit in unterschiedlichen Gebieten wissenschaftlich von Interesse sind.<sup>[17]</sup>



### 1.1.1 Citrat-Methode zur Synthese von Gold Nanopartikeln

Die vermutlich bekannteste und am besten analysierte Methode, um Nanopartikel im wässrigen Medium zu synthetisieren, ist die Citrat-Methode.<sup>[18-21]</sup> Bei dieser werden Gold-Ionen in Gegenwart von Natriumcitrat durch Erhitzen zu elementaren Gold Nanopartikeln reduziert. Citrat dient dabei gleichzeitig als Reduktionsmittel und als stabilisierender Ligand, der die Größe der gebildeten Nanopartikel beeinflusst.<sup>[18]</sup>

Der genaue Mechanismus der Bildung von Gold Nanopartikeln ist nicht vollständig aufgeklärt, sondern Gegenstand aktueller Forschung.<sup>[18-19, 22-23]</sup> Ein weitgehend akzeptierter Erklärungsansatz ist der *Nucleation-Growth* Mechanismus, bei dem die Partikel durch schnelle Keimbildung und anschließendes Diffusions-gesteuertes Wachstum gebildet werden.<sup>[20, 24]</sup> Ji *et al.* konnten dagegen zeigen, dass der pH-Wert der Lösung, welcher durch unterschiedliche Citrat-Konzentrationen variiert wird, den Mechanismus beeinflusst. Sie konnten beobachten, dass für saure pH-Werte unter 6 ein komplexerer Prozess vorliegt, bei dem, ausgehend von der Keimbildung, zunächst polykristalline Nanodrähte gebildet werden, die anschließend zu sphärischen Partikeln reifen. Darüber hinaus konnten bei festen Edukt-Konzentrationen ausschließlich durch Veränderung des pH-Werts von 6,5 bis 7,5 monodisperse Gold Nanopartikel mit Durchmessern zwischen 20 und 40 nm synthetisiert werden.<sup>[18]</sup>



**Abbildung 1:** Schematische Darstellung des postulierten Mechanismus der Bildung von Gold Nanopartikeln durch Reduktion mit Natriumcitrat.<sup>[19]</sup>

Auch Röntgenstrahlanalysen führten zur Postulierung eines mehrstufigen Prozesses für die Bildung von Gold Nanopartikeln durch Citrat-Reduktion. Nach Polte *et al.* werden zunächst kleine Keime von etwa 2 nm gebildet, welche anschließend durch Aggregation untereinander und durch weitere Reduktion des Gold (III) vergrößert werden (s. Abbildung 1).<sup>[19]</sup>



Obwohl der Mechanismus der Citrat-Reduktion noch nicht vollständig verstanden ist, sind dennoch ausreichend Kenntnisse zur Kontrolle der Größe von Gold Nanopartikeln vorhanden, um diese zur gezielten Synthese von unterschiedlich großen Gold Nanopartikeln einzusetzen. Zudem kann die Synthese in Wasser und ohne harsche Reduktionsmittel durchgeführt werden, was in Hinblick auf eine umweltfreundliche Reaktion für biologische Anwendung wünschenswert ist.

Ein Nachteil der Citrat-Methode liegt in der Notwendigkeit des Austauschs von Liganden zur komplexeren Funktionalisierung der Nanopartikel, da ausschließlich Citrat zur Stabilisierung eingesetzt wird. Dies erfordert einen weiteren Schritt bei der Modifikation von Nanopartikeln, welcher bei Verwendung anderer Reduktionsmethoden umgangen werden kann.

### ***1.1.2 Synthese von Gold Nanopartikeln mit Thiol-Liganden***

Eine weitere gut untersuchte Methode zur Synthese von Gold Nanopartikeln ist die Reduktion mit Natriumborhydrid in Gegenwart von verschiedenen Thiolen als Liganden. Die Verwendung dieser Liganden erlaubt die direkte Modifikation von Gold Nanopartikeln mit funktionellen Gruppen, welche weitere Reaktionen zum Beispiel mit biologisch aktiven Molekülen ermöglichen.<sup>[25]</sup> Im Laufe der letzten Jahre wurden verschiedene Vorschriften zur Reduktion von Gold Nanopartikeln entwickelt, die sich in der Wahl des Thiols, des Lösungsmittels und den verwendeten Verhältnissen zwischen Ligand und Goldsalz unterscheiden.<sup>[26]</sup> Während viele Synthesen in organischen Lösungsmitteln oder Zwei-Phasen Systemen stattfinden<sup>[27]</sup>, haben Oh *et al.* vor kurzem eine Variante dieser Reaktion in wässriger Lösung beschrieben.<sup>[28]</sup> Diese Synthese beruht auf der Reduktion von Tetrachloridogoldsäure durch Natriumborhydrid in Gegenwart von Liponsäure oder ihren Derivaten in Wasser. Durch Variation der Menge an zugegebenen Liganden konnten die Größe der Nanopartikel in einem Bereich von 1,5 bis 18 nm kontrolliert werden. Mit dieser Methode konnten Gold Nanopartikel mit Liganden, welche ausgehend von Liponsäure mit Polyethylenglykol modifiziert wurden, synthetisiert werden. Diese zeigen eine besondere Stabilität gegenüber sauren pH-Werten, bei denen Gold Nanopartikel mit anderen Liganden aggregierten. Darüber hinaus wurden Natriumchlorid-Konzentrationen bis zu 2 M toleriert, die bei Liponsäure-beschichteten Gold Nanopartikel zur Aggregation führten. Dies zeigt, dass mit Hilfe dieser Methode abhängig von den eingesetzten Liganden sehr stabile Gold

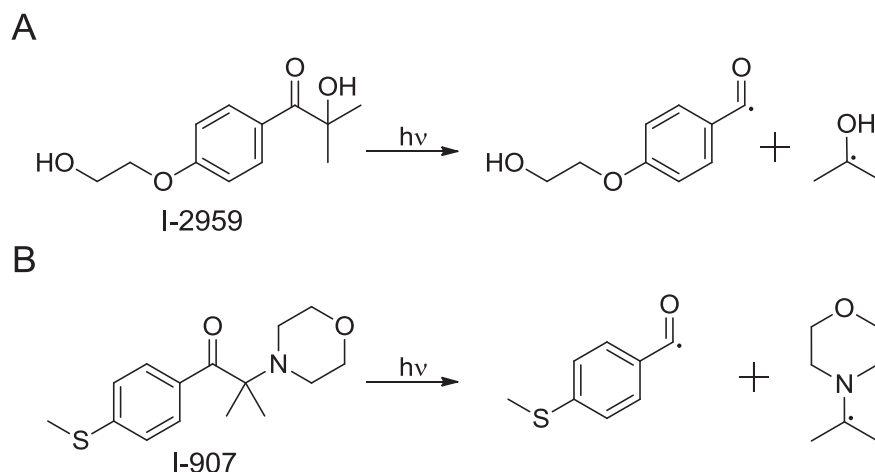


Nanopartikel synthetisiert werden können.<sup>[28]</sup> Aufgrund des starken Reduktionsmittels kann diese Methode jedoch nicht direkt für die Modifikation von Gold Nanopartikeln mit Biomolekülen verwendet werden, da diese unter den benötigten Bedingungen nicht stabil wären.

### ***1.1.3 Photochemische Synthese von Gold Nanopartikeln***

Eine vergleichsweise milde Synthese von Nanopartikeln stellen photochemische Ansätze dar, bei denen Radikale erzeugt werden, die zur Reduktion eingesetzt werden können. Diese lösen starke Reduktionsmittel wie Natriumborhydrid ab und tragen somit zur Entwicklung umweltschonender Methoden bei. Darüber hinaus bieten Licht-aktivierte Vorgänge die Möglichkeit zur Kontrolle der gebildeten Nanopartikel sowohl in Bezug auf die Größe als auch auf den zeitlichen und räumlichen Aspekt der Synthese.

Ein bekanntes Beispiel ist die Bestrahlung des Photoinitiators Irgacure-2959 (I-2959) mit Licht im Bereich von 350 nm, wodurch in einer Norrish Typ 1 Spaltung sowohl Ketyl- als auch Benzoylradikale entstehen (s. Abbildung 2 A).<sup>[29-30]</sup> Ketylradikale können Metallionen zu elementarem Metall reduzieren, während Benzoylradikale zur korrespondierenden Benzoesäure umgewandelt werden, welche wiederum zur Stabilisierung der Nanopartikel beiträgt. Die reduzierenden Eigenschaften der Ketylradikale wurden für die Synthese von Nanopartikeln, ausgehend von verschiedenen Metallionen, ausgenutzt, welche von Gold über Silber zu Kupfer und Platin Nanopartikeln führten.<sup>[30]</sup> Dabei konnte abhängig von der Lichtquelle die Größe beeinflusst werden, was besonders für Goldionen gut untersucht ist.<sup>[31]</sup> Alternativ zu I-2959 wurde der ebenfalls Benzoin-basierte Photoinitiator Irgacure-907 (I-907) in der Synthese von Cobalt oder Ruthenium Nanostrukturen verwendet (s. Abbildung 2 B).<sup>[32]</sup>



**Abbildung 2:** Schematische Darstellung der photokatalytischen Spaltung von I-2959 (A) und I-907 (B).

Die Bestrahlung von I-907 resultiert in  $\alpha$ -Aminoalkylradikalen. Diese stellen zwar bessere Elektronendonoren dar, können aber aufgrund des enthaltenen Schwefels und Stickstoffs Rückstände auf den gebildeten Nanopartikel hinterlassen. Die Nebenprodukte der Synthese mit I-2959 beschränken sich dagegen auf Aceton und die stabilisierende Benzoesäure, wodurch Nanopartikel mit relativ reinen Oberflächen gebildet werden. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass Benzoesäure leicht durch andere Liganden zur Funktionalisierung der Nanopartikel ausgetauscht werden kann, da nur eine schwache Bindung mit den Nanopartikel ausgebildet wird.<sup>[30]</sup>

Die räumliche Kontrolle der photochemischen Synthese von Nanopartikel wurde vor kurzem zur Entwicklung eines Speicherchips eingesetzt. Dieser basierte auf einem DNA-Biopolymer Film, welcher zwischen zwei Elektroden positioniert war. Durch gezielte Bestrahlung dieses Films in Gegenwart von Silbertrifluoroacetat und I-2959 konnten Silber Nanopartikel an definierten Positionen synthetisiert werden, welche die Leitfähigkeit des Films veränderten.<sup>[33]</sup>

Ein weiteres Beispiel zur definierten Synthese von Silber Nanopartikeln auf Polymerfasern wurde von Versace *et al.* gezeigt.<sup>[34]</sup> Photochemisch modifizierte Mikrofasern wurden dazu mit Silbernitrat, Antraquinon (AQ) und *N*-Methyldiethanolamin (MDEA) gemischt. Durch Bestrahlung wurde AQ in einen angeregten Zustand gebracht, der die Bildung des  $\alpha$ -Aminoalkylradikals MDEA $\cdot$  ermöglichte, welches die Silberionen zu elementarem Silber reduzieren konnte. Durch einen zweiten Prozess kann ein AQ Ketylradikalanion gebildet werden, was ebenfalls für die Bildung von AgNP verantwortlich gemacht werden kann. Durch diese beiden kooperierenden Pro-





zesse können die Silberionen vollständig umgesetzt werden. Mit Hilfe der dargestellten Methode konnten Polymerfasern mit antibakterieller Wirkung hergestellt werden.<sup>[34]</sup>

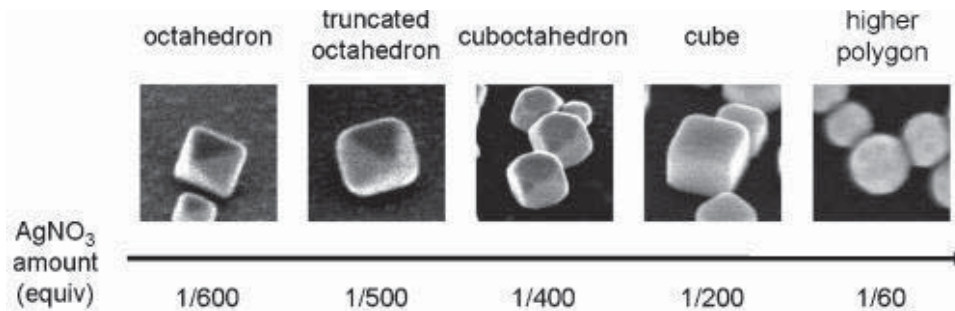
Die photochemische Synthese von Nanopartikeln wurde bereits für die Herstellung von Materialien zur Datenspeicherung oder mit antibakterieller Wirkung eingesetzt. Die räumliche oder zeitliche Kontrolle der Synthese bietet darüber hinaus das Potential für vielfältige weitere Anwendungen.

#### ***1.1.4 Polyol-Methode zur Synthese von metallischen Nanopartikeln***

In den bisher vorgestellten Methoden wurden Metallionen in Lösung durch Zugabe eines Reduktionsmittels und eines Liganden zu Nanopartikeln synthetisiert. Bei der Polyol-Synthese wird das Lösungsmittel in Gegenwart eines stabilisierenden Polymers zur Reduktion von Metallsalzen verwendet. Häufig eingesetzte Edukte sind Ethylenglykol als Lösungsmittel und Polyvinylpyrrolidon (PVP) als Ligand.<sup>[35]</sup> Die Bildung der Nanopartikel wird durch Erhitzen unter Rückfluss katalysiert. Durch Kontrolle der Reaktionsbedingungen lassen sich mit Hilfe dieser Methode sowohl sphärische Nanopartikel als auch vielfältige andere Nanostrukturen bilden. Neben der gewählten Temperatur, welche einen großen Einfluss auf die Größe und die Verteilung der gebildeten Nanopartikeln hat, kann durch Additive die Größe und Form variiert werden. Lee *et al.* konnten durch Zugabe von Natriumhydrogencarbonat hochkonzentrierte, sphärische Gold Nanopartikel mit Durchmessern unter 20 nm synthetisieren.<sup>[35]</sup> Allein durch Kontrolle der Temperatur und der Variation der PVP-Konzentration konnten bis dahin nur Gold Nanopartikel mit größeren Durchmessern stabil dargestellt werden.<sup>[36]</sup>

Die Verwendung von Pentandiol zur Reduktion von Tetrachloridogoldsäure in Gegenwart von PVP konnte zur Synthese von polyedrischen Gold Nanostrukturen verwendet werden, deren Form durch Zugabe von geringen Mengen an Silbernitrat kontrolliert werden konnte (s. Abbildung 3).<sup>[37]</sup>





**Abbildung 3:** Polyedrische Strukturen von Gold Nanokristallen. Dargestellt sind Aufnahmen vom Rasterelektronenmikroskop in Abhängigkeit der Menge an Silbernitrat ( $\text{AgNO}_3$ ).<sup>[37]</sup>

Pentadiol wurde in dieser Synthese wegen seiner höheren Siedetemperatur gegenüber Ethylenglykol bevorzugt verwendet, um thermodynamisch stabilere und gleichförmigere Strukturen zu erhalten. Der Einsatz von Silbernitrat resultierte in Silberspezies, die je nach Konzentration verschiedene Kristallebenen der Gold Strukturen bevorzugen oder unterdrücken und damit die Form der gebildeten Kristalle beeinflussen.<sup>[37]</sup>

Während für die Synthese von Gold Nanopartikeln durch die Polyol-Methode noch vergleichsweise wenige Beispiele bekannt sind, wurde die Anwendung dieser Methoden zur Synthese von Silber Nanostrukturen ausführlicher untersucht. Dabei beschränkte sich die Synthese nicht nur auf Nanowürfel<sup>[38]</sup> und verschiedene polyedrische Strukturen<sup>[39-40]</sup>, sondern konnte auch auf Nanostäbchen<sup>[41]</sup> und Nanodrähte<sup>[42]</sup> erweitert werden. Es handelt sich also um eine vielversprechende Methode, um unterschiedlich geformte Nanostrukturen zu synthetisieren.

### 1.1.5 Synthese von fluoreszenten Gold Nanopartikeln

Zusätzlich zu den bisher beschriebenen Eigenschaften von metallischen Nanopartikeln können fluoreszente Gold Nanocluster mit geringen Durchmessern  $< 5$  nm gebildet werden. Ursache für die Fluoreszenz von kleinen Nanopartikeln sind die bereits erörterten Quanteneffekte.<sup>[43]</sup> Fluoreszente Gold Nanopartikel zeigen im Gegensatz zu den ebenfalls fluoreszenten Quantenpunkten eine bessere Kompatibilität und geringere Toxizität, so dass sie für biomedizinische Anwendungen geeignet sind.<sup>[44]</sup> Die Methoden zur Synthese von fluoreszenten Gold Nanopartikeln sind dabei ebenso vielfältig wie die bereits beschriebenen Synthesen, welche in größeren Nanostrukturen resultierten.<sup>[43-46]</sup>



Shang *et al.* konnten vor kurzem die wässrige Synthese von Liponsäure-stabilisierten Gold Nanoclustern durch Reduktion mit Natriumborhydrid bei basischen pH-Wert zeigen. Diese wiesen eine Quantenausbeute von etwa 0,6% sowie eine lange Fluoreszenzlebensdauer auf.<sup>[47]</sup> Die Quantenausbeute spiegelt dabei die Anzahl der emittierten Photonen im Vergleich zu den absorbierten Photonen wieder. Je höher also die Quantenausbeute eines Fluorophors ist, desto heller ist seine Emission. Die Lebensdauer gibt dagegen die Zeit an, die das Fluorophor im angeregten Zustand verbleibt und somit zur Interaktion mit anderen Molekülen zur Verfügung steht.<sup>[48]</sup> Bisher in der Literatur beschriebene Quantenausbeuten von Gold Nanoclustern befanden sich meist in einer Größenordnung um 0,10%.<sup>[49]</sup> Vor kurzem konnten dagegen mit einer umweltfreundlichen Methode durch Reduktion von Tetrachloridogoldsäure in Gegenwart von Trypsin bei basischem pH-Wert kleine Goldcluster synthetisiert werden, welche eine Quantenausbeute von 6,5% aufwiesen.<sup>[46]</sup> Zusätzlich zum Größeneffekt konnte ein Einfluss der Oberflächenmodifikation, also der gewählten Liganden, auf die Quantenausbeute von fluoreszenten Gold Nanoclustern beobachtet werden.<sup>[43]</sup>

Aufgrund der inhärenten Fluoreszenz und der hohen Stabilität eignen sich vor allem fluoreszente Gold Nanopartikel zum Einsatz in Zellexperimenten und als optische Marker. Für viele dieser Anwendungen ist jedoch die gezielte Funktionalisierung notwendig. Im nächsten Kapitel wird diese beispielhaft für die Immobilisierung von Biomolekülen besprochen.

## 1.2 Biofunktionalisierung von metallischen Nanopartikeln

Nanopartikel werden häufig in Kombination mit Biomolekülen angewendet, wozu die gezielte Funktionalisierung ihrer Oberflächen notwendig ist. Dazu wurden im Lauf der letzten Jahre verschiedene Methoden entwickelt<sup>[50-51]</sup>, die im folgenden Kapitel anhand einiger Beispiele genauer beschrieben werden sollen.



### 1.2.1 Linker zur Modifikation von Gold Nanopartikeln

Zur Funktionalisierung von Gold Nanopartikeln wird häufig die starke Bindung zwischen Gold und Thiolen ausgenutzt. Es liegen jedoch nicht alle Biomoleküle natürlich mit einer Thiolgruppe vor, so dass unterschiedliche Linker zur Verknüpfung zwischen Biomolekül und Nanopartikel entwickelt wurden. Bei der Entwicklung von diesen ist ein wichtiges Kriterium die Wahl der geeigneten funktionellen Gruppen. Dabei muss eine Gruppe an Nanopartikeln binden können, während eine zweite funktionelle Gruppe zur weiteren Modifikation benötigt wird. Zur Immobilisierung auf Gold Nanopartikeln können zum Beispiel Thiole, Catechole oder primäre Amine verwendet werden. Die weitere Funktionalisierung der Linker sollte anschließend durch einfache, möglichst bioorthogonale Reaktionen durchgeführt werden.<sup>[52]</sup> Geeignete kovalente Verknüpfungen sind die Diels-Alder Reaktion zwischen Dienen und Alkenen,<sup>[53]</sup> die Thiol-Ene Reaktion<sup>[54]</sup> oder die Kupfer-katalysierte Azid-Alkin Cycloaddition (CuAAC, engl.: *Cu(I)-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition*).<sup>[55]</sup>

Darüber hinaus sind nicht-kovalente Wechselwirkungen bekannt, die ausreichend starke Bindungen zur Verknüpfung unterschiedlicher Moleküle eingehen. Solche Wechselwirkungen werden beispielsweise standardmäßig bei der Reinigung von Proteinen mit Polyhistidin-Tag ausgenutzt, welcher zusammen mit  $\text{Ni}^{2+}$  und Nitrilotriessigsäure einen Komplex ausbildet. Mit Hilfe dieser Methode konnten verschiedene Proteine mit Polyhistidin-Tag auf Nanomaterialien wie Gold Nanopartikeln und Quantenpunkten immobilisiert werden, deren Oberfläche mit Nitrilotriessigsäure modifiziert war.<sup>[56-57]</sup>

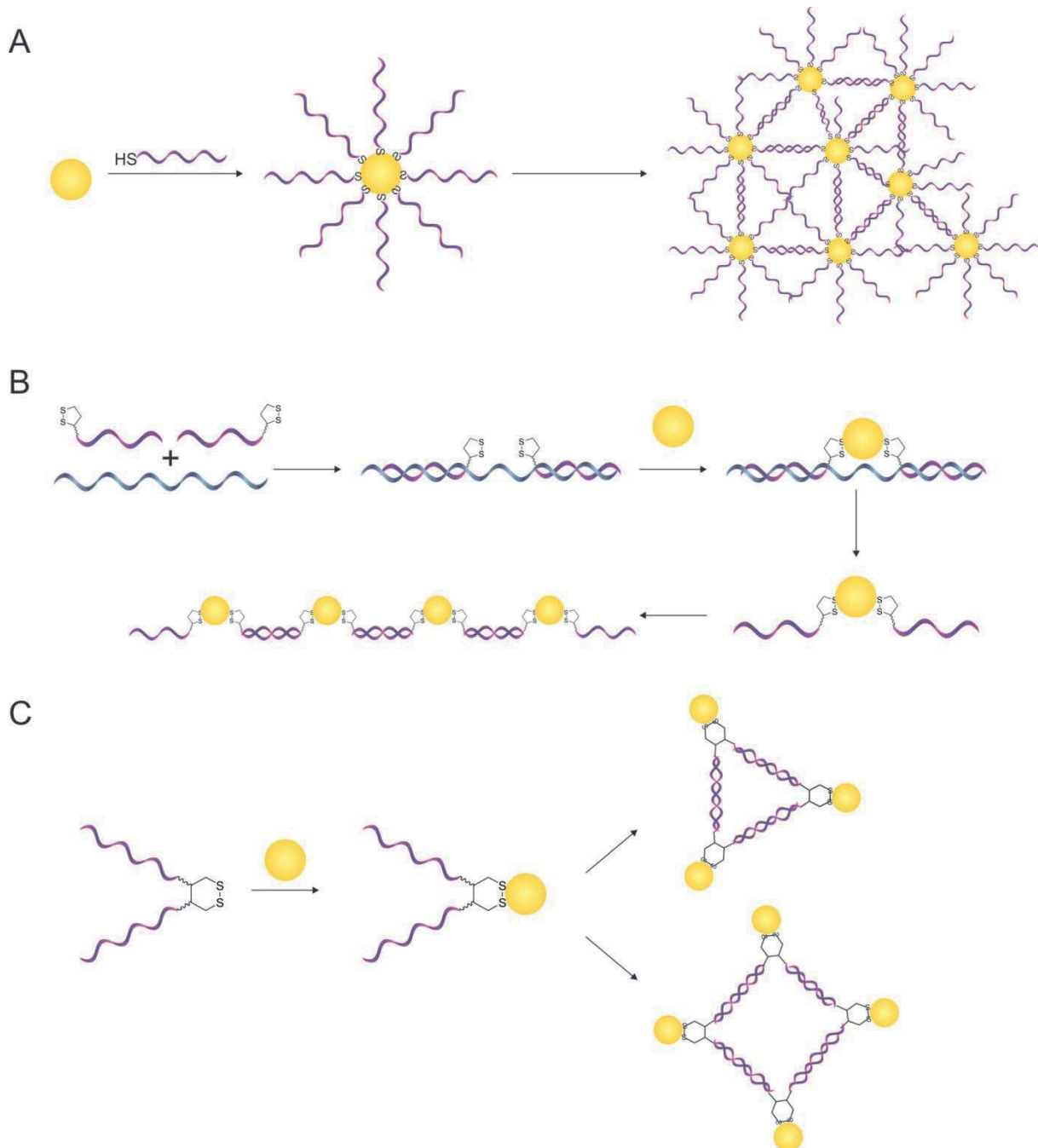
Ein weiteres wichtiges Kriterium bei der Wahl des Linkermoleküls ist die Löslichkeit der resultierenden Nanopartikel. Da die meisten Biomoleküle mit organischen Lösungsmitteln nicht kompatibel sind, werden häufig wasserlösliche Polyethylenglykol-basierte Linker verwendet, wodurch die Biofunktionalisierung unter physiologischen Bedingungen durchgeführt werden kann.<sup>[58]</sup> Die Verwendung von Polyethylenglykol und anderen Polymeren ermöglicht die Passivierung der Oberfläche von Nanopartikel zur Vermeidung von unspezifischen Wechselwirkungen. Darüber hinaus wurde eine erhöhte Stabilität der Gold Nanopartikel beobachtet.<sup>[59]</sup>

Beispielhaft für die Funktionalisierung von Nanopartikeln mit Biomolekülen wird in den folgenden Kapiteln die Immobilisierung von DNA und Proteinen beschrieben.



### ***1.2.2 Synthese von Gold Nanopartikel-DNA Konjugaten***

Eines der ersten Biomoleküle von Interesse, das auf Nanopartikeln immobilisiert wurde, war DNA. Die Synthese von Nanopartikel-DNA Konjugaten wurde vor fast 20 Jahren von Mirkin *et al.* berichtet.<sup>[60]</sup> Seitdem wurde die Stabilität solcher Konjugate stetig weiter verbessert.<sup>[61]</sup> Die am weitesten verbreitete Methode zur Synthese von Gold Nanopartikel-DNA Konjugaten ist die Verwendung von synthetischen Oligonukleotiden mit 5' oder 3'-Thiolgruppen. Diese ermöglicht die Verknüpfung mit Gold Nanopartikeln ohne Additive. Zur Verbesserung der Stabilität von DNA-modifizierten Gold Nanopartikeln wurde ein Reifungsprozess in Gegenwart von Natriumchlorid entwickelt, wodurch die Konjugate bei hohen Salzkonzentrationen über einen langen Zeitraum gelagert werden konnten.<sup>[62]</sup> Die spezifische Watson-Crick Basenpaarung ermöglicht die Hybridisierung von DNA-modifizierten Gold Nanopartikeln mit komplementären Oligonukleotiden zur spezifischen Detektion von fehlerhaften DNA Strängen, in denen Basen deletiert oder mutiert waren.<sup>[63-64]</sup> Neben diesen Anwendungen zur DNA-Diagnostik kann die Hybridisierung von komplementären Oligonukleotiden zum Aufbau von Gold Nanopartikel-Netzwerken verwendet werden.<sup>[61]</sup> Um diese Netzwerke kontrolliert aufbauen zu können, wurden Methoden entwickelt, mit denen unterschiedliche DNA-Stränge an definierten Positionen auf Gold Nanopartikeln gebunden werden können (s. Abbildung 4).



**Abbildung 4:** Schematische Darstellung zur Immobilisierung von DNA-Oligonukleotiden auf Gold Nanopartikeln. **A)** Immobilisierung von Thiol-DNA zur unkontrollierten Hybridisierung.<sup>[60]</sup> **B)** Templat-DNA gesteuerte Immobilisierung zum Aufbau linearer Ketten.<sup>[65]</sup> **C)** Immobilisierung von verzweigten DNA-Strukturen zum flexiblen Aufbau von Gold Nanopartikel-Strukturen.<sup>[66]</sup>

Zur linearen Anordnung von Gold Nanopartikeln wurden zwei thiolierte DNA-Stränge mit derselben Templat-DNA hybridisiert, wodurch die Thiolgruppen mit definiertem Abstand einander gegenüber positioniert wurden. In diesem Zwischenraum konnten anschließend Gold Nanopartikel eingebracht werden, so dass nach Entfernen der Templat-DNA Gold Nanopartikel-Konjugate mit zwei unterschiedlichen DNA-Strängen in einem  $180^\circ$  Winkel erhalten wurden (s. Abbildung 4 B).<sup>[65]</sup> Diese Methode