

Lichtgesteuerte geordnete Abscheidung von Nanopartikeln**

Tobias Vossmeyer, Erica DeIonno und James R. Heath*

Die Entwicklung von Methoden, mit denen Nanopartikel gezielt in chemisch und strukturell komplexe Umgebungen eingebaut werden können, ist eine Hauptaufgabe im Zusammenhang mit der Anwendung von Halbleiter- und Metall-Nanokristallen.^[1] Insbesondere die Verwendung derartiger Partikel in Schaltelementen erfordert oft ihre präzise Platzierung auf einem Träger. Neuere Methoden nutzen das Bedampfen einer Oberfläche, die zum Teil mit einer Maske bedeckt ist, oder Lithographie/Ätztechniken, um ein aus zwei unterschiedlichen Materialien bestehendes Muster herzustellen. Die Nanopartikel wachsen oder haften dann selektiv auf einem der beiden Materialien. Ein Beispiel ist das selektive heteroepitaktische Wachsen von Germanium „punkten“ auf Siliciummikrooberflächen, die mit einem SiO₂-Muster überzogen sind,^[2] ein zweites das selektive Anknüpfen von Partikeln über difunktionelle organische Liganden an eine Goldelektrode auf Silicium.^[3] Difunktionelle Liganden werden häufig eingesetzt, um Partikel an Träger zu binden.^[4] Diese Chemie ist aber nur dann räumlich selektiv, wenn die Liganden aus bestimmten Trägerabschnitten durch Laser- oder Elektronenstrahlabtragung physikalisch entfernt wurden. 1991 beschrieben Fodor et al. jedoch die Verwendung photolabiler, an Glaträger gebundener Schutzgruppen für die lichtgesteuerte kom-

binationische Festphasensynthese von Peptiden.^[5] Wir berichten nun über eine Erweiterung dieser Methode, die die lichtgesteuerte Anordnung von Goldnanopartikeln auf Glas- und Siliciumträgern ermöglicht. Der erste Aufbauprozess ist dabei zwar räumlich selektiv, jedoch nicht besonders effizient. Die gebundenen Partikel fungieren dann aber als chemisch selektives „Substrat“ für das Anknüpfen difunktioneller Liganden. Wir zeigen, daß sich diese Selektivität nutzen läßt, um das erste – photochemisch erzeugte – Muster zu verstärken und so beliebig dicke gemusterte Partikelfilme zu erzeugen.

Die lichtempfindlichen Träger erhielten wir folgendermaßen: Wir behandelten gereinigte Silicium- oder Glasplättchen mit (3-Aminopropyl)ethoxydimethylsilan (die Verwendung des

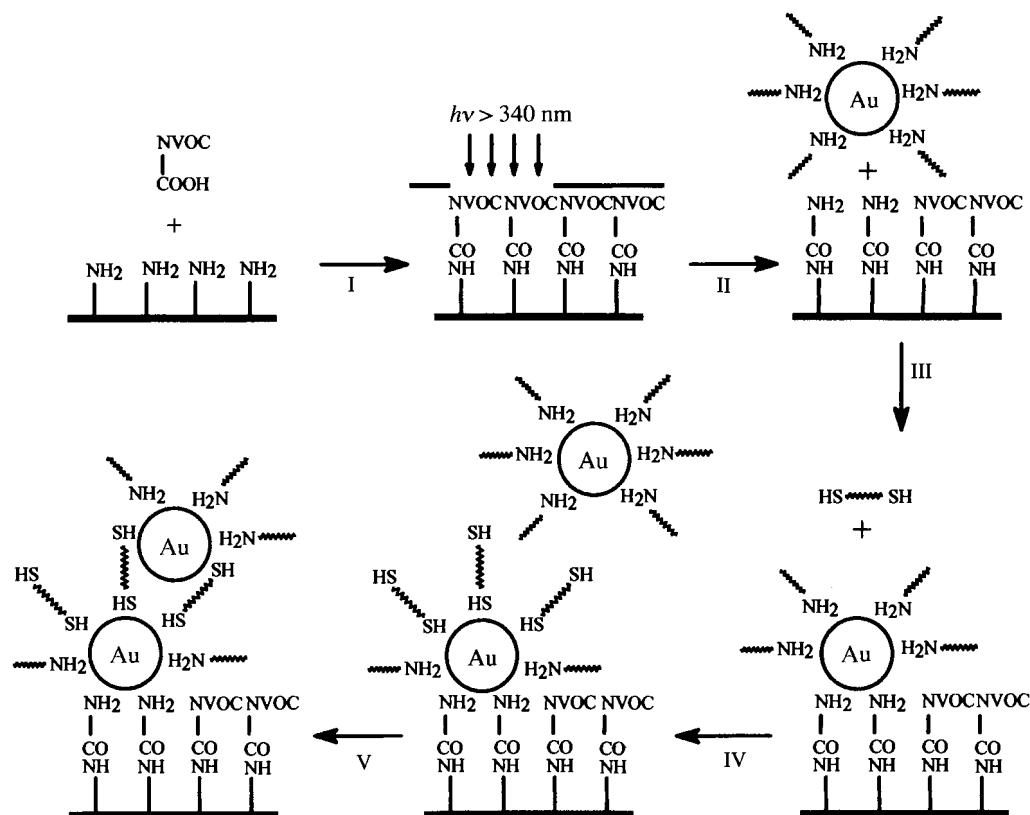


Abb. 1. Reaktionsschema für die lichtgesteuerte geordnete Abscheidung von Au-Nanopartikeln auf Glas- und Siliciumträgern. Ein mit Aminogruppen funktionalisierter Träger wird mit NVOC-GLY unter Bildung einer lichtempfindlichen Oberfläche umgesetzt (I). Beim Belichten durch eine Mikrochipmaske entsteht ein Muster aus freien und geschützten Aminogruppen (II), das mit einer Lösung Amin-stabilisierter Au-Nanopartikel behandelt wird (III). Die Au-Nanopartikel lagern sich über eine Ligandenaustauschreaktion in den Gebieten mit freien Aminogruppen ab. Um die Zahl der selektiv gebundenen Partikel zu erhöhen, werden die oberflächengebundenen Au-Nanopartikel anschließend mit Dithiolen verknüpft (IV). Erneutes Eintauchen der Probe in eine Au-Nanopartikel-Lösung (V) führt zur Verknüpfung von gelösten und bereits gebundenen Partikeln.

* Prof. Dr. J. R. Heath
Molecular Design Institute, Lawrence Berkeley Laboratory
and
University of California at Los Angeles
Department of Chemistry and Biochemistry
405 Hilgard Avenue, Los Angeles, CA 90095-1569 (USA)
Telefax: Int. + 310/206-4038
E-mail: heath@chem.ucla.edu

Dr. T. Vossmeyer, E. DeIonno
University of California at Los Angeles

** Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft, der Packard Foundation (Contract No. DE-AC03-76SF00098), dem Office of Naval Research (Order No. N00014-95-F-0099) und dem Direktor des US Department of Energy, Office of Energy Research, Office of Basic Energy Research, Division of Materials Sciences, gefördert. Wir danken S.-W. Chung für die SEM-Aufnahmen, Dr. L. Brandt, Dr. J. J. Shiang, V. Z. Doan und E. Newman für ihre Beiträge und Prof. Dr. H. Ringsdorf, Mainz, für wertvolle Diskussionen.

Monoalkoxysilans ist entscheidend, um eine Polymerisation des Silans zu vermeiden und die glatte Trägeroberfläche zu erhalten) und setzten anschließend die Aminogruppen mit der Carboxygruppe von Nitroveratryloxycarbonylglycin (NVOC-GLY) zu einer Probenoberfläche mit endständigen NVOC-Gruppen um (Abb. 1). NVOC ist eine photochemisch spaltbare Schutzgruppe für primäre Aminogruppen und wird in der Festphasensynthese von Peptiden verwendet.^[5–7] Durch Belichten des mit einer Mikrochipmaske abgedeckten Trägers mit UV/Vis-Strahlung wurde photochemisch ein Muster freier und geschützter Aminogruppen erhalten. Dieses konnte nach Umsetzen der freien Aminogruppen mit ATTO-TAG, einem spezifischen Fluoreszenzmarker für primäre Aminogruppen, unter dem Fluoreszenzmikroskop überprüft werden.

Um an die freien Aminogruppen des Musters Goldnanokristalle zu binden, stellten wir eine Lösung von Goldnanopartikeln mit einer Hülle aus 1-Dodecylamin in Toluol her (2.6 nm Durchmesser der Au-Kerne).^[8] Diese Partikel sind eher kinetisch als thermodynamisch stabilisiert. Sie gehen einen raschen Liganden austausch mit den oberflächengebundenen Aminogruppen ein, so daß ihre selektive Bindung an die gemusterte Trägeroberfläche erreicht wird. Dieser Zwei-Phasen-Liganden austausch wird ferner dadurch begünstigt, daß er mit der Abscheidung der Partikel auf der Probenoberfläche einhergeht. Nachdem die gemusterten Träger mehrere Stunden in der Goldnanopartikellosung belassen worden waren, konnte man die Bindung der Partikel an den Träger in manchen Fällen mit dem bloßen Auge wahrnehmen. Um die Zahl der gebundenen Partikel zu erhöhen, setzten wir die oberflächengebundenen Goldnanokristalle mit 1,8-Octandithiol um, so daß in diesen Bereichen freie, an die Oberfläche gebundene Thiole erhalten wurden. Anschließend wurden die Trägerplättchen erneut in die Partikellosung getaucht, um weitere Goldnanokristalle an die bereits gebundenen zu binden. Dieser Vorgang konnte mehrmals wiederholt werden. Auf diese Weise ließ sich der Kontrast des Mikromusters einfach steigern, so daß es mit bloßem Auge oder durch ein Lichtmikroskop leicht zu erkennen war. Abbildung 2a zeigt das mit einer CCD-Kamera aufgenommene

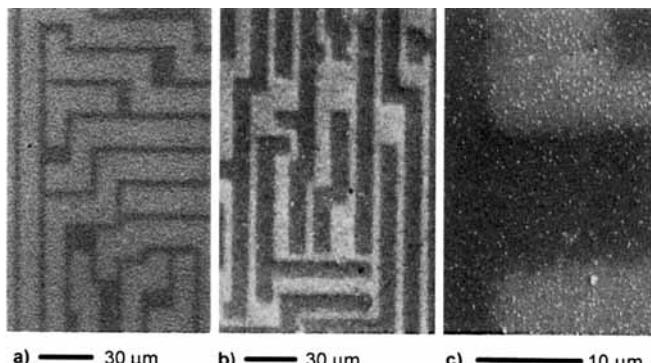


Abb. 2. a) Lichtmikroskopische Aufnahme von geordnet auf einem Glasträger vorliegenden Au-Nanopartikeln (dunklere Bereiche). Um einen guten Kontrast zu erhalten, wurde der Amplifizierungsschritt (siehe Text) viermal durchgeführt. b) SEM-Aufnahme von Au-Nanopartikeln (hellere Bereiche) auf einem Siliciumträger. Die Auflösung der lichtgesteuerten Partikelbindung beträgt mindestens 3 µm. Der Amplifizierungsschritt wurde dreimal durchgeführt. c) SEM-Aufnahme bei stärkerer Vergrößerung. Diese Aufnahme zeigt, daß auch nichtselektive Bindung eintritt, die auf Körnchenbildung durch Partikelagglomeration zurückzuführen ist. Die Körnchen sind über das gesamte Muster verteilt.

lichtmikroskopische Bild eines verstärkten Musters. Die Struktur der Mikromaske ist deutlich zu erkennen, was die erfolgreiche lichtgesteuerte geordnete Ablagerung der Goldnanopartikel belegt.

Mikromuster auf Silicium-Wafern wurden mit einem Raster elektronenmikroskop (SEM) abgebildet (Abb. 2b, c). Aus Abbildung 2c geht hervor, daß das Verfahren nicht völlig selektiv für die belichtete Oberfläche ist, da auch in unbelichteten Oberflächenbereichen einige Au-Nanokristallkörnchen vorkommen. Das Mikromuster kann ferner mit einem im Kontaktmodus arbeitenden Kraftmikroskop abgebildet werden. Diese Aufnahmen bestätigen, daß das Verfahren zur Partikelanordnung räumlich nicht völlig selektiv ist, liefern aber keine neuen Informationen.

Der Grad an Selektivität des Verfahrens wurde anhand makroskopischer Muster auf Glasträgern, die UV/Vis-spektrosko-

pisch geprüft werden konnten, quantifiziert. In Abbildung 3 sind drei Absorptionsspektren gegenübergestellt. Spektrum a ist das einer Lösung von Goldnanopartikeln. Die Spektren b und c wurden von derselben Glasplatte aufgenommen und entspre-

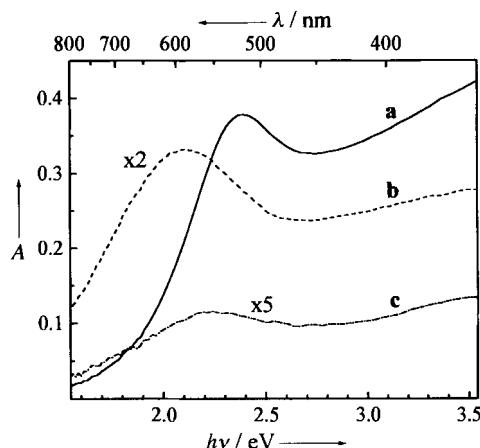


Abb. 3. UV/Vis-Absorptionsspektren von Au-Nanopartikeln in Toluol (a) und auf vor der Partikelbindung belichteten (b) bzw. unbelichteten Bereichen eines Glasträgers (c). Der Amplifizierungsschritt wurde dreimal durchgeführt. Die Plasmonabsorption bei etwa 2.1 eV ist in Spektrum b etwa siebenmal stärker als in Spektrum c, was auf etwa 15% nichtselektive Partikelbindung schließen läßt. Weitere Einzelheiten siehe Text. A = Extinktion.

chen Gebieten, die vor der Bindung der Goldnanopartikel belichtet bzw. nicht belichtet worden waren. Die Plasmonbanden bei etwa 2.1 bzw. 2.4 eV sind die optische Signatur der Goldnanopartikel und in allen drei Proben nachweisbar. Aus ihren relativen Intensitäten läßt sich auf einen Anteil an unspezifischer Bindung von etwa 15% schließen. Die Verschiebung und Verbreiterung der Plasmonbande bei den trägegebundenen Partikeln ist vermutlich auf Unterschiede in der dielektrischen Umgebung und auf Partikel-Partikel-Wechselwirkungen zurückzuführen. Dazu paßt, daß die Bande in Spektrum b stärker verschoben ist als die in Spektrum c, was für stärkere Partikel-Partikel-Wechselwirkungen im dickeren Film spricht.

Die hier beschriebene Methode zur lichtgesteuerten Anordnung von Nanopartikeln ist ein allgemeines Verfahren, das auch für die Herstellung komplexer Nano-/Mikrostrukturen in Frage kommen sollte. Da ein oberflächengebundenes Amin in ein Thiol überführt werden kann, sollte auch die lichtgesteuerte geordnete Abscheidung von CdS-, CdSe- und anderen Halbleiter- oder Metallpartikeln möglich sein. Durch schrittweises Entschützen und Derivatisieren der Oberflächengruppen sollten darüber hinaus auch Strukturen aus unterschiedlichen Arten von Nanopartikeln zugänglich sein. Von großem Interesse sind die elektronischen, optischen und katalytischen Eigenschaften derartiger Strukturen und natürlich der Versuch, die Dimensionen der hergestellten Muster durch Verwendung optischer Nahfeldtechniken und fester Tauchlinsen bis in den Submikrometerbereich zu verkleinern.

Experimentelles

Lichtempfindliche Glas- und Siliciumträger: Mikroskopier-Deckgläser bzw. Silicium-Wafer wurden wie in Lit. [9] beschrieben gereinigt und bis zum Gebrauch unter entionisiertem Wasser (18.2 MΩcm) aufbewahrt. Die Umsetzung mit (3-Aminopropyl)ethoxydimethylsilan führt nach Haller [10] durch: Die getrockneten Träger wurden unter Argon in einer 3.0 mM Lösung des Silans in wasserfreiem Toluol ca. 12 h unter Rückfluß erhitzt. NVOC-GLY wurde wie in Lit. [7] beschrieben hergestellt und entsprechend den Standardverfahren für die Festphasensynthese von Peptiden [11] mit den Aminogruppen des Trägers verknüpft. Dabei wurde Diisopropyl-

carbodiimid eingesetzt, um die freie Carboxygruppe in NVOC-GLY zu aktivieren. Die lichtempfindlichen Träger wurden bei -18°C unter Argon aufbewahrt und innerhalb einer Woche für die lithographischen Versuche eingesetzt. Alle Umsetzungen mit der lichtempfindlichen NVOC-Gruppe erfolgten in einer Dunkelkammer. Photolytisches Entschützen von oberflächengebundenem NVOC-GLY: Die lichtempfindlichen Träger wurden mit einer Mikrochip- oder einer makroskopischen Maske abgedeckt und mit einer 1000-W-Wolfram-Halogenlampe etwa 40 min bestrahlt. Um eine Schädigung der Probe durch kurzzeitige UV-Strahlung zu vermeiden, wurde ein 340-nm-Filter verwendet. Der Erfolg der NVOC-Abspaltung konnte durch Behandeln der freien Aminogruppen mit ATTO-TAG (Molecular Probes) geprüft werden[12]. Dazu wurden die Trägerscheiben unter einem Reichert-Jung-MET-Fluoreszenzmikroskop mit einer RCA-Siliciumverstärkungskamera aufgenommen.

Kupplung der Goldnanopartikel an die Aminogruppen der Trägeroberfläche: Die mit 1-Dodecylamin stabilisierten Goldnanopartikel von 2.6 nm Durchmesser wurden entsprechend Reaktionsschema 1 in Lit. [8] hergestellt. Für ihre Umsetzung mit den lithographisch gemusterten Trägern wurden sie in Toluol gelöst, wobei die Konzentration einer optischen Dichte von 0.5 bei 0.5 cm Weglänge und 550 nm entsprach. In dieser Lösung wurden die Träger ca. 12 h bei Raumtemperatur belassen. Um die Zahl der gebundenen Partikel zu erhöhen, wurden die Träger mit Toluol und Aceton gewaschen und anschließend 1 h in eine Lösung aus 100 μL (0.5 mmol) 1,8-Octanthiol in 5 mL Aceton getaut. Nach dem Waschen der Träger mit Toluol wurden sie erneut ca. 12 h mit einer frischen Nanopartikellosung behandelt. Dieser Prozeß konnte mehrere Male wiederholt werden. Der Anteil unspezifischer Bindung wurde UV/Vis-spektroskopisch an einem makroskopischen Muster auf einem Glasplättchen mit einem Diodenarray-Spektrophotometer 8451 A von Hewlett-Packard ermittelt.

Aufnahmen von Proben mit selektiv gebundenen Goldnanopartikeln: Für die SEM-Aufnahmen wurde ein bei 15 kV arbeitendes Cambridge-360-Rasterelektronenmikroskop verwendet. Die lichtmikroskopischen Aufnahmen wurden im Reflexionsmodus mit einem umgebauten und mit einer CCD-Kamera ausgerüsteten Reichert-Jung-Polyvar-Infrapol-Mikroskop gemacht.

Eingegangen am 29. November 1996 [Z9835]

Stichworte: Cluster · Gold · Nanostrukturen · Photochemie

- [1] a) H. Weller, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1159; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1079; b) A. P. Alivisatos, K. P. Johnsson, X. Peng, T. E. Wilson, C. J. Loweth, M. P. Bruchez, Jr., P. G. Schultz, *Nature* **1996**, *382*, 609; c) C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, R. C. Mucic, J. J. Storhoff, *ibid.* **1996**, *382*, 607; d) C. B. Murray, C. R. Kagan, M. G. Bawden, *Science* **1995**, *270*, 1335; e) S. A. Harfenist, Z. L. Wang, M. M. Alvarez, I. Vezmar, R. L. Whetten, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 13904; f) M. Brust, D. Bethell, D. J. Schiffrin, C. J. Kiely, *Adv. Mater.* **1995**, *7*, 795; g) P. Ohara, D. V. Leff, J. R. Heath, W. M. Gelbart, *Phys. Rev. Lett.* **1995**, *75*, 3466.
- [2] J. R. Heath, R. S. Williams, J. J. Shiang, S. J. Wind, J. Chu, C. D'Emic, W. Chen, C. L. Stanis, J. J. Buchignano, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 3144.
- [3] D. L. Klein, P. L. McEuen, J. E. Bowen Katari, R. Roth, A. P. Alivisatos, *Appl. Phys. Lett.* **1996**, *68*, 2574.
- [4] a) V. L. Colvin, A. N. Goldstein, A. P. Alivisatos, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 5221; b) S. Peschel, G. Schmid, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 1568; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 1442.
- [5] a) S. P. A. Fodor, J. L. Read, M. C. Pirrung, L. Stryer, A. T. Lu, D. Solas, *Science* **1991**, *251*, 767; b) siehe auch G. von Kiedrowski, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 839; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 822.
- [6] a) C. Y. Cho, E. J. Moran, S. R. Cherry, J. C. Stephens, S. P. A. Fodor, C. L. Adams, A. Sundaram, J. W. Jacobs, P. G. Schultz, *Science* **1993**, *261*, 1303; b) A. Patchornik, B. Amit, R. B. Woodward, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 6333.
- [7] A. Patchornik, B. Amit, R. B. Woodward, *Peptides, Proc. Eur. Pept. Symp.*, North-Holland, Amsterdam, **1971**, S. 12.
- [8] D. V. Leff, L. Brandt, J. R. Heath, *Langmuir* **1996**, *12*, 4723.
- [9] M. R. Linford, P. Fenter, P. M. Eisenberger, C. E. D. Chidsey, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 3145.
- [10] I. Haller, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 8050.
- [11] Siehe beispielsweise J. M. Stewart, J. D. Young, *Solid Phase Peptide Synthesis*, 2. Aufl., Pierce Chemical Company, Rockford, IL, **1984**.
- [12] W. T. Müller, D. L. Klein, T. Lee, J. Clarke, P. L. McEuen, P. G. Schultz, *Science* **1995**, *268*, 272.

Proteasekatalysierter Peptidaufbau vom N- zum C-Terminus: eine vorteilhafte Strategie**

Frank Bordusa, Dirk Ullmann und Hans-Dieter Jakubke*

Mit chemischen Kupplungsmethoden ist es wegen des permanenten Racemisierungsrisikos als Folge der notwendigen Aktivierung der Carboxykomponente nicht möglich, eine schrittweise Peptidsynthese vom N- zum C-Terminus durchzuführen. Da aber die ribosomale Polypeptidsynthese in N \rightarrow C-Richtung verläuft, sollte die Entwicklung einer adäquaten Synthesestrategie nicht nur von akademischem Interesse sein, zumal selbst bei den dominierenden schrittweisen Aufbaustrategien vom C-Terminus unter Verwendung von N-Schutzgruppen des Urethanotyps, wie bei der Merrifield-Synthese, ein absoluter Ausschluß partieller Epimerisierung nicht garantiert werden kann.^[1] Darüber hinaus konnte erst kürzlich am Beispiel der Synthese eines Tripeptides nach der Merrifield-Methode durch Kapillarelektrophorese eine Racemisierung von 0.3–0.4% bei jedem Syntheseschritt nachgewiesen werden.^[2] Da die ribosomale Peptidyl-Transferase nur im intakten Ribosom katalytisch aktiv ist, ist eine In-vitro-Nutzung dieses Enzyms nicht möglich. Allerdings bietet sich mit dem reversen Hydrolysepotential von Proteasen eine alternative enzymatische Synthesestrategie an.^[3]

In dieser Zuschrift wird ein enzymatisches Verfahren unter Einbeziehung der Cystein-Protease Clostrypain vorgestellt, welches das Prinzip des schrittweisen Peptidaufbaus in N \rightarrow C-Richtung am Beispiel eines einfachen Modellpeptides demonstriert. Zur Verdeutlichung der Vorteile enzymkatalysierter Peptidsynthesen, die unter milden, ökologisch vorteilhaften Bedingungen ablaufen und aufgrund der Stereo- und Regiospezifität der Enzyme Racemisierungssicherheit garantieren und keinen zusätzlichen Seitenkettenenschutz erfordern, wurde als Modellpeptid das ausschließlich aus trifunktionellen Aminosäuren bestehende Tetrapeptid H-Lys-Tyr-Arg-Ser-OH **8** ausgewählt. Die schrittweise enzymatische Synthese dieses Peptides wird durch das Syntheseschema in Abbildung 1 illustriert.

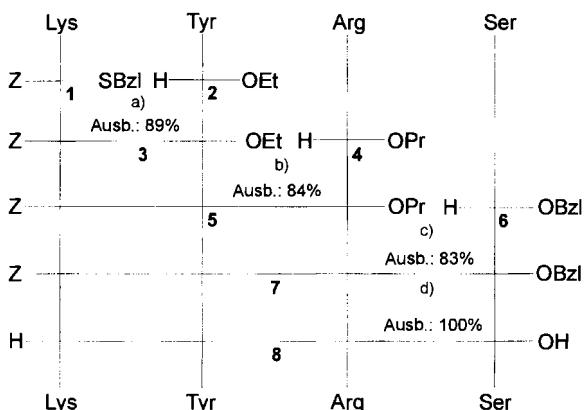


Abb. 1. Schema der proteasekatalysierten Synthese des Tetrapeptides H-Lys-Tyr-Arg-Ser-OH **8**. a) und c): Clostrypain, 0.025 M Boratpuffer, pH 8.0, 25°C , **1** = 8 mM, **2** = 24 mM, **5** = 10 mM, **6** = 50 mM; b): Chymotrypsin, 0.025 M Boratpuffer, pH 9.0, -25°C , **3** = 10 mM, **4** = 70 mM; d): katalytische Hydrierung mit 10% Pd/C.

[*] Prof. Dr. H.-D. Jakubke, F. Bordusa, Dr. D. Ullmann
Fakultät für Biowissenschaften, Pharmazie und Psychologie der Universität
Institut für Biochemie
Talstraße 33, D-04103 Leipzig
Telefax: Int. + 341/9736998

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (INK 23/A1 und A2) sowie dem Fonds der Chemischen Industrie unterstützt. Für Chemikalien danken wir den Firmen ASTA Medica und E. Merck.