

Messen auf molekularer Ebene – Chemie an der Schnittstelle zur Informationstechnologie**

Oliver Trapp*

Analytische Methoden · Micellen · Molekulare Funktionseinheiten · Sensoren · Signalmodulation

Professor Helmut Schwarz zum 65. Geburtstag gewidmet

Molekulare Geräte, die Informationen über ihre Umgebung liefern können, kombiniert mit Mechanismen, die diese Information übertragen, haben ein großes Potenzial in vielen Bereichen der Chemie und darüber hinaus. Denkbar sind molekulare Computer, die auf Netzwerken wechselwirkender Moleküle basieren und logische Operationen durchführen oder als Neuronen in einem neuronalen Netz funktionieren.^[1] Molekulare Computer könnten die Größenbeschränkungen der derzeitigen Mikroprozessoren mit integrierten Schaltungen auf Siliciumbasis überwinden. Des Weiteren könnten molekulare Computer direkt mit ihrer Umgebung interagieren und sich somit als intelligente Sensoren und Detektoren eignen.^[2] Auf den ersten Blick scheinen solche Forschungsziele sehr futuristisch, könnten aber durch interdisziplinäre Forschung erreichbar sein.

Kürzlich hat die Systemchemie,^[3] ähnlich wie die Systembiologie,^[4] viel Aufmerksamkeit erfahren, denn mit ihr lassen sich komplexe Gemische wechselwirkender Moleküle untersuchen, darunter thermodynamisch kontrollierte Systeme (z. B. dynamische kombinatorische Bibliotheken^[5]) oder kinetische kontrollierte Systeme (z. B. pseudodynamische kombinatorische Bibliotheken,^[6] oszillierende Reaktionen, selbstreplizierende^[7] und autokatalytische Systeme). Solche molekularen Reaktionssysteme könnten verwendet werden, um die Entstehung supramolekularer Ordnung auszulösen (z. B. in optischen^[8] oder chiralen Schaltern^[9]), und so letztlich zu dynamischen Geräten^[10] führen.

Gelatoren mit niedrigem Molekulargewicht auf Basis eines chiroptischen Schalters mit angehängten, Wasserstoffbrücken bildenden Einheiten wurden kürzlich von van Esch und Feringa beschrieben.^[11] Diese Schalter ermöglichen die Steuerung von Chiralität auf molekularer Ebene durch Licht. Von besonderem Interesse sind auch molekulare Systeme, die

fluoreszieren und infolge chemischer Reize vom „An“- zum „Aus“-Zustand schalten.^[12] Solche Systeme beruhen auf einem lichtinduzierten Elektronentransfer (photoinduced electron transfer, PET) und ebnen z. B. den Weg zu einer eindeutigen Detektion biologisch aktiver Moleküle. Das Schaltmolekül benötigt dazu die folgenden drei Merkmale: 1) einen Rezeptor, der reversibel an das Zielmolekül bindet, 2) einen Fluorophor, der die Lichtsignale empfängt und/oder überträgt und 3) einen Weg, die Wechselwirkung des Zielmoleküls mit dem Rezeptor dem Fluorophor zu melden. Noch komplexere Schalter können durch Kombination mehrerer Systeme realisiert werden; ein Beispiel sind „Aus/An/Aus“-Schalter, die aus einem „Fluorophor-Abstandhalter 1-Rezeptor 1-Abstandhalter 2-Rezeptor 2“-System bestehen (Abbildung 1).

Das zugrunde liegende Konzept ist, dass beide Rezeptoren, 1 und 2, auf dieselbe Zielverbindung ansprechen, allerdings bei unterschiedlicher Konzentration, was eine unterschiedlich starke Bindung an das Zielmolekül voraussetzt. Im angegebenen Beispiel muss die Bindungsstärke von Rezeptor 1 größer sein als jene von Rezeptor 2. Des Weiteren muss Rezeptor 1 mit dem Fluorophor ein PET-Paar bilden, um eine Schaltfunktion des „Aus/An“-Typs auszuführen; das

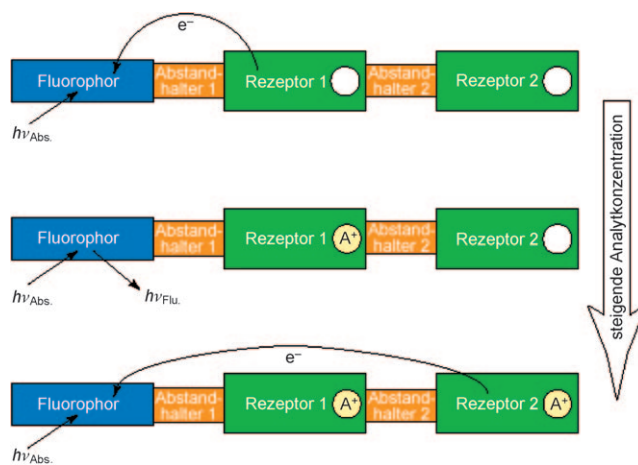


Abbildung 1. Fluoreszierende, lichtinduzierte „Aus/An/Aus“-Elektrotronentransferschalter. Rezeptor 1 bindet stärker an Analyt A⁺ als Rezeptor 2. Ebenso wie das hier gezeigte Format ist das „Rezeptor 1-Abstandhalter 1-Fluorophor-Abstandhalter 2-Rezeptor 2“-Format möglich. Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [12b].

[*] Dr. O. Trapp
Max-Planck-Institut für Kohlenforschung
Kaiser-Wilhelm-Platz 1, 45470 Mülheim (Deutschland)
Fax: (+49) 208-306-2995
E-Mail: trapp@mpi-muelheim.mpg.de
Homepage: http://www.mpi-muelheim.mpg.de/kofo/institut/arbeitsbereiche/trapp/trapp_d.html

[**] Ich danke für die großzügige finanzielle Unterstützung durch das MPI für Kohlenforschung, die DFG im Rahmen des Emmy Noether-Programms (TR 542/3), den FCI, die Merck Research Laboratories (Rahway, NJ) und die Nordrhein-Westfälische Akademie der Wissenschaften.

PET-Paar von Rezeptor 2 mit dem Fluorophor muss hingegen in einem „An/Aus“-Zustand resultieren.

Die genaue Schaltung zwischen „An/Aus“- (oder „0/1“-) Zuständen eröffnet die Möglichkeit, Boolesche Operationen durchzuführen;^[13] damit sind logische Operationen wie AND, OR und XOR realisierbar.^[14] Molekulare logische Schalter, die in der Lage sind, chemische Eingaben zu prozessieren, können mit Anordnungen logischer Funktionen versehen werden.^[1a] Dies kann beispielsweise in Enzymkaskaden realisiert werden (Abbildung 2).^[15] Zum Beispiel nutzt das En-

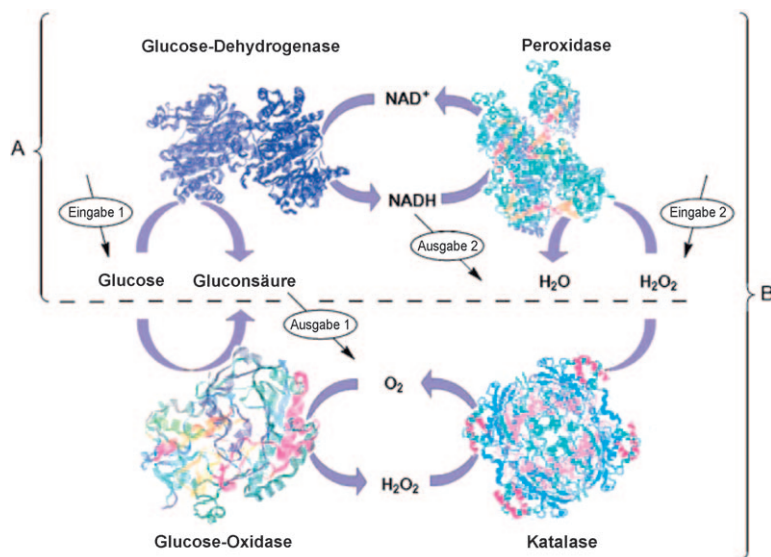


Abbildung 2. A) Logische Schalter auf Basis zweier gekoppelter Enzyme. B) Halbaddierer auf Basis von vier gekoppelten Biokatalysatoren. Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [15].

zym Glucose-Dehydrogenase (GDH) als Substrat Glucose (Eingabe 1) in Gegenwart des Cofaktors NAD⁺, um Glukonsäure zu produzieren (Ausgabe 1); Meerrettichperoxidase wandelt H₂O₂ (Eingabe 2) in H₂O und NADH um. Diese beiden Enzyme werden durch denselben Cofaktorenzyklus zwischen den Redoxzuständen (NAD⁺ und NADH) gekoppelt. Wenn kein NAD⁺ vorhanden ist und das System den Gleichgewichtszustand erreicht hat, wird die NADH-Konzentration nur sinken, wenn keine Glucose, aber H₂O₂ zur Verfügung steht. Wird das System derartig betrieben und die Absorptionsänderung als Ausgabe 2 detektiert, entspricht es einer Inhibitor(INH)-Schaltung. Dieses Beispiel illustriert, dass sogar einzelne molekulare Spezies verwendet werden können, um logische und algebraische Operationen durchzuführen, z.B. Addition und Subtraktion.^[16] Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass Fluorescein als molekularer Taschenrechner mit Reset-Funktion genutzt werden kann.^[17]

Genauso wichtig wie das Prozessieren von Information ist die Entwicklung geeigneter Methoden zum Informations-transport und zur Signalkodierung. Multiplexing^[18] (d.h. mehrfache Analysen im selben, ungeteilten Probenvolumen zur selben Zeit) ist eine der effizientesten Methoden zur Kodierung und mathematischen Entschlüsselung von Signalen. Es gibt unterschiedliche Multiplexing-Methoden, darun-

ter die Modulation von Signalen, den Transport von Information durch elektromagnetische Wellen oder Molekularstrahlen sowie die Verwendung unterschiedlicher Signalquellen in Sensoranordnungen, die zu überlappenden Signalen führen. Die Vorteile liegen in der Verbesserung des Signal/Rausch-Verhältnisses (Felgett-Vorteil) und in der Erhöhung des Durchsatzes durch die Verringerung der Akquisitionszeit.

Ein sehr interessantes Beispiel, das einige der oben genannten Konzepte vereint, wird in einer aktuellen Publikation von Uchiyama et al. beschrieben.^[19] Die Autoren berichten von einem neuen Multiplexing-Fluoreszenzsensor, der aus 18 Fluoreszenzsensoren unterschiedlicher Struktur besteht (Abbildung 3). Diese Sensormoleküle sind nach einem modularen Konzept aus dem Fluorophor 4-Sulfamoyl-7-aminobenzofurazan aufgebaut und werden verwendet, um simultan lokale Protonenkonzentrationen und Polaritäten in micellaren Systemen durch Variation ihrer Emissionseigenschaften zu untersuchen.

Die Untersuchung der Protonenkonzentration und Polaritätsverteilung in der Nähe micellarer Membranen ist von großer Bedeutung für das Verständnis und die Steuerung von Prozessen, die an solchen Grenzflächen stattfinden und mithilfe anderer Methoden nur schwer zugänglich sind. Außerdem könnte die Untersuchung der Protonenverteilung (Proton Mapping) von Micellen Rückschlüsse auf die Mechanismen der Säure/Base-Katalyse in solchen Systemen zulassen. Da die Polarität $\bar{\epsilon}$ von der Position des Sensors im micellaren System abhängt und zu erwarten ist, dass $\bar{\epsilon}$ in sphärischen Micellen nur von der Entfernung zum Micellzentrum abhängt, können Daten über die Polarität genaue Informationen über die Position des Sensors in einem micellaren System liefern.

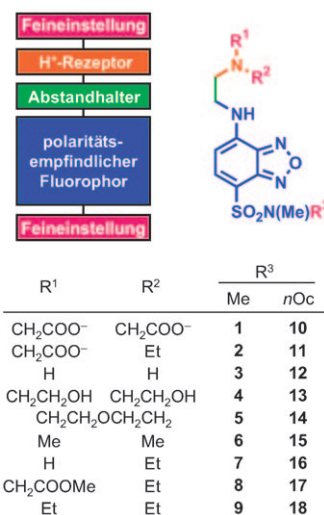


Abbildung 3. Fluoreszierende Multiplexing-Sensoren 1–18. Die Reihenfolgen von 1→9 und 10→18 beruhen auf den steigenden lg *P*-Werten der jeweils zugehörigen Amine R¹R²NH (*P* = *n*-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient). Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [19].

Solche Sonden können allerdings die Form, Aggregation und Stabilität der Micellen beeinflussen, weshalb ein durchdachtes Sensordesign für eine erfolgreiche Anwendung entscheidend ist.

In Abbildung 3 ist der modulare Aufbau der Sensoren dargestellt. Wie oben beschrieben, bestehen die Sensoren aus einem polaritätsempfindlichen Fluorophor, der über einen Abstandhalter von einer substituierten Aminogruppe als H^+ -Rezeptor getrennt ist. Die Substituenten dienen zur Abstimmung der Sensorposition, sodass im Idealfall eine kontinuierliche radiale Verteilung der Sensoren in der Nähe der micellaren Membran erreicht wird. Es ist zu erwarten, dass sich Sensoren mit hydrophoberen bzw. hydrophileren Substituenten länger in den hydrophoberen bzw. hydrophileren Bereichen der Micelle aufhalten. Die lokale Protonenkonzentration kann aus der Änderung des pK_S -Wertes in micellarer Lösung relativ zum pK_S -Wert in Wasser bestimmt werden (ΔpK_S). Dieser Unterschied ist unabhängig von den Säure-/Baseeigenschaften des Sensors und wird nur durch das elektrostatische Potential und die Dielektrizitätskonstante am Ort des Sensors beeinflusst. Eine weitere wichtige Eigenschaft des Sensors ist die Möglichkeit des „Aus/An“-Schaltens, bedingt durch die „Fluorophor-Abstandhalter-Rezeptor“-Anordnung, die den PET-Prozess steuert. Dadurch kann der ΔpK_S -Wert durch die Fluoreszenzintensität bestimmt werden, und die lokale Polarität, die die genaue Position angibt, kann durch die Emissionswellenlänge des polaritätsempfindlichen Fluorophors erhalten werden. Uchiyama et al. haben Protonengradienten in Triton X-100 (Micellradius $r = 4.8$ nm), Octyl- β -D-glucopyranosid ($r \approx 2.3$ nm), Natriumdodecylsulfat ($r < 3.6$ nm), und Cetyltrimethylammoniumchlorid (CTAC, $r < 3.5$ nm) mit diesen Sensoren untersucht.

Der ΔpK_S -Wert kann direkt aus der Fluoreszenzintensität unter Berücksichtigung der Sensorfunktion berechnet werden. Die Bestimmung der lokalen Dielektrizitätskonstanten aus den Emissionswellenlängen ist hingegen schwieriger, da der Sensor unter sauren und basischen Bedingungen unterschiedlich auf die lokale Polarität anspricht. Zur Abschätzung der Polarität in der Nähe der Sensoren werden daher zwei Beziehungen zwischen der Emissionswellenlänge und dem ϵ -Wert des Lösungsmittels benötigt – einmal unter basischen und einmal unter sauren Bedingungen. Als Parameter für die Polarität in der Nähe eines Sensors wird daher ein mittlerer ϵ -Wert ($\bar{\epsilon}$) verwendet. Wie für die positionsempfindlichen Rezeptoren 1–18 zu erwarten ist, ändert sich die Sensorposition in der Nähe der micellaren Membran, wenn man von sauren zu basischen Bedingungen übergeht, verursacht durch die gestiegene Hydrophobie infolge der Protonierung des Rezeptors; als Resultat bewegt sich der Sensor in eine hydrophilere Region der Micelle. Abbildung 4 stellt die Ergebnisse für CTAC-Micellen in einem ΔpK_S - $\bar{\epsilon}$ -Diagramm dar und zeigt, dass die fluoreszierenden Multiplexing-Sensoren an verschiedenen Stellen verteilt sind, angefangen von der reinen Wasserphase bis hin zum Inneren der Micelle. Wie dieses Diagramm demonstriert, lässt sich die stetige Abnahme der effektiven Protonenkonzentration im Nanometerbereich in der Nähe einer Micelle mithilfe eines Multiplexing-Fluoreszenzsensors verfolgen.

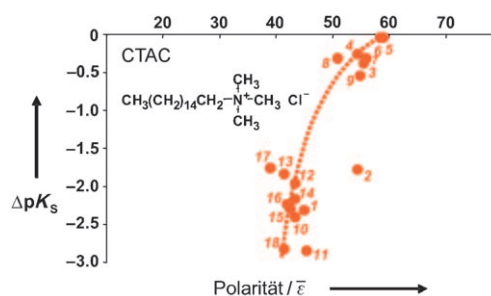


Abbildung 4. ΔpK_S - $\bar{\epsilon}$ -Diagramm mit den Sensoren 1–18 (10 μ m) für CTAC (5.0 mM). Die Zahlen entsprechen der Nummerierung der Sensoren in Abbildung 3. Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [19].

Solche molekularen Sensoren liefern eine bemerkenswert hohe räumliche Auflösung und sind nicht auf die Messung von Protonenkonzentrationen beschränkt, sondern können auch die Konzentrationen anderer Spezies detektieren. Molekulare Sonden können auch als Modelle verwendet werden, um Informationsfluss und -verarbeitung in biologischen Systemen zu verstehen und um intelligente und selbstorganisierende molekulare Systeme herzustellen.

Online veröffentlicht am 22. September 2008

- [1] a) A. Prasanna de Silva, S. Uchiyama, *Nat. Nanotechnol.* **2007**, 2, 399–410; b) A. Prasanna de Silva, M. R. James, B. O. F. McKinney, D. A. Pears, S. M. Weir, *Nat. Mater.* **2006**, 5, 787–790; c) S. H. Strogatz, *Nature* **2001**, 410, 268–276; d) R. Albert, A. L. Barabasi, *Rev. Mod. Phys.* **2002**, 74, 47–97; e) J. A. Burns, G. M. Whitesides, *Chem. Rev.* **1993**, 93, 2583–2601.
- [2] R. F. Ismagilov, *Angew. Chem.* **2003**, 115, 4262–4264; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 4130–4132.
- [3] a) R. F. Ludlow, S. Otto, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, 37, 101–108, zit. Lit.; b) G. M. Whitesides, R. F. Ismagilov, *Science* **1999**, 284, 89–92; c) D. Newth, J. Finnigan, *Aust. J. Chem.* **2006**, 59, 841–848.
- [4] A. Aderem, *Cell* **2005**, 121, 511–513.
- [5] P. T. Corbett, J. Leclaire, L. Vial, K. R. West, J.-L. Wietor, J. K. M. Sanders, S. Otto, *Chem. Rev.* **2006**, 106, 3652–3711, zit. Lit.
- [6] A. D. Corbett, J. D. Cheeseman, R. J. Kazlauskas, J. L. Gleason, *Angew. Chem.* **2004**, 116, 2486–2490; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 2432–2436.
- [7] G. von Kiedrowski, *Angew. Chem.* **1986**, 98, 932–934; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, 25, 932–935.
- [8] a) L. Grill, M. Dyer, L. Lafferentz, M. Persson, M. V. Peters, S. Hecht, *Nat. Nanotechnol.* **2007**, 2, 687–691; b) A. Nayak, H. Liu, G. Belfort, *Angew. Chem.* **2006**, 118, 4200–4204; c) J. F. Callan, A. Prasanna de Silva, D. C. Magri, *Tetrahedron* **2005**, 61, 8551–8588.
- [9] S. Weigelt, C. Busse, L. Petersen, E. Rauls, B. Hammer, K. V. Gothelf, F. Besenbacher, T. R. Linderth, *Nat. Mater.* **2006**, 5, 112–117.
- [10] V. Balzani, A. Credi, M. Venturi, *Molecular Devices and Machines: A Journey into the Nanoworld*, Wiley-VCH, Weinheim, **2003**.
- [11] J. van Esch, B. L. Feringa, *Angew. Chem.* **2000**, 112, 2351–2354; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 2263–2266, zit. Lit.
- [12] a) A. Prasanna de Silva, D. B. Fox, A. J. M. Huxley, T. S. Moody, *Coord. Chem. Rev.* **2000**, 205, 41–57; b) A. Prasanna de Silva, B. Fox, T. S. Moody, S. M. Weir, *Trends Biotechnol.* **2001**, 19, 29–34.

- [13] a) P. Ball, *Nature* **2000**, *406*, 118–120; b) F. M. Raymo, *Adv. Mater.* **2002**, *14*, 401–414; c) V. Balzani, A. Credi, M. Venturi, *ChemPhysChem* **2003**, *4*, 49–59; d) A. Prasanna de Silva, H. Q. N. Gunaratne, C. P. McCoy, *Nature* **1993**, *364*, 42–44; e) A. Prasanna de Silva, N. D. McClenaghan, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 574–586; f) S. Uchiyama, N. Kawai, A. Prasanna de Silva, K. Iwai, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3032–3033; g) U. Pischel, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 4100–4115; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 4026–4040; h) A. Credi, V. Balzani, S. J. Langford, J. F. Stoddart, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2679–2681; i) T. Gunnlaugsson, D. A. Mac Dónail, D. Parker, *Chem. Commun.* **2000**, 93–94.
- [14] a) A. Prasanna de Silva, H. Q. N. Gunaratne, C. P. McCoy, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 7891–7892; b) A. Prasanna de Silva, N. D. McClenaghan, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3965–3966.
- [15] R. Baron, O. Lioubashevski, E. Katz, T. Niazov, I. Willner, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 1602–1606; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 1572–1576.
- [16] A. Prasanna de Silva, *Nat. Mater.* **2005**, *4*, 15–16.
- [17] D. Margulies, G. Melman, A. Shanzer, *Nat. Mater.* **2005**, *4*, 768–771.
- [18] A. G. Marshall, *Fourier, Hadamard, and Hilbert transforms in chemistry*, Plenum Press, New York, **1982**.
- [19] S. Uchiyama, K. Iwai, A. Prasanna de Silva, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 4745–4747; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 4667–4669.