

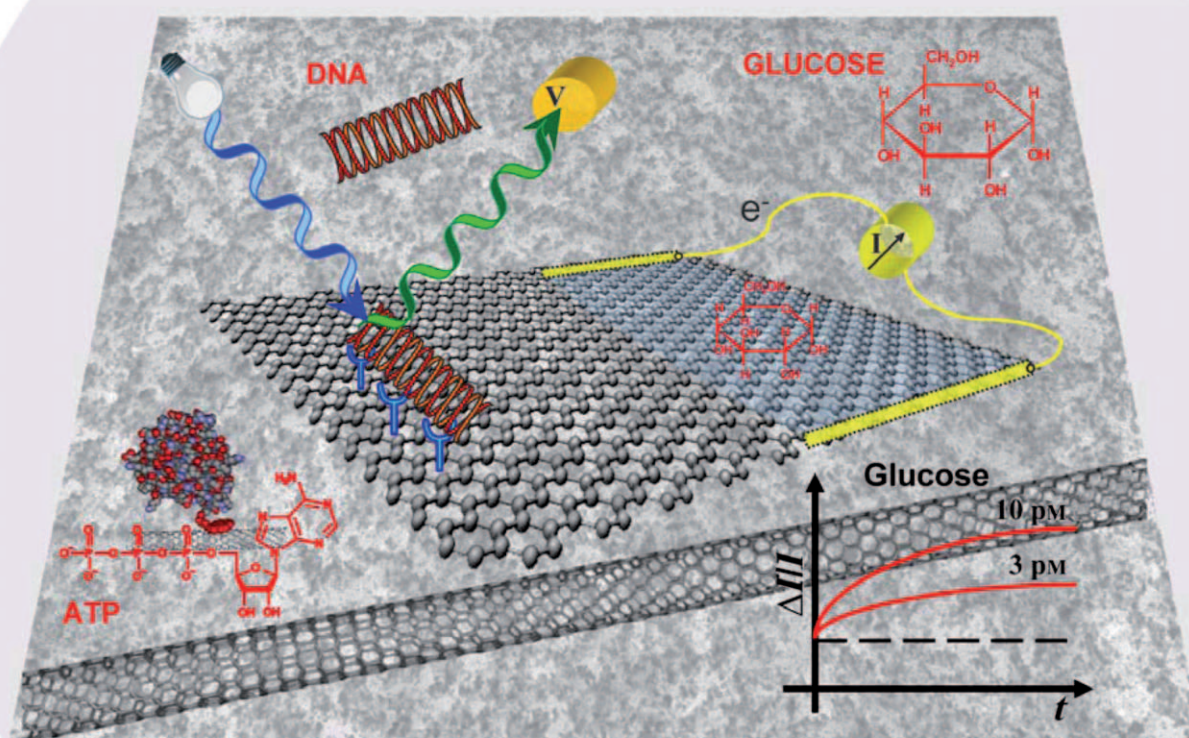
Kohlenstoffnanomaterialien für Biosensoren: Nanoröhren oder Graphen – was eignet sich besser?

Wenrong Yang, Kyle R. Ratinac, Simon P. Ringer, Pall Thordarson,
J. Justin Gooding und Filip Braet*

Stichwörter:

Biosensoren · Graphen ·
Kohlenstoffnanomaterialien ·
Kohlenstoffnanoröhren ·
Sensoren

Kohlenstoffnanomaterialien



in Biosensoren

Biosensoren finden immer mehr Anwendungsgebiete, von der Diagnostik lebensbedrohender Erkrankungen bis zur Detektion von biologischen Kampfmitteln und zur Abwendung terroristischer Angriffe. Bei vielen neueren Biosensoren besteht das Sensorelement aus Kohlenstoffnanoröhren, und der Einsatz von Graphen – das im Grunde genommen nichts anderes ist als eine nicht aufgerollte Nanoröhre – für diesen Zweck wird ebenfalls zunehmend erforscht. Angesichts der breiten Verwendung von Kohlenstoffnanomaterialien in Biosensoren ist es an der Zeit, den bisherigen Nutzen dieser Techniken zusammenzufassen. Aktuelle Entwicklungen bei elektrochemischen, elektrischen und optischen Biosensoren auf der Basis von Kohlenstoffnanoröhren und Graphen werden vorgestellt, und die Leistungsfähigkeit dieser beiden Kohlenstoffallotrope wird verglichen. Wir werden zeigen, dass Kohlenstoffnanomaterialien, trotz noch bestehender Probleme bei ihrer Herstellung und Handhabung, als Materialien für Biosensoren eine große Zukunft bevorsteht.

Aus dem Inhalt

1. Einleitung	2161
2. Ungewöhnlicher Kohlenstoff: CNTs und Graphen	2162
3. Aktuelle Entwicklungen bei der Anwendung von CNTs in Biosensoren	2166
4. Biosensoren auf Graphen-Basis	2173
5. Die Kohlenstoffallotrope im Vergleich	2179
6. Zusammenfassung und Ausblick	2180

1. Einleitung

Der Einsatz von Nanomaterialien in Biosensoren hat stark zugenommen, und Kohlenstoffnanoröhren (carbon nanotubes, CNTs) stehen dabei im Mittelpunkt des Interesses.^[1–3] Die Hauptbereiche dieser Forschung sind die Verbesserung makroskopischer Biosensoren durch den Einbau von CNTs sowie die Entwicklung neuer, nanoskaliger Biosensoren. Vielleicht noch interessanter für Biosensoren als die CNTs könnte aber ein anderes Kohlenstoffallotrop, Graphen, sein. Dies führt zu den folgenden Fragen: Welche Vorteile für Biosensoren bieten diese beiden Kohlenstoffnanomaterialien im Vergleich zu makroskopischen Materialien? Hat Graphen gegenüber CNTs signifikante Vorteile? Welche Schlüsse wären aus der Entwicklung von Biosensoren mit Nanoröhren zu ziehen, um auch die Entwicklung graphenbasierter Biosensoren zu beschleunigen? Die Beantwortung dieser drei Fragen ist das zentrale Anliegen dieses Aufsatzes.

Gemäß IUPAC-Definition ist ein elektrochemischer Biosensor eine abgeschlossene integrierte Einheit, bei der sich ein biologisches Erkennungselement (biochemischer Rezeptor) im direkten räumlichen Kontakt mit einem Transduktionselement befindet, sodass diese Einheit spezifische quantitative oder halbquantitative Informationen liefern kann.^[4] Von einem bioanalytischen System unterscheidet sich der Biosensor dadurch, dass er keine zusätzlichen Arbeitsschritte, z.B. die Zugabe eines Reagens, erfordert. Diese Definition nimmt auf die Größe eines Biosensors keinen Bezug. Er kann also, wie kommerzielle Biosensoren für Glucose, makroskopisch sein. Andererseits können mikroskalige oder nanoskalige Sensorelemente in einer makroskopischen Einheit verpackt sein, wie es bei Feldeffekttransistor(FET)-Einheiten der Fall ist,^[5,6] oder die Sensoren können komplett nanoskalig sein, was z.B. auf einige Nanopartikelsysteme zutrifft.^[7,8]

Weil sie eine Lösung allgemeiner technischer Probleme versprechen, sind Nanomaterialien, insbesondere Kohlen-

stoffnanomaterialien, für Biosensoren aller Größenbereiche interessant. Das betrifft den Entwurf eines Biosensors, mit dessen Oberfläche der Analyt selektiv wechselwirkt,^[9,10] die effiziente Transduktion eines Erkennungsereignisses,^[11,12] die Steigerung von Empfindlichkeit und Selektivität eines Biosensors^[13,14] sowie die Verbesserung der Ansprechzeiten in sehr empfindlichen Systemen.^[15] Speziellere Anforderungen sind: ein mit biologischen Matrizen kompatibler Biosensor für den Einsatz in komplexen biologischen Proben oder für den In-vivo-Einsatz;^[16,17] die Herstellung brauchbarer Biosensoren für den Betrieb in eingegrenzten Umgebungen, z.B. innerhalb von Zellen;^[17] und Biosensoren, die die Detektion mehrerer Analyte mit einer einzigen Baueinheit ermöglichen („Multiplex“-Detektion).^[18–20] Für diese Aufgaben stehen verschiedene null-, ein-, zwei- und dreidimensionale Nanomaterialien zur Verfügung, darunter Halbleiter-Quantenpunkte,^[21] metallische Nanopartikel,^[22] metallische oder Halbleiternanodrähte,^[14,23] CNTs,^[24,25] nanostrukturierte leitfähige Polymere oder Nanokomposite aus diesen,^[26] mesoporöse Materialien^[27] sowie verschiedene andere Nanomaterialien.^[28,29] Hier werden wir uns ausschließlich mit Anwendungen von CNTs und Graphen in Biosensoren beschäftigen.

CNTs zeichnen sich durch große Aspektverhältnisse, hohe mechanische Festigkeit, große spezifische Oberflächen,

[*] Dr. W. Yang,^[+] Dr. K. R. Ratinac,^[+] Prof. S. P. Ringer, Prof. F. Braet
Australian Key Centre for Microscopy & Microanalysis
The University of Sydney
Madsen Building (F09), NSW, Sydney 2006 (Australien)
Fax: (+61) 2-9351-7682
E-Mail: f.braet@usyd.edu.au
Homepage: <http://www.ernu.usyd.edu.au/>
Dr. P. Thordarson, Prof. J. J. Gooding
School of Chemistry, The University of New South Wales
Sydney, NSW 2052 (Australien)

[†] Diese Autoren hatten gleichen Anteil an dieser Arbeit.

hervorragende chemische und thermische Stabilität sowie durch vielfältige elektronische und optische Eigenschaften aus.^[30] Diese physikalischen Eigenschaften machen CNTs zu wichtigen Materialien für Signalgeber von Biosensoren. Wegen der hohen Leitfähigkeit in Längsrichtung sind sie ausgezeichnete Materialien für nanoskalige Elektroden^[31–33] (Abbildung 1), ihr Halbleiterverhalten macht sie ideal für nanoskalige FETs,^[34] und ihre optischen Eigenschaften eignen sich für nanoskalige Baueinheiten.^[35,36]

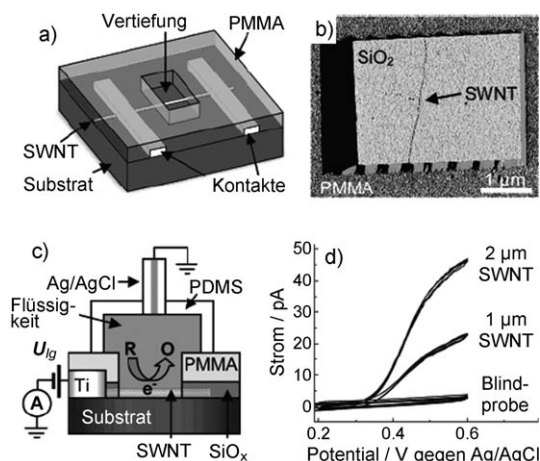


Abbildung 1. Ein elektrochemischer Sensor mit einwandigen Nanoröhren (SWNTs): Der Aufbau (a–c) und das elektrochemische Ansprechen (d) einer Elektrode aus metallischen einwandigen Nanoröhren in der wässrigen Lösung eines Ferrocen-Derivats. (Wiedergabe nach Lit. [31] mit Genehmigung der American Chemical Society, Copyright 2006).

Mithilfe dieser Merkmale sollten sich Lösungen für alle aufgezählten Probleme bei Biosensoren finden lassen. Die Kombination aus ausgezeichneter Leitfähigkeit, guten elektrochemischen Eigenschaften und nanoskaligen Abmessungen nutzt man zum Beispiel, um CNTs in einzelne Redoxenzyme direkt „einzustöpseln“ und auf diese Weise die Transduktion in elektrochemischen Enzybiosensoren zu verbessern.^[37–41] Durch die Bildung ausgerichteter CNT-Anordnungen werden Elektroden möglich, die an ausgewählte Biomoleküle kuppeln, aber einer nichtspezifischen Adsorption von Proteinen widerstehen.^[42–44] FET-Biosensoren auf CNT-Basis^[44,45] versprechen eine Detektion einzelner Ereignisse auf molekularer Ebene.^[46] Die Empfindlichkeit der optischen Eigenschaften der CNTs für Bindungsereignisse

nutzt man für nanoskalige, hochempfindliche optische „Multiplex“-Biosensoren, die innerhalb von Zellen oder in einem System dispergiert werden können, um sehr kleine Analytmengen in einer Probe nachzuweisen.^[47]

Die mit CNTs erreichten Verbesserungen von Biosensoren sind wohl auch ein Grund für das Interesse an Graphen als einem Material, mit dem vielleicht noch weitere Fortschritte möglich sind. CNTs werden gewöhnlich als aufgerollte Graphenschichten aufgefasst, und da beide Formen aus einem Netz von sp^2 -hybridisierten Kohlenstoffatomen bestehen, stellt sich die Frage, ob Graphen irgendwelche Vorteile gegenüber CNTs hat. Jedenfalls würde man aufgrund der identischen Zusammensetzung von Nanoröhren und Graphen auch ähnliche Eigenschaften vermuten. Wir werden aber sehen, dass dies nicht immer stimmt und dass die unterschiedlichen Strukturen und Eigenschaften neue Möglichkeiten für die Entwicklung von Biosensoren eröffnen.

In diesem Aufsatz wollen wir aktuelle Entwicklungen bei Biosensoren auf der Basis von CNTs und Graphen diskutieren. Zu Anfang werden wir die für Biosensoren relevanten Eigenschaften der beiden Materialien vorstellen. Anschließend untersuchen wir die Anwendung von CNTs in Biosensoren im Zusammenhang mit wichtigen konzeptionellen Entwicklungen. Eine umfassende Behandlung der gesamten Forschung auf diesem schnelllebigen Gebiet ist hier nicht beabsichtigt. Am Beginn dieses Abschnitts stehen elektrochemische Biosensoren, die gewöhnlich mit Nanomaterialien hergestellte makroskalige Biosensoren sind, dann folgen Baueinheiten auf FET-Basis, deren Umformglied oft nanoskalig ist. Den Abschluss bildet ein kürzeres Kapitel über CNTs in nanoskaligen optischen Biosensoren. Der Abschnitt zum Graphen soll einen umfassenden Überblick geben, da erst seit kurzem Studien auf diesem Gebiet unternommen wurden. Die Methoden der Graphenherstellung werden kurz vorgestellt, und anschließend werden Sensoreinheiten erörtert, deren Umformglied aus Graphen besteht. Abschließend werden wir versuchen, die drei eingangs gestellten Fragen zu beantworten, und wir werden Perspektiven bei der weiteren Entwicklung von Biosensoren auf CNT- oder Graphen-Basis diskutieren.

2. Ungewöhnlicher Kohlenstoff: CNTs und Graphen

Ein Biosensor auf CNT- oder Graphen-Basis sollte im Idealfall von den einzigartigen Eigenschaften des verwendeten



Wenrong Yang wurde in China geboren und promovierte im Jahr 2002 an der Universität von New South Wales bei Prof. Justin Gooding und Prof. Brynn Hibbert im Fach Chemie. Als University of Sydney Research Fellow arbeitet er bei Prof. Filip Braet an biologischen und biomedizinischen Anwendungen von CNTs und Graphen. Mit Rasterelektronenmikroskopie untersucht er darüber hinaus die Leitfähigkeit einzelner Moleküle.



Kyle Ratina erforschte nach einer Dissertation auf dem Gebiet der technischen Keramik unterschiedliche Nanomaterialien wie Polymernanokomposite und Nanopartikel. Er ist Research Development Manager des Australian Key Centre for Microscopy and Microanalysis an der Universität Sydney.

ten Nanomaterials profitieren. Deshalb werden wir eine kurze Einführung in die charakteristischen Strukturen und Eigenschaften dieser beiden Kohlenstoffallotrope geben (Abbildung 2).

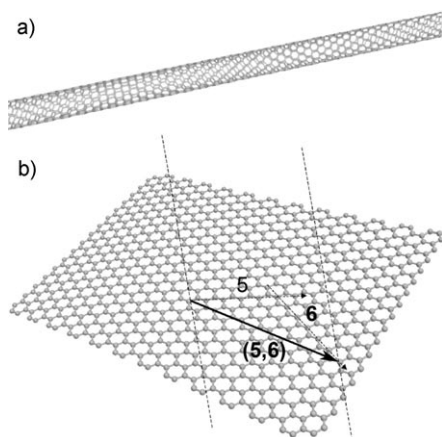


Abbildung 2. Idealstrukturen a) einer einwandigen Nanoröhre und b) einer Graphenschicht. Die eingezeichneten Vektoren charakterisieren das Aufrollen des Graphenfragments zu einer (5,6)-Nanoröhre (siehe Abschnitt 2.1).

2.1. Grundstruktur und Eigenschaften von CNTs

CNTs sind zylinderförmige, hohle graphitische Nanomaterialien, die ausschließlich sp^2 -hybridisierte Kohlenstoffatome enthalten. Klassifiziert werden die CNTs als einwandig (single-walled nanotubes, SWNTs), wenn eine einzelne Graphenschicht zu einer Röhre „gerollt“ ist, oder als mehrwandig (multi-walled nanotubes, MWNTs), wenn mehrere konzentrische Röhren mit gemeinsamer Längsachse vorliegen.^[30,48] CNTs sind eindimensionale Kohlenstoffallotrope mit Längen zwischen einigen hundert Nanometern und mehreren Millimetern. Ihr Durchmesser beträgt 0,4–2 nm bei SWNTs und 2–100 nm bei MWNTs. Je nach Herstellungsweise treten MWNTs in unterschiedlichen Morphologien auf (z. B. „hohle Röhre“, „Bambus“ und „Fischgräte“).^[49–52] Die elektronischen Eigenschaften der SWNTs werden von ihrer Chiralität bestimmt. Entscheidend hierfür ist der Winkel, in dem sich die Graphenschichten aufrollen; aus diesem Winkel ergibt sich auch die Ausrichtung der π -Orbitale.^[53,54] Diesen Sachverhalt beschreibt man mithilfe des Aufrollvektors (n, m), wobei die (ganzzahligen) Werte von n und m der Zahl an Waben entsprechen, um die entlang der beiden Einheitsvektoren \mathbf{a}_1 und \mathbf{a}_2 des Graphengitters verschoben wird. Beim Aufrollen des Graphens zu der gewünschten Nanoröhre würden sich die Spitze und das Ende des Vektors gegenseitig berühren (Abbildung 2b). Dieser Vektor steht in einer direkten Beziehung mit den elektronischen Eigenschaften: Eine SWNT ist metallisch, sofern $(n-m)$ ein Vielfaches von 3 ist, ansonsten liegt ein Halbleiter vor.^[55]

Die lokale Anisotropie der CNTs, der Unterschied zwischen Positionen in der Röhrenmitte und an den Enden, bestimmt die Eigenschaften dieser Strukturen. Die Seitenwände sind eine relativ inerte Schicht aus sp^2 -hybridisierten Koh-

lenstoffatomen, die den Basisschichten von pyrolytischem Graphit ähnelt. An den offenen Enden oder „Spitzen“ der Nanoröhren liegen dagegen an Sauerstoff gebundene Kohlenstoffatome vor, wodurch die Spitzen viel reaktiver sind und insofern den Kantenflächen von pyrolytischem Graphit ähneln (Abbildung 3).^[56] Diese Uneinheitlichkeit der CNTs

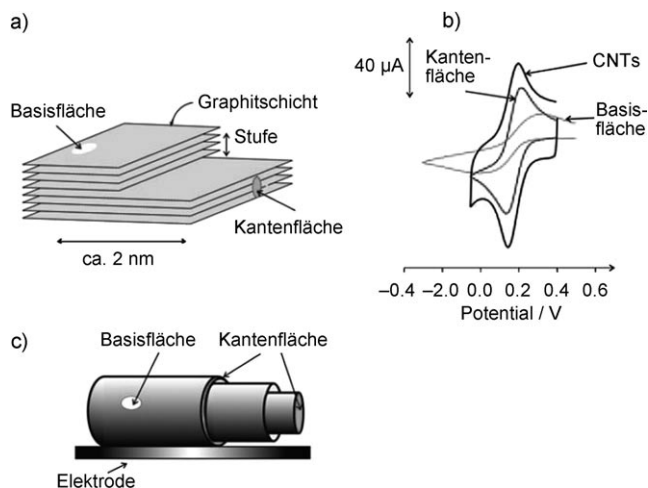


Abbildung 3. a) Aufbau von hochgeordnetem pyrolytischem Graphit (HOPG) mit einem Abstand von 3,35 Å zwischen den Schichten. b) Das unterschiedliche voltammetrische Ansprechen von Basis- und Kantenflächen in einer HOPG-Elektrode auf die Reduktion von Hexacyanoferrat-Ionen in wässriger Lösung im Vergleich zu einer CNT-basierten Elektrode. Beachtenswert ist das identische Verhalten von CNT-modifizierter Elektrode und HOPG-Kantenflächen. c) Eine einzelne MWNT auf einer Elektrodenoberfläche. Die Plätze auf Kantenflächen an den Enden der Röhre und auf der Basisfläche entlang der Röhrenachse sind gekennzeichnet. Nach Lit. [56].

erschwert das Verständnis ihrer elektrochemischen Eigenschaften. Beim Einbau in Elektroden hängt die Geschwindigkeit des Elektronentransfers entscheidend von der Struktur der Elektrodenoberfläche auf der Nanometerebene ab, insbesondere von der Orientierung und Ausrichtung der Nanoröhren, und diese Faktoren sind oft nicht quantifizierbar.^[57] Weiterhin ist nicht geklärt, ob das elektrochemische Verhalten der CNTs durch ihre inhärenten Eigenschaften bestimmt wird, oder nicht doch von der veränderlichen Zahl sauerstoffhaltiger Gruppen, von Kantendefekten an den Spitzen oder von katalytischen Partikeln, die auch nach einer Reinigung noch in den Röhren verbleiben.^[58–61] Es gibt Belege dafür, dass die vorteilhaften elektrochemischen Eigenschaften SWNT-modifizierter Elektroden durch oxygenierte Kohlenstoffspezies, insbesondere Carboxylreste, hervorgerufen werden, die bei der Säurereinigung an den Spitzen der Nanoröhren erzeugt werden.^[40,50,62] Eine andere Arbeit zeigte jedoch, dass höhere Konzentrationen sauerstoffhaltiger Gruppen bei doppel- und mehrwandigen CNTs^[63,64] sowie bei Graphit^[65] die Geschwindigkeit des heterogenen Elektronentransfers sogar herabsetzen. Im Fall elektrochemisch aktivierter MWNTs schreiben Pumera et al.^[66] den sauerstoffhaltigen Gruppen eine untergeordnete Rolle beim heterogenen Elektronentransfer zu. Sie begründen die höhere Ge-

schwindigkeit dieses Elektronentransfers stattdessen mit einer größeren Dichte von kantenähnlichen Plätzen auf den Seitenwänden der Röhren. Dai und Mitarbeiter^[67] berichteten jüngst über ein elegantes Experiment mit 5 mm langen, vertikal ausgerichteten CNTs, das Klarheit schaffen sollte (Abbildung 4). Selektives Maskieren der Seitenwände oder

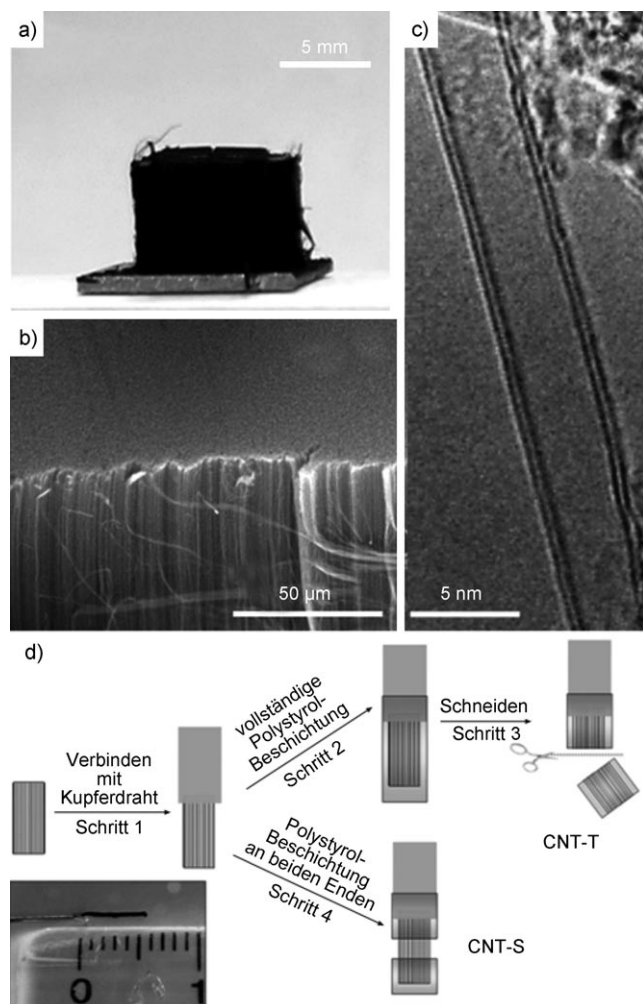


Abbildung 4. a) Digitales Foto, b) SEM-Bild und c) TEM-Bild von ausgerichteten sehr langen CNTs nach der Synthese. d) Herstellung von CNT-Elektroden, in denen dem Elektrolyt nur die Spitze (CNT-T) oder die Seitenwand (CNT-S) einer Nanoröhre zugänglich ist. Der Einschub in (d) zeigt ein digitales Foto einer solchen Nanoröhrenelektrode, bei der ein Bündel ausgerichteter sehr langer CNTs mit einem Kupferdraht verbunden ist. Nach Lit. [67].

Spitzen mit einer nichtleitenden Polymerschicht und eine kontrollierte Oxidation ermöglichten es, die relativen Beiträge von Seitenwänden und Spitzen sowie der Oxidationsstufe zum elektrochemischen Verhalten von CNTs zu untersuchen. Dabei stellte sich heraus, dass der relative Beitrag der genannten Faktoren von der Art des untersuchten Redoxfühlers und von der beteiligten Redoxreaktion abhing. Zum Beispiel verlief die elektrochemische Umwandlung von Kaliumhexacyanoferrat ($K_3[Fe(CN)_6]$) an den CNT-Spitzen erheblich besser, insbesondere in Gegenwart sauerstoffhaltiger

Reste, während der Elektronentransfer an den Seitenwänden langsamer und weniger deutlich ausgeprägt war. Die Oxidation von Wasserstoffperoxid (H_2O_2) verlief demgegenüber an den Seitenwänden leichter als an den Spitzen, und sie war auch relativ unempfindlich gegenüber sauerstoffhaltigen Gruppen. Die Redoxreaktionen von Nicotinamidadeninucleotid-Dehydrogenase (NADH) und Ascorbinsäure zeigten wiederum andere Trends.

Weitere Diskrepanzen in den Berichten über das elektrochemische Verhalten der CNTs sind deren heterogener Zusammensetzung geschuldet. Theoretisch bestehen CNTs ausschließlich aus Kohlenstoff, tatsächlich enthalten sie aber fast immer Verunreinigungen. Dazu zählen 1) metallische Verbindungen oder Nanopartikel, die bei der Züchtung der Nanoröhren eingesetzten Katalysatoren, die selbst nach ausgiebigem Waschen mit Säure noch zwischen den Graphenschichten eingeschlossen bleiben,^[58,61] und 2) sauerstoffhaltige Reste, die sich während des Waschvorgangs bilden. Diese Verunreinigungen, insbesondere die metallischen Verbindungen, verursachen wahrscheinlich die bei einigen mit Nanoröhren modifizierten Elektroden beobachtete „Elektrokatalyse“.^[56] Entfernt man die metallischen Nanopartikel indes sorgfältig, dann zeigt sich, abweichend von den zahlreichen Berichten über überlegene elektrochemische Eigenschaften von Elektrodenoberflächen aus Kohlenstoffnanoröhren, dass CNTs in dieser Hinsicht wohl nicht besser sind als die Kantenflächen von hochgeordnetem pyrolytischem Graphit (HOPG).^[68,69] Allerdings lässt sich HOPG natürlich nicht in so kleinen Abmessungen erzeugen wie CNTs. Neue Herstellungsmethoden für SWNTs, die ohne Katalysatoren der Eisengruppe auskommen,^[70,71] bieten einen Weg zu metallfreien CNTs. Durch Studien mit diesen CNTs wird man lernen, welche elektrochemische Eigenschaften von Nanoröhren intrinsisch sind und welche nicht.

Über die elektronischen Eigenschaften von CNTs ist weitaus mehr bekannt als über ihre elektrochemischen Eigenschaften. MWNTs sind metallische Leiter, wohingegen SWNTs in Abhängigkeit von ihrem Durchmesser und von ihrer Chiralität entweder metallisch oder halbleitend sind. Zwei Drittel der SWNTs mit kleinen Durchmessern sind halbleitend, und das restliche Drittel ist metallisch.^[30,72] Bei halbleitenden Nanoröhren wird die Bandlücke auch vom Röhrendurchmesser bestimmt. SWNTs mit einheitlichen elektrischen (und optischen) Eigenschaften sind also hinsichtlich ihres Durchmessers und ihrer Chiralität monodispers. Allerdings können selbst SWNTs, deren Durchmesser beinahe identisch sind, verschiedene Aufrollvektoren und demzufolge unterschiedliche elektronische Eigenschaften haben. SWNTs, die den gleichen Aufrollvektor haben, können sich noch dazu in ihrer Händigkeit unterscheiden, die die Wechselwirkung mit zirkular polarisiertem Licht bestimmt. Mit erheblichem Aufwand ist in den letzten Jahren an der wirtschaftlichen Erzeugung großer Mengen an monodispersen SWNTs, deren elektronischer Typ, Durchmesser, Länge und Händigkeit kontrollierbar sind, geforscht worden,^[48,73] doch bisher wurde noch keine der vielen neu entwickelten Techniken allen Anforderungen gerecht.

Durchmesser und Aufrollvektor bestimmen neben den elektronischen Eigenschaften der SWNTs auch die vorherr-

schen optischen Übergänge. Aus der Uneinheitlichkeit der Bandstrukturen und Längenausdehnungen sowie den in Proben von Nanoröhren meist vorhandenen Defekten folgt, dass spektroskopische Messungen meist nur über die Probe gemittelte Eigenschaften wiedergeben können. Die optischen Eigenschaften von SWNTs zogen ein größeres Interesse auf sich, seit 2002 an halbleitenden SWNTs, die separiert in einer Suspension mit einem Tensid vorlagen, im Nahinfrarot(NIR)-Bereich eine Lumineszenz beobachtet worden war.^[74] Danach sind für viele halbleitende Strukturen durch Photolumineszenz-Messungen die Übergangsenergien präzise bestimmt worden.^[75] Inhomogenitäten, wie sie in den optischen Spektren von SWNTs-Bulkmaterial auftreten, wurden durch Messungen an einzelnen Röhren ausgeschlossen.^[76] So zeigten Photolumineszenzuntersuchungen, wenngleich sie auf halbleitende SWNTs beschränkt waren, die wirkliche Linienebreite in den Emissionsspektren und das Auftreten spektraler Variationen.^[77] Einzelne halbleitende und metallische SWNTs wurden mit Raman-Streuung untersucht,^[78] aber das schwache Signal und die Notwendigkeit einer Laserquelle im resonanznahen Bereich erschweren solche Experimente. Die photothermische Heterodyn-Bildgebung ermöglicht eine hochempfindliche Abbildung und die absorptionsspektroskopische Untersuchung von einzelnen Röhren.^[79] Eine besonders interessante Entwicklung ist die Beobachtung der chemischen Reaktionen von einzelnen Molekülen an SWNTs mithilfe von NIR-Photolumineszenzmikroskopie. Innerhalb bestimmter Submikrometersegmente der betrachteten Röhren verändern die Reaktionen mit einzelnen Säure-, Base- oder Diazonium-Spezies die Emissionsintensität in erkennbaren Schritten.^[80] Diese Entwicklungen lieferten die mechanistischen Grundlagen für den Einsatz von SWNTs als stochastische Einzelmolekül-Biosensoren.^[47,81]

2.2. Grundstruktur und Eigenschaften von Graphen

Die idealisierte Graphenstruktur ist streng zweidimensional. Sie besteht aus einer einzelnen Schicht von sp^2 -hybridisierten Kohlenstoffatomen, die in einem ebenen hexagonalen Gitter durch kovalente Bindungen miteinander verknüpft sind.^[82] Die reale Struktur ist aber komplizierter, weil es schwierig ist, die einzelnen Graphenschichten voneinander zu trennen. Man spricht demzufolge oft von „Graphen“, obwohl tatsächlich Stapel von Graphenschichten vorliegen, die sich überdies hinsichtlich der Schichtenzahl unterscheiden können. Es ist also wichtig, diese Schichtenzahl zu bestimmen, z. B. mit Kraftfeldmikroskopie,^[83] Raman-Spektroskopie,^[84] Kontrastspektroskopie^[85] oder Niederenergie-Elektronenmikroskopie (LEEM).^[86] Damit wird erst die Zuordnung möglich, ob Graphen als Mono- oder Doppelschicht, mit wenigen (3–9) Schichten^[87] oder als Mehrschichtgraphen („dünnes Graphit“) vorliegt.^[83,88] Die Situation wird noch komplizierter dadurch, dass Graphen aufgrund seiner Flexibilität nie eine Struktur einnimmt, bei der sich alle Atome in einer Ebene befinden. Die Schichten neigen dazu, sich aufzurollen, zu falten und zu wellen (Abbildung 5). Große Bug- und Quetschfalten entstehen häufig bei der Verarbeitung,^[83,89] während die kleineren Riffelstrukturen meist der

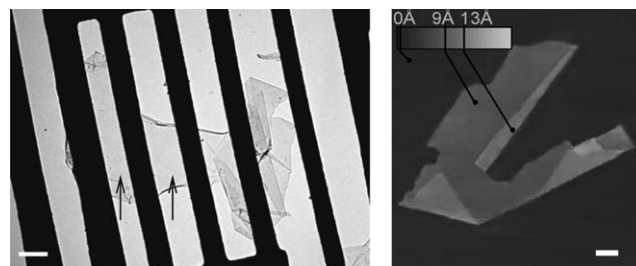


Abbildung 5. Links: Hellfeld-TEM-Aufnahme einer an einem Metallgerüst hängenden Graphenmembran. Im mittleren Bereich befindet sich eine Graphen-Monoschicht (mit Pfeilen gekennzeichnet homogener Bereich). Sichtbar sind die aufgerollten Ober- und Unterkanten sowie ein gefalteter Bereich auf der rechten Seite. Maßstab 500 nm. (Wiedergabe nach Lit. [90] mit Erlaubnis durch Macmillan Publishers Ltd., Copyright 2007.) Rechts: AFM-Bild von Graphenflochten auf einem oxidierten Siliciumwafer. Wiederum ist das Vorhandensein von Falten offensichtlich. Maßstab 1 μ m. Nach Lit. [89].

inhärenten Struktur der isolierten Schichten geschuldet sind.^[90–93]

Daher überrascht es nicht, dass diese, im wesentlichen zweidimensionale Form des Kohlenstoffs viele charakteristische Eigenschaften aufweist. Wir geben hier nur einen kurzen Überblick und konzentrieren uns auf die elektrochemischen, elektronischen und optischen Eigenschaften des Graphens, die für Biosensoranwendungen am wichtigsten sind. Weitere Einzelheiten sind in aktuellen Übersichten zu finden.^[82,87,94–96]

Über die elektrochemischen Eigenschaften von Graphen weiß man noch weniger als über jene von CNTs. Weiterhin wurden die wenigen verfügbaren Studien mit unterschiedlichen „Graphen“-Formen durchgeführt,^[97–105] sodass die Ableitung allgemeiner Schlussfolgerungen problematisch ist. Es ist aber belegt, dass die erreichbare elektrochemische Leistung des Graphens und seiner Abkömmlinge gut ist im Vergleich zu Glaskohlenstoff-,^[99] Graphit-^[104] oder selbst zu mit CNTs belegten Elektroden.^[100,105] Bisher sind mit Graphen modifizierte Elektroden aber noch nicht mit den besten Kontrollelektroden mit Basis- und Kantenflächen-HOPG verglichen worden, und es gibt nur wenige gründliche Charakterisierungen von Graphenmaterial. Ähnlich problematisch waren auch viele der frühen Studien über CNT-modifizierte Elektroden. Allerdings hat man bei Mehrschichtgraphen, das als eine Elektrode bei cyclovoltammetrischen Studien an $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ -Lösungen eingesetzt wurde, einen reversiblen und schnellen Einelektronentransfer beobachtet.^[99] Diese Elektrodenart verfügte auch über vorteilhafte elektrochemische Eigenschaften, und für Mischungen von Biomolekülen, die bei der Verwendung von Glaskohlenstoff-Elektroden nur einen einzigen, breiten Peak bei höheren Potentialen ergeben, war die klare Auftrennung von Redoxpeaks möglich. Elektroden mit eingebautem Graphenoxid oder reduziertem Graphenoxid zeigten auch bei Redoxreaktionen von Biomolekülen^[100,105] oder Wirkstoffen^[102] hervorragende elektrochemische Eigenschaften. Der Ursprung dieser verblüffenden Eigenschaften ist noch ungeklärt, doch sollten sich die elektrochemischen Reaktionen beim Graphen hauptsächlich auf dessen Kanten abspielen, während im (reduzierten) Graphenoxid zusätzlich noch funktionelle Gruppen und Defekte eine Rolle spielen.

Die elektronischen Eigenschaften von Graphen wurden als erste, und bisher am ausgiebigsten, untersucht.^[83] Sie leiten sich hauptsächlich aus den delokalisierten π -Systemen ober- und unterhalb der Basisfläche aus sp^2 -hybridisierten Kohlenstoffatomen ab. Diese delokalisierten Elektronen sowie die Qualität des Graphengitters sind die Ursachen für die hohen elektrischen Leitfähigkeiten und Beweglichkeiten: Bei Raumtemperatur liegen die Beweglichkeiten in Graphen mit einer Dicke bis zu drei Schichten bei $15\,000\text{ cm}^2\text{ V}^{-1}\text{ s}^{-1}$ oder darüber,^[83,106] und makellose hängende Monoschichten erreichen bei Temperaturen in der Nähe des absoluten Nullpunkts Werte von $230\,000\text{ cm}^2\text{ V}^{-1}\text{ s}^{-1}$.^[107] Graphen zeigt auch einen ambipolaren elektrischen Feldeffekt, bei dem negative Gate-Spannungen hohe Defektelektronenkonzentrationen hervorrufen, während positive Spannungen zu hohen Elektronenkonzentrationen führen. In makellosem Graphen wird dieses Verhalten bei einer Gate-Spannung von null als Spitze des spezifischen Widerstands sichtbar.^[83,106] Da dieser Parameter für beträchtliche Variationen in der Bandstruktur und Bandüberlappung sorgt, sind noch weitere elektronische Eigenschaften außerordentlich stark von der Schichtenzahl im betreffenden Stapel abhängig. Eine Monoschicht ist zum Beispiel ein „Zero-gap“-Halbleiter. Gleiches trifft zwar auch auf eine Doppelschicht zu, aber beim Anlegen einer Gate-Spannung bildet die Doppelschicht eine Bandlücke.^[108] Die Dreifachschicht ist ein Halbmetall und zeigt eine Bandüberlappung, die über die Gate-Spannung abstimmbare ist.^[109] Die Überlappung von Leitungs- und Valenzband nimmt solange mit der Schichtenzahl zu, bis bei 12–15 Schichten ein ähnliches Verhalten wie für Graphit erreicht ist.^[110,111] Die Ladungsträger im Graphen haben ebenfalls bemerkenswerte, von der Schichtenzahl abhängige Eigenschaften, mit geringen Massen (tatsächlich geht die Masse bei einer Monoschicht gegen null) und Fermi-Geschwindigkeiten in einer Größenordnung von 10^6 ms^{-1} .^[106,112–114] Weitere Einzelheiten können aktuellen Übersichten entnommen werden.^[82,87,94]

Den optischen Eigenschaften von Graphen ist einige Aufmerksamkeit gewidmet worden, und insbesondere Raman- und Infrarotspektroskopie liefern detaillierte Informationen über die Bandstrukturen.^[112,113,115–119] Mit Raman-Spektren lässt sich auch die Schichtenzahl im Graphenstapel bestimmen, da die Banden mit der Schichtenzahl ihre Form ändern.^[120] Graphen hat zwei charakteristische Raman-Banden: Die G-Bande bei etwa 1580 cm^{-1} und die D'- oder 2D- oder D*-Bande (äquivalent zur G'-Bande in Graphit) bei etwa 2700 cm^{-1} .^[84,95,120–122] Eine weitere D-Bande bei etwa 1350 cm^{-1} tritt an den Kanten der Schichten sowie in Graphen mit Defekten auf.^[120,121] In einer aktuellen Übersicht von Malard et al. werden die Raman-Spektren von Graphen ausführlich beschrieben.^[95] Eine weitere interessante optische Eigenschaft ist die praktisch konstante und additive Extinktion im sichtbaren Bereich für die ersten vier oder fünf Graphenschichten. Für jede Schicht entspricht die Extinktion dem Produkt der Feinstrukturkonstante mit π , was etwa 2.3 % gleichkommt.^[123]

In Tabelle 1 sind die Haupteinflussfaktoren auf die elektrischen und optischen Eigenschaften von Graphen zusammengefasst. Logischerweise muss man diese Parameter bei

der Herstellung von Biosensoren auf Graphenbasis berücksichtigen und, sofern möglich, steuern.

3. Aktuelle Entwicklungen bei der Anwendung von CNTs in Biosensoren

Die Echtzeitüberwachung biomolekularer Wechselwirkungen mit einer hohen Empfindlichkeit ist ein aktuelles Thema. Das Ziel besteht letztlich darin, Prozesse einzelner Moleküle in natürlichen Proben zu detektieren.^[137–139] Unter den in der Praxis angewendeten Methoden zur Detektion von Biomolekülen wie Desoxyribonucleinsäure (DNA) und Proteinen erreichen nur einige wenige dieses Ziel. Die außergewöhnlichen Eigenschaften von CNTs, darunter ihre geringe Größe und hohe Leitfähigkeit, ermöglichen neuartige elektrochemische, FET-basierte und optische Biosensoren. Wir werden im Folgenden zeigen, dass damit die Detektion einzelner Moleküle und Zellen in greifbare Nähe rückt.

Ein wichtiger Aspekt bleibt noch zu erwähnen, nämlich dass die meisten Forschungen an Biosensoren lediglich Machbarkeitsstudien darstellen, bei denen man im Labor hergestellte biologische Lösungen oder Proben anstelle von komplizierteren natürlichen Proben wie Urin, Blut, Serum und Rückenmarksflüssigkeit untersucht. Die seltenen Fälle, in denen mit klinischen oder anderen natürlichen Proben gearbeitet wurde, werden wir in der nachfolgenden Diskussion besonders hervorheben.

3.1. Elektrochemische Biosensoren

Die elektrochemische Detektion hat gegenüber herkömmlichen Fluoreszenzmessungen einige Vorteile, z.B. die Einführung in tragbare Geräte, höhere Leistung bei geringerem Hintergrund, billigere Komponenten sowie die Möglichkeit einer Messung in trüben Proben. In den letzten Jahren erschienen viele Berichte über elektrochemische Biosensoren auf CNT-Basis für die Detektion von biologischen Strukturen wie DNA, Viren, Antigenen, Krankheitsmarkern und ganzen Zellen. Ein wichtiger Aspekt dabei ist die Fähigkeit der CNTs, den Elektronentransfer in elektrochemischen Reaktionen zu begünstigen.^[50,57,140]

Eine Hauptaufgabe beim Entwerfen elektrochemischer Biosensoren auf CNT-Basis besteht darin, die Nanomaterialien so in Elektroden einzubauen, dass die größtmögliche Wirkung erzielt wird, was wegen der Anisotropie der Nanoröhren wichtig ist. Bevor wir uns mit aktuellen elektrochemischen Biosensoren beschäftigen, wollen wir zunächst die drei Hauptarten von Elektroden auf Nanoröhrenbasis vorstellen. Beim ersten und geläufigsten Typ sind Nanoröhren auf einer Oberfläche „zufällig verteilt“, was aber meist lediglich bedeutet, dass ihre Konfiguration unbekannt ist – die tatsächliche Verteilung ist eher nicht zufällig. Diese Art herrscht nicht unbedingt aufgrund einer überlegenen Leistung vor, sondern in erster Linie wegen der einfachen Herstellung. Durch chemische Abscheidung von SWNTs aus der Gasphase wurden jüngst tatsächlich Elektroden mit zufälligen Netzwerken hergestellt, die auch wesentlich schneller

Tabelle 1: Haupteinflussfaktoren auf die Eigenschaften von Graphen mit Beispielen.

Faktor	Wirkungen
Schichtenzahl	In erster Linie werden die Eigenschaften durch diesen Parameter bestimmt. Mehr Schichten bedeuten komplexere elektronische Bandstrukturen und veränderte elektrische und optische Eigenschaften. Beispiele: <ul style="list-style-type: none"> • Mit dem Übergang von Mono- zu Dreifachschichten ändern sich die effektiven Massen und Beweglichkeiten der Ladungsträger, anomale Quanten-Hall-Effekte und Bandlücken.^[106, 108, 109, 124] • Die Lage und Form der Signale in Raman-Spektren (d. h. Komponentenbanden) ändern sich mit der Schichtenzahl.^[119, 120]
Substrat	Der Kontakt des Substrats mit der Graphenschicht (oder mehreren Schichten) hat großen Einfluss: <ul style="list-style-type: none"> • SiO₂-Substrate reduzieren die Ladungsträgerbeweglichkeit um mehr als eine Zehnerpotenz, hauptsächlich durch geladene Verunreinigungen im Substrat und durch Streuung an SiO₂-Phononen („remote interfacial phonon scattering“).^[125] • Mit aufgehängtem Monoschichtgraphen werden Substrateffekte minimiert; unter Vakuum und bei 5 K liegen die Beweglichkeiten dann zwischen 60 000 und 230 000 cm² V⁻¹ s⁻¹.^[107] • Durch Ladungstransfer vom SiC-Substrat unterliegt epitaktisches Graphen mit wenigen Schichten einer Verschiebung der Bindungsenergie des 1 s-Niveaus.^[126] • In epitaktischem Graphen auf SiC induzieren Kompressionsspannungen infolge von Fehlpassung erhebliche Blauverschiebungen der Raman-Banden.^[127]
Adsorbierte Verunreinigungen	Aus der Gasphase adsorbierte Spezies oder aus der Verarbeitung stammende Verunreinigungen sind kaum vermeidbar und können wegen der großen Oberfläche des Graphens beträchtliche Auswirkungen haben: <ul style="list-style-type: none"> • Graphen-FETs werden durch adsorbierten Wasserdampf dotiert, wodurch sich der Neutralpunkt (Peak des spezifischen Widerstands) zu einer Gate-Spannung von etwa 40 V verschiebt.^[83] Die Gegenwart von Oxidschichten oder von Rückständen aus Lithographieschritten verschiebt diesen Punkt ebenfalls.^[128] • Die Desorption von Kohlenwasserstoff-Verunreinigungen von aufgehängten Monoschichtgraphen durch „Current Annealing“ bei ca. 600 °C lässt die Beweglichkeiten der Ladungsträger um einen Faktor von 3 bis 10 ansteigen.^[107]
Planarität	Die Eigenschaften von Graphen werden von seiner Neigung zum Wellen beeinflusst: <ul style="list-style-type: none"> • Riffelstrukturen verursachen Bereiche mit einem Überschuss an Elektronen oder Defektelektronen (engl. „puddles“),^[129] insbesondere wenn die induzierte Ladungsträgerkonzentration gering ist.^[87] • Verschiebungen von Raman-Peaks treten für Graphenbereiche auf, die sich über einem Träger befinden, das Substrat aber nicht berühren.^[92]
Defekte	Defekte im Graphengitter, das eigentlich eine hohe Qualität hat, beeinflussen elektronische und chemische Eigenschaften stark: <ul style="list-style-type: none"> • Bei der Hochtemperaturoxidation entstehen in den Schichten Defekte (in Raman-Spektren als schwache D-Banden sichtbar), die die Beweglichkeit der Ladungsträger wesentlich herabsetzen.^[128] • Bei der Herstellung von Graphenoxid erhöht sich die Hydrophilie der Graphenschichten, aber die Leitfähigkeit wird um einige Zehnerpotenzen vermindert.^[130, 131] • Stapelfehlordnung verändert die elektronischen Bandstrukturen.^[132]
Ausdehnung einer Graphenschicht	Der spezifische elektrische Widerstand nimmt mit abnehmender Weite der Graphen-Nanoschleifen zu, ^[133] und die Verkleinerung ausgedehnter Graphenschichten bewirkt mehr elektrisches Rauschen in Graphen-FETs. ^[134]
Kantenarten und Funktionalisierung	Art und Menge der Atome und funktionellen Gruppen auf den Kanten beeinflussen die Eigenschaften von Graphen, doch ist es schwierig, diese Größen zu messen oder gar zu steuern: <ul style="list-style-type: none"> • Wie in der Übersicht von Enoki et al. geschildert,^[135] haben Menge und Verteilung von Sessel- und Zickzack-Kanten einen wesentlichen Einfluss auf die elektronischen und (vorhergesagten) magnetischen Eigenschaften von nanoskaligem Graphen (z. B. Nanoschleifen und Quantenpunkte); ebenso werden sie von der Art der Funktionalisierung der Kanten beeinflusst. • Die Zustände der Kanten werden von deren Rauigkeit bestimmt.^[82] • Die Verspannung („warping“) des Graphens ändert sich mit der Zahl der Gruppen auf Kanten.^[136]

sind als übliche Ultramikroelektroden mit Metallscheiben.^[141]

Bei der zweiten Klasse von Elektroden wird die Leistung mithilfe ausgerichteter Nanoröhren optimiert. Diese Ausrichtung kann das Ergebnis einer Selbstorganisation sein (Abbildung 6),^[142, 143] oder die ausgerichteten Nanoröhren wachsen direkt von einer Oberfläche aus.^[144] Besonders interessant ist in diesem Zusammenhang das Wachstum von „Wäldern“ aus ausgerichteten SWNTs.^[145–147] Elektroden mit Nanoröhren, die senkrecht auf der Elektrodenoberfläche stehen, zeigen einen schnelleren heterogenen Elektronentransfer als zufällige Anordnungen.^[143, 148] Das wird damit begründet, dass die Spitzen der Nanoröhren normalerweise einen schnelleren Elektronentransfer ermöglichen als die

Seitenwände. Somit müssen sich die Elektronen, um zur Elektrode zu gelangen, nur entlang einer Röhre bewegen, statt von Röhre zu Röhre zu springen.^[33] Die dritte Elektrodenart beruht nicht auf einem Ensemble aus vielen Röhren mit unterschiedlichen Eigenschaften, sondern auf einer einzelnen CNT als Nanoelektrode. Ungeachtet der Schwierigkeiten bei der Herstellung und Verarbeitung von einzelnen CNTs ist dies wahrscheinlich der aussichtsreichste Aufbau. Die Herstellung solcher Elektroden erfolgt entweder mit einzelnen MWNTs^[149] oder mit einzelnen SWNTs,^[150] was jeweils eine andere elektrochemische Leistung ergibt.

Mit CNTs modifizierte Elektroden ermöglichen anscheinend wesentlich bessere amperometrische Biosensoren, ins-

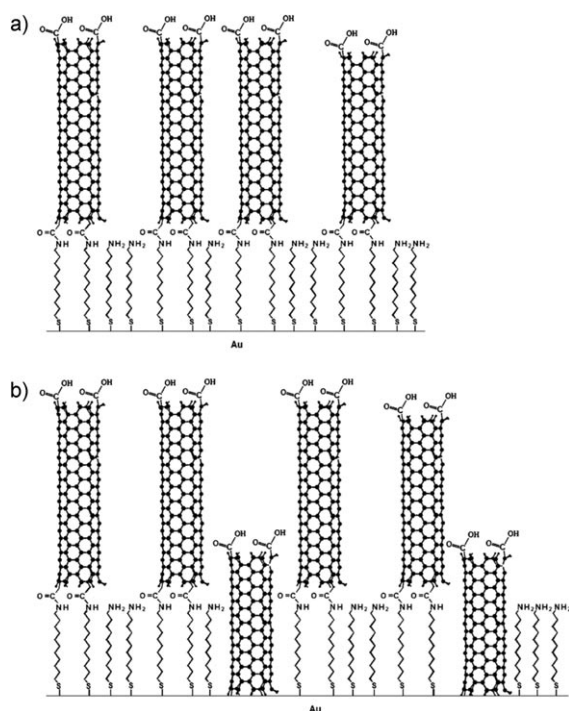


Abbildung 6. Anordnungen chemisch ausgerichteter, durch Oxidation verkürzter Nanoröhren. Zwei mögliche Mechanismen des Elektronentransports: a) Aufbau mit vertikal auf einer Aminoalkanthiol-SAM ausgerichteten Nanoröhren, bei dem ein Elektron durch die Nanoröhre und durch die aliphatische Kette der Alkanthiol-Monoschicht tunnelt, sowie b) Aufbau, bei dem die Nanoröhren die SAM durchsetzen und eine direkte Verbindung zum Goldsubstrat besteht. Die Nanoröhren werden durch hydrophobe Wechselwirkungen mit der SAM in ihren Positionen fixiert. (Wiedergabe nach Lit. [143] mit Genehmigung der American Chemical Society, Copyright 2009.)

besondere was die Empfindlichkeit für H_2O_2 und NADH betrifft. Die Probenreinigung sowie die Frage, ob die vorteilhaften elektrochemischen Eigenschaften direkt aus den Nanoröhren oder aus Verunreinigungen resultieren, sind bei solchen Anwendungen, wie schon im Abschnitt 2.1 dargelegt, große Herausforderungen. Wang und Mitarbeiter^[151] verwendeten Nafion, ein sulfoniertes Tetrafluorethylen-Polymer, um MWNTs in Kompositelektroden für die Glucose-Detektion mithilfe von Glucose-Oxidase einzubauen. Glucose wird dabei durch das Enzym oxidiert, und anschließend wird die entstandene H_2O_2 -Konzentration gemessen. Die Kompositelektroden sind sehr empfindlich für Glucose, insbesondere bei niedrigen Potentialen (-0.05 V), und die Störung durch Biomoleküle wie Dopamin, Harnsäure und Ascorbinsäure, die die elektrochemische Detektion von Glucose normalerweise beeinträchtigen, war vernachlässigbar. Die gleichen Autoren stellten auch fest, dass CNT-modifizierte Elektroden den Elektronentransfer vom NADH-Molekül beschleunigen können, was das Überpotential vermindert und Ablagerungen auf der Oberfläche („fouling“) entgegenwirkt. Diese Eigenschaften sind besonders interessant, wenn es darum geht, die mit der Oxidation von NADH auf herkömmlichen Elektroden verbundenen Probleme zu lösen.^[152] Ähnliche Verbesserungen wurden danach für Kompositelektroden beobachtet, die mit CNTs und ionischen Flüssigkeiten hergestellt

worden waren. Diese Elektroden haben eine hohe Stabilität, hohe elektrische Leitfähigkeit und einen extrem niedrigen Dampfdruck.^[153,154] Allerdings ist bei der Interpretation solcher Ergebnisse Vorsicht geboten. Die Ursache der vorteilhaften Eigenschaften von CNT-basierten Elektroden wird weiterhin kontrovers diskutiert, weil die meisten CNTs durch die Metalkatalysatoren verunreinigt sind, die zu ihrer Herstellung angewendet werden. Diese Verunreinigungen sind wenigstens einer der Gründe für die beobachtete elektrochemische Aktivität. Obwohl sie die Aufklärung des elektrochemischen Verhaltens erschweren, haben diese verbliebenen Metallnanopartikel doch einen Nutzen: Sie geben einen klaren Hinweis darauf, dass man die elektrochemischen Eigenschaften von Sensoren durch den gezielten Einbau katalytischer Nanopartikel in CNTs verstärken kann.

CNTs bieten auch effizientere Kommunikationswege zwischen Sensorelektroden und den redoxaktiven Zentren von Biomolekülen, die oft tief in die umgebenden Peptide eingebettet sind. Ihr großes Aspektverhältnis und kleiner Durchmesser ermöglichen es den SWNTs, zu diesen aktiven Zentren im Inneren der Moleküle vorzudringen, und der schnelle Elektronentransfer an der Spitze der oxidierten Röhren kann ein weiterer Vorteil sein. Ein wichtiger Schritt in diese Richtung war das Befestigen von Mikroperoxidase-11 (MP-11) – einer durch proteolytischen Verdau von Hämproteinen gebildeten Sequenz aus 11 Aminosäuren mit einem Hämzentrum – an den Enden von SWNTs. Letztere richteten sich durch Selbstorganisation senkrecht zur Elektrodenoberfläche aus, sodass ein Feld von Nanoelektroden entstand.^[38] Die hohe Wirksamkeit der Nanoröhren als molekulare Drähte wurde anhand der berechneten Geschwindigkeitskonstante von 3.9 s^{-1} für den heterogenen Elektronentransfer zwischen der Elektrode und den MP-11-Molekülen demonstriert. Durch kovalentes Befestigen von Enzymen an den Enden ausgerichteter SWNTs konnten Yu et al.^[39] ebenfalls Felder (oder „Wälder“) erzeugen. Diese Autoren berichteten über quasireversible $\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}}$ -Übergänge für die Häm-Enzyme Myoglobin und Meerrettichperoxidase.

Eine andere elegante Anwendung von CNTs für Immunoassays umfasste die Erzeugung von „Wäldern“ aus senkrecht zur Basisfläche von pyrolytischem Graphit angeordneten SWNTs sowie die Nutzung der großen Oberfläche der MWNTs, um detektierbare Moleküle zuzuführen (Abbildung 7).^[155] Die CNTs wurden in diesem elektrochemischen Sandwich-Immunoassay sowohl als „Nanoelektroden“ genutzt, die den primären Antikörper (Ab_1) an eine Elektrode aus pyrolytischem Graphit kuppelten, als auch in Suspension als „Vektoren“, die mehrere sekundäre Antikörper (Ab_2) und mehrere Kopien der elektrochemischen Markierung Meerrettichperoxidase (HRP) trugen. Die Verwendung von Ab_2 -MWNT-HRP-Biokonjugaten mit großen HRP/ Ab_2 -Verhältnissen anstelle von Ab_2 mit nur einer einzigen HRP-Markierung ergab ein stärkeres Fühlersignal, und der Prozess lief in drei Stufen ab. Zuerst wurde das im Serum vorhandene Prostata-spezifische Antigen (PSA), ein Biomarker für Prostatakrebs, von Ab_1 erkannt und gebunden. Dann zielten die Ab_2 -MWNT-HRP-Biokonjugate auf die nunmehr auf der Oberfläche angepropften PSA und banden über Ab_2 an diese. Schließlich war nach der Zugabe von H_2O_2 eine indirekte

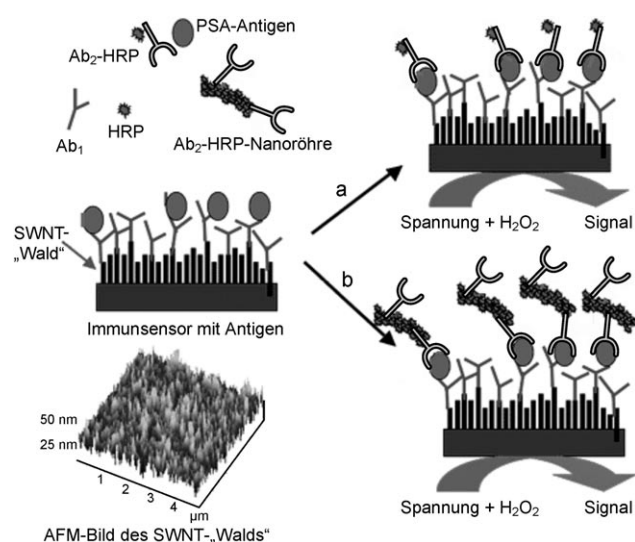


Abbildung 7. Sensoren aus primären (Ab_1) und sekundären Antikörpern (Ab_2), Meerrettichperoxidase (HRP) sowie einem SWNT-„Wald“ auf einer Elektrode aus pyrolytischem Graphit. Gemessen werden die Menge an Markierung und die Stärke des induzierten elektrochemischen Signals bei Verwendung von a) Ab_2 -HRP- und b) Ab_2 -MWNT-HRP-Biokonjugaten. (Wiedergabe nach Lit. [155] mit Genehmigung der American Chemical Society, Copyright 2006.)

Detektion von PSA möglich. Dazu maß man die elektrochemische Spannung, die aus der Reaktion des zugegebenen H_2O_2 mit den HRP auf den Nanoröhrenkomplexen resultierte. Zwei Aspekte dieses Konzepts sind besonders hervorzuheben. Zum einen können die MWNTs mehrere HRP-Moleküle binden, während Ab_2 aufgrund seiner Größe und chemischen Eigenschaften als Markierung sowie beim Binden nur beschränkte Fähigkeiten hat. Mit diesem Konzept ließe sich die Detektionsempfindlichkeit von PSA gegenüber den gängigen klinischen Immunassays um einen Faktor zwischen 10 und 100 steigern. Die gleichen Forscher demonstrierten das klinische Potenzial dieses Biosensors mit der Messung der PSA-Konzentration in Humanserum von Krebspatienten und gesunden Probanden.

Um leistungsfähigere elektrochemische Sensoren zu erhalten, kombiniert man CNTs mit anderen funktionellen Materialien wie leitenden Polymeren oder Metallnanopartikeln.^[52] Einige Beispiele für die höhere Empfindlichkeit von CNTs, die in Elektroden mit Polymeren oder ionischen Flüssigkeiten eingebaut sind, sind schon genannt worden.^[151–154] Gao et al.^[156] berichteten

auch über Glucose-Biosensoren mit ausgerichteten CNTs und einem leitenden Polymer. Letzteres wurde als Umhüllung für die einzelnen ausgerichteten CNTs verwendet, was die Detektion des von der Glucose-Oxidase freigesetzten H_2O_2 bei niedrigem Potential möglich machte. Später entwickelten Dai und Mitarbeiter^[157,158] eine vielseitige und effektive Methode, um CNTs mit Metallnanopartikeln zu versehen, was beim Einbau in Arbeitselektroden eine größere elektrochemische Aktivität ergab. Der elektrochemische Biosensor von Fisher und Mitarbeitern^[159] ist ebenfalls ein Kompositsystem auf SWNT-Basis. Hier wurden mit Au umhüllte Pd-Nanowürfel (Au/Pd-Nanowürfel) verwendet, um die elektrochemische Aktivität zu erhöhen, selektive Andockstellen für die Biofunktionalisierung bereitzustellen und die Biokompatibilität zu verbessern (Abbildung 8). Die Au/Pd-Nanowürfel waren von einheitlicher Größe und Form und wurden in ein elektrisch kontaktiertes Netzwerk von SWNTs integriert. Das Pd stellt einen niederohmigen Kontakt an der Grenzfläche zwischen SWNTs und Au her, während das Au für die notwendige Biokompatibilität bei der Funktionalisierung sorgt, und zwar möglicherweise gegenüber einer Vielzahl von Liganden und anderen wichtigen Biomarkern. Mit diesem einzigartigen Elektrodenaufbau gelang die amperometrische Detektion von H_2O_2 , was die Wirksamkeit des Nanowürfel-SWNT-Biosensors als Fühler für Glucose zeigte. Eindeutige Vorteile der elektrochemischen Dekorierung sind, dass die SWNTs Kristallisationskeime für das Wachstum von Nanopartikeln an Defekten in den Nanoröhren bieten, sowie der inhärente elektrische Kontakt zu den Nanopartikeln, der bei der Direktintegration in Bauteile nützlich ist.

Neben dem Ertasten von Molekülen ist die Wechselwirkung mit und das Ertasten von ganzen Zellen eine neue Entwicklung. Beispielsweise wurde bereits über Adhäsion, Wachstum und Differenzierung neuronaler Zellen auf CNT-Substraten berichtet.^[160] Das große Interesse an der Kuppelung neuronaler Zellen an CNTs ist kein Zufall. Wegen ihrer einzigartigen mechanischen, chemischen und elektrischen Eigenschaften werden CNTs als ein vielversprechendes Material für neurale Biosensoren angesehen.^[161] Die ausgeprägte

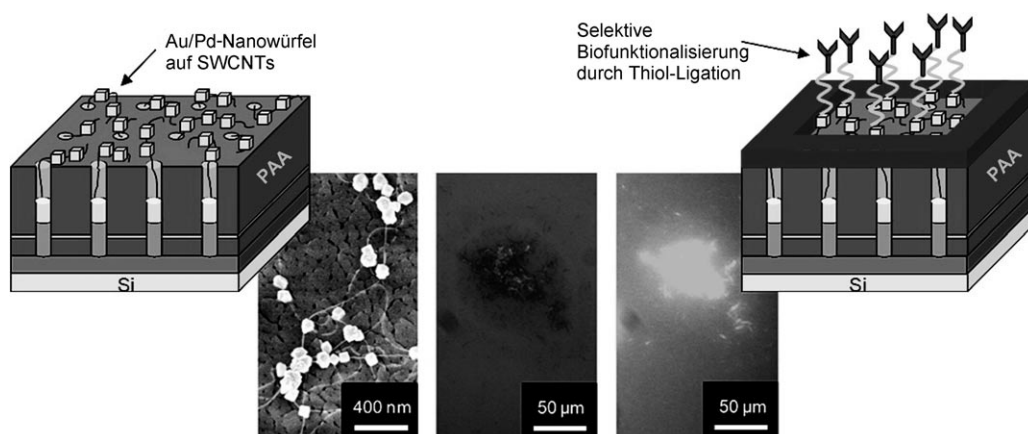


Abbildung 8. Mit Au/Pd-Nanowürfeln (Au umhüllt mit Pd) versehene SWNT-Netzwerke sind elektrochemische Biosensoren für die amperometrische Detektion von Wasserstoffperoxid mit ausgezeichneter Empfindlichkeit ($2.6 \text{ mA mm}^{-1} \text{ cm}^{-2}$) und einer geschätzten Nachweisgrenze von nur 2.3 nM bei einem Signal-Rausch-Verhältnis von 3. (Wiedergabe nach Lit. [159] mit Genehmigung der American Chemical Society, Copyright 2009.)

Steifheit der Nanoröhren ist deshalb von Vorteil, weil die Elektroden Gewebe durchdringen müssen. Außerdem sollte ihre Fähigkeit, als ballistischer Leiter zu wirken (ein Material, das den Elektronenfluss nicht wesentlich verlangsamt), zu einer Senkung der Impedanz und einem höheren Ladungstransfer beitragen. Keefer und Mitarbeiter untersuchten Elektroden, die mit Nanoröhren umhüllt waren, als Schnittstellen zwischen Gehirn und Maschine.^[162] Sie berichteten, dass das betreffende Material biokompatibel sei. Durch schichtweisen Aufbau erzeugten Kotov und Mitarbeiter^[163] Komposite aus SWNTs und Laminin, einem essenziellen Bestandteil der extrazellulären Matrix des Menschen. Es wurde gefunden, dass diese dünnen Laminin-SWNT-Filme die Differenzierung der neuralen Stammzellen unterstützen und sich zu deren Anregung eignen. Man beobachtete die Bildung funktionaler neuraler Netze, angezeigt durch das Vorhandensein synaptischer Verbindungen. Angesichts dieser Ergebnisse kommen Protein-SWNT-Komposite als Materialien für neurale Elektroden in Frage, deren Strukturen sich besser für eine Langzeitintegration in neurales Gewebe eignen. Eine wichtige Entwicklung ist auch ein Sensor von Lin und Mitarbeitern,^[164] mit dem die kontinuierliche und simultane Beobachtung von Glucose und Lactat im Hirngewebe von Ratten gelang. Sie entwarfen ein komplexes elektroanalytisches System, bei dem die SWNTs mit Glucose-Dehydrogenase bzw. Lactat-Dehydrogenase beladen waren.

Bei alledem bleiben die möglichen negativen Immunreaktionen während des Langzeiteinsatzes von CNTs noch zu erforschen.^[165] Beispielsweise ist es möglich, dass CNTs die Ausschüttung von Lymphozyten-induzierten zytotoxischen Zytokinen auslösen, was der Gesundheit des Patienten abträglich wäre.^[166] Teilweise lässt sich dieses bisher wenig erforschte Problem umgehen, indem man die CNTs durch Funktionalisierung mit Biomolekülen wie DNA biokompatibler macht.^[1] Es wurde gezeigt, dass DNA auf photochemischem^[167] und nasschemischem^[168] Weg effektiv an den Seitenwänden und Spitzen von CNTs befestigt werden kann. Neben der Verminderung möglicher Negativeffekte der Nanoröhren erhöht so eine Funktionalisierung oft auch die Wirksamkeit des Biosensors. Auf diese Weise konnten mit DNA immobilisierte, ausgerichtete CNTs komplementäre DNA mit einer hohen Empfindlichkeit und Selektivität detektieren.^[169,170]

Eine weitere interessante Entwicklung bei elektrochemischen Biosensoren ist die Verwendung von Aptameren. Aptamere sind Oligonucleotidsequenzen, die so gestaltet werden können, dass sie über eine Affinität für Wirkstoffe, Proteine oder andere biologisch relevante Moleküle verfügen, und sie sind auch für den Einsatz in neuartigen Therapien vielversprechend. Sie wurden als Rezeptoren für die selektive Detektion von vielen molekularen Targets, und auch von Bakterien, in Betracht gezogen.^[171] Eine Selbstorganisation durch Bildung von π -Stapeln kann dafür sorgen, dass sich die Aptamere zwischen den Basisflächen mit Nucleinsäure und den Wänden der CNT-Nanoröhren anordnen. Aus diesem Grund wird der Einsatz von CNTs mit Aptameren in Biosensoren intensiv erforscht.^[16] Rius und Mitarbeiter^[172] berichteten erst jüngst in einer eleganten Studie über einen neuartigen po-

tentiometrischen Biosensor mit aptamermodifizierten SWNTs, der eine einzelne koloniebildende Einheit (colony-forming unit, CFU), eigentlich ein einzelnes Bakterium, von *Salmonella Typhi* spezifisch und in Echtzeit detektieren konnte. Der Vergleich mit dem klassischen mikrobiologischen Test, bei dem Kulturen gezüchtet werden müssen, sodass bis zur Diagnose von Salmonellose 24 bis 48 h vergehen können, unterstreicht das große Potenzial dieser mikrobiologischen Sensoren. Eine frühzeitige Diagnose kann Leben retten, weil starker Flüssigkeitsverlust infolge von Diarrhö besonders in tropischem Klima gefährlich ist.

3.2. Feldeffekttransistoren auf SWNT-Basis

Biosensoren auf FET-Basis unterscheiden sich von elektrochemischen Biosensoren in zwei wesentlichen Punkten: Erstens erfolgt die elektrische Detektion über die Änderung des spezifischen Widerstands infolge der Adsorption bestimmter Moleküle auf der FET-Oberfläche, und zweitens liegen mikroskalige oder sogar nanoskalige Baueinheiten vor. Im Vergleich zu größeren elektrochemischen Baueinheiten ergeben sich dadurch Vorteile, die die Gruppe um Lieber mit einer Arbeit über FETs aus Si-Nanodrähten sehr schön illustriert hat.^[173] In einem Fall wurde gezeigt, dass eine markierungsfreie parallele Detektion von Krebsmarkern in Echtzeit möglich ist, bei der bemerkenswerterweise kein signifikanter Beitrag durch nichtspezifische Bindung anderer Proteine festgestellt wurde.^[174] Die gleichen Autoren demonstrierten auch die Detektion einzelner Viren mit FETs aus Siliciumnanodraht.^[175] Die ausgezeichnete Leistung solcher Sensoren ist vor allem auf die geringe Größe der Siliciumnanodrähte und die damit verbundene hohe Empfindlichkeit zurückzuführen, ebenso auf ihre Eignung für eine Biofunktionalisierung und die so erreichbare Selektivität. Angesichts der Popularität von Siliciumnanodrähten für elektrische Biosensoren überrascht das wachsende Interesse an SWNTs in Biosensoren des FET-Typs nicht. Neben ihrer nanoskaligen Größe und hervorragenden elektrischen Eigenschaften zeichnen sich die SWNTs auch dadurch aus, dass sie aus nur einer Molekülschicht bestehen. Wie beim Graphen ist jedes Kohlenstoffatom also auch ein Oberflächenatom, und die Adsorption eines Moleküls auf der Oberfläche der SWNT ändert demzufolge die elektrischen Eigenschaften der gesamten Nanoröhre. Dies macht Sensoren auf CNT-Basis enorm empfindlich für viele Analyte in der Gasphase oder in Lösung.^[176,177] Dekker und Mitarbeiter, von denen der erste FET-Biosensor mit einer einzelnen SWNT stammte,^[45] haben gezeigt, dass ein solcher Biosensor die enzymatische Aktivität mithilfe einzelner Nanoröhren messen kann. Ein weiterer Vorteil war, dass die chemisch robusten Kohlenstoffnanoröhren zuverlässige, langlebige Sensoren ergeben können. Da die Nanoröhren so winzig sind, erfordert der Sensorbetrieb nur wenig Energie, und mehrere dieser nanoskaligen Sensoren lassen sich auf einem kleinen Chip unterbringen.

Angesichts dieser Vorteile erforschten die Gruppen um Dai,^[44] Dekker,^[45] Gruner,^[178] Tao,^[179] Star^[180] und andere^[180–182] die Anwendung von CNT-Baueinheiten für die

elektrische Detektion von Biomolekülen wie Enzymen, Proteinen, Oligopeptiden und Oligonucleotiden. Einige Autoren verwendeten einzelne Nanoröhren als FETs. So nutzte die Gruppe um Dekker einzelne halbleitende SWNTs als elektrische Biosensoren für Glucose, indem sie das Redoxenzym Glucose-Oxidase gezielt an der Seitenwand verankerte.^[45] Star et al.^[178] berichteten über einen Transistor mit einer einzelnen SWNT, bei der die nichtspezifische Bindung durch eine Polymerhülle unterdrückt wurde und die spezifische Molekülerkennung durch das Befestigen von Biotin an diese Hülle ermöglicht wurde. Die Gruppe um Tao berichtete über die In-situ-Detektion der Adsorption von Cytochrom c auf einzelnen SWNT-Transistoren, die auf einer Änderung der Transporteigenschaften des Transistors für Elektronen beruhte.^[179] Andere Arbeitsgruppen erzeugten FETs aus zufälligen Nanoröhren-Netzwerken. Star et al.^[180] sowie Li und Mitarbeiter^[183] nutzten Netzwerke aus CNTs mit nichtkovalent angebundenen DNA-Strängen zur Detektion der DNA-Hybridisierung. Jeder der beiden FET-Strukturtypen, einzelne Röhren und Netzwerke, hat gewisse Vorteile. In einer Baueinheit mit einer einzelnen Nanoröhre kommt der eigentliche Sensormechanismus besser zur Wirkung,^[36] da sich ihr elektrisches Signal nicht aus Komponenten von vielen Nanoröhren mit unterschiedlichen Größen und Eigenschaften zusammensetzt. Andererseits lässt sich ein zufälliges Netzwerk viel einfacher herstellen als ein FET aus einer einzelnen Röhre,^[180] und solche FETs wären auch robuster und würden den Ausfall einzelner CNTs verkraften.

Man hat den Fühlmechanismus der CNT-FET-Biosensoren nicht von Beginn an vollständig verstanden und zog Mechanismen in Betracht, die einen Ladungstransfer von adsorbierten Spezies, Modifikationen der Austrittsarbeit des Kontakts, Substratwechselwirkungen und/oder die Streuung von Ladungsträgern durch adsorbierte Spezies beinhalten.^[184] Neuen Erkenntnissen zufolge sind Modifikationen der Schottky-Barriere und/oder ein Ladungstransfer die wichtigsten Mechanismen für das Ansprechen der Baueinheit.^[24,34] Aktuelle Arbeiten über elektrische CNT-Biosensoren beschäftigen sich mit der Erhöhung der Spezifität des Erkennungsprozesses. So verwendeten Tseng und Mitarbeiter^[185] ein neues Konzept für die spezifische Adsorption von DNA auf einem CNT-Transistor, um eine DNA-Hybridisierung zu detektieren. Diese Methode beinhaltete eine nichtkovalente Anbindung eines Ethylenglycol- und N-Succinimidyl-Gruppen enthaltenen Methacrylat-Copolymers an die Nanoröhren. Damit sollte die nichtspezifische Adsorption von DNA auf den CNTs eingeschränkt und durch robuste Amidbrücken gleichzeitig eine stabile Bindung für DNA-Fühler aufgebaut werden.

Die Analyse einzelner Zellen ist ein interessantes Verfahren zur Untersuchung von Zellbestandteilen. Anders als bei Methoden, die große Zellpopulationen erfassen, wird diese Technik nicht durch den Informationsverlust infolge einer Durchschnittsbildung beeinträchtigt. Neue Studien beschreiben Methoden für die Quantifizierung spezifischer Proteine innerhalb einzelner Zellen, und zwar mit integrierter Fluoreszenz (durch konfokale Mikroskopie, Flusszytometrie und die Beobachtung fluoreszierender Enzymprodukte) sowie in einem anderen Fall auch durch die Einzelmolekül-

Bildgebung.^[81,186] Angesichts der notwendigen Auflösung der Fluoreszenz von den verschiedenen Fühlern ist jede Analyse mithilfe dieser Techniken auf eine oder höchstens ein paar Spezies beschränkt. Außerdem hat sich diese Methode als schwierig erwiesen, insbesondere wenn die Zellumgebung die Fluoreszenzeigenschaften des Reportermoleküls verändert (z.B. durch Löschen oder resonanten Energietransfer) oder wenn die Messungen durch endogene Fluoreszenz beeinflusst werden.

Jenseits dieser optischen Methoden zeigten Sudibya et al.,^[187] dass eine Einheit mit einer biokompatiblen glycosylierten Nanoröhre mit einzelnen lebenden Zellen wechselwirken und die Ausschüttung von Biomolekülen mit hoher Zeitauflösung und Empfindlichkeit elektronisch detektiert werden kann. (Abbildung 9). Diese In-vitro-Anordnung er-

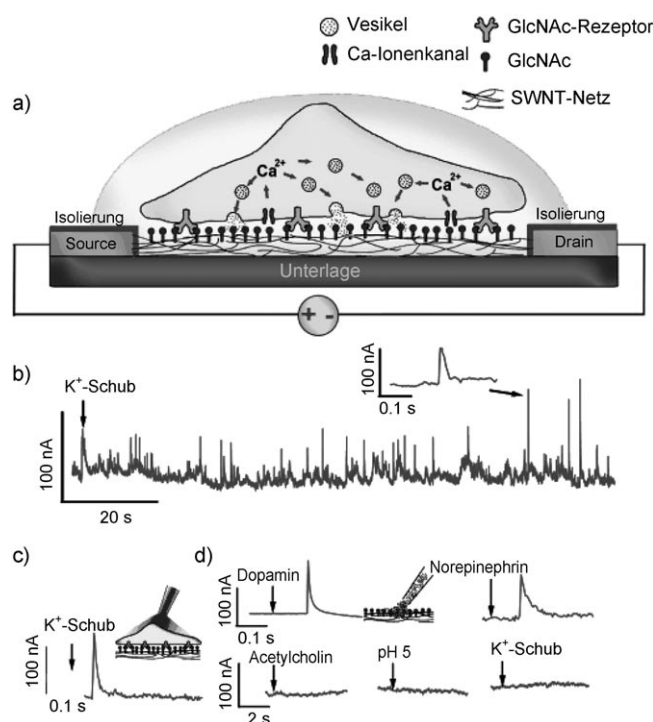


Abbildung 9. a) Detektion einer Exozytose durch ein SWNT-Netzwerk. b) Das Ansprechen der Nanoröhren auf die Exozytose von PC12-Zellen, die durch eine hohe K^+ -Konzentration ausgelöst wird. Das SWNT-Netzwerk ist mit $V_{ds} = 0.4$ V vorgespannt. c) Stimulierung einer einzelnen PC12-Zelle durch die Perfusion einer Lösung mit hoher K^+ -Konzentration aus einer Mikropipette. d) Die transiente Perfusion von 1 mM Dopamin und Norepinephrin auf ein glycosyliertes SWNT-Netzwerk erzeugt Spitzen in der Stromstärke, während eine Perfusion von Acetylcholin, einer sauren Lösung (pH 5,0) oder einer hohen K^+ -Konzentration keine analogen Reaktionen verursacht. Die Pfeile in (c) und (d) kennzeichnen ungefähr den Zeitpunkt der Stimulierung. Nach Lit. [187].

möglichte die Aufzeichnung der vesikelvermittelten Exozytose von Catecholaminen (d.h. die Ausschüttung von Stresshormonen) in den extrazellulären Raum, also in den Nahbereich der glycosylierten SWNTs, sodass durch die Hormonausschüttung verursachte Stromstärkeänderungen aufgezeichnet werden konnten. Diese wesentliche Entwicklung

auf dem Gebiet der Zellbiologie kann für unsere Kenntnis der dynamischen Ausscheidung von Biomolekülen aus einzelnen Zellen ebenso nützlich sein wie elektrochemische Strategien für die Untersuchung einzelner Zellen.^[17] Dieses Wissen wird hilfreich sein, um das Potenzial dieser funktionalisierten Nanomaterialien für die „Bottom-up“-Herstellung funktioneller Zellbiosensoren und damit verbundener maßgeschneiderter Nanotechniken zu erschließen. Villamizar und Mitarbeiter^[188] berichteten über einen schnellen, empfindlichen und markierungsfreien Biosensor für die selektive Bestimmung von *Salmonella Infantis* auf der Grundlage eines FET, bei dem ein Netzwerk aus SWNTs als Leitungskanal fungiert. Anti-*Salmonella*-Antikörper wurden auf den SWNTs adsorbiert und danach mit dem Tensid Tween 20 geschützt, um die nicht-spezifische Bindung von anderen Bakterien oder Proteinen einzuschränken.

Im Anwendungsbereich von CNT-FET-Biosensoren gibt es noch andere Typen der Biofunktionalität. Auf der Grundlage von SWNT-FETs, die mit einem Aptamer funktionalisiert waren, stellten So et al.^[189] einen Biosensor für die Detektion und Bestimmung der Zahl (CFU) an *Escherichia coli* her. Auf eine Bindung des Bakteriums *E. coli* sprachen diese Sensoren mit dem Abfall ihrer Leitfähigkeit um mehr als 50 % an. Die schnelle Diagnose von Lebensmittelvergiftungen durch *E. coli* mithilfe dieses Biosensors könnte lebensrettend sein. Mit der SWNT-FET-Technik wurde auch die Ausschüttung des von der Nebenschilddrüse produzierten Proteins Chromogranin A aus lebenden Neuronen detektiert, das häufig als Marker für neuroendokrine Tumore und neurodegenerative Krankheiten dient.^[190] Die Gruppe um McEuen^[191] verwendete Hybride aus trägerfixierten Lipiddoppelschichten und CNTs für die molekulare Erkennung biologischer Prozesse an Zellmembranen. Die Biotin-Streptavidin-Bindung beeinflusste hier das Leitvermögen der SWNT-FETs negativ. Mit einer solchen Baueinheit könnten Toxine wie das Choleratoxin an Membranen detektiert werden.

3.3. Optische Biosensoren auf CNT-Basis

Anders als es bei den elektrochemischen und elektrischen Eigenschaften der Fall ist, wurden die optischen Eigenschaften von CNTs erst in wenigen Arbeiten für Biosensoren genutzt. Solche Systeme stellen aber womöglich den einzigen Weg zu komplett nanoskaligen Biosensoren für beengte Umgebungen, wie das Innere einer Zelle, dar. Die Systeme beruhen gewöhnlich entweder auf Nanoröhren in einem klassischen optischen Sandwich-Assay^[192] oder auf der Fähigkeit von CNTs zum Löschen von Fluoreszenz^[193] oder auf der NIR-Photolumineszenz halbleitender Nanoröhren.^[74,194,195] Die NIR-Lumineszenz halbleitender SWNTs ist für Biosensoren besonders interessant. Da biologisches Gewebe die NIR-Strahlung nicht absorbiert, kann diese zum Abtasten biologischer Proben oder Organismen genutzt werden.

Einige Forscher haben die Fähigkeit von CNTs zum Löschen von Fluoreszenz untersucht. Bemerkenswert sind Arbeiten von Yang et al.^[196] sowie von Doorn und Mitarbei-

tern.^[197] Yang et al.^[196] nutzten die Tatsache, dass sich einzelne Oligonucleotid-Stränge, im Unterschied zu den entsprechenden Duplexen, um die SWNTs herumwickeln. Sie gaben SWNTs mit der Probe, in der die komplementäre DNA enthalten sein konnte, in eine Lösung zu Oligonucleotiden mit dem Fluoreszenzfarbstoff 6-Carboxyfluorescein als Markierung. In Abwesenheit komplementärer DNA wird sich die DNA mit der Fluoreszenzmarkierung um die SWNTs wickeln, und die Fluoreszenz wird gelöscht. Ist der komplementäre DNA-Strang in der Probe vorhanden, dann ergibt die Hybridisierung mit der Proben-DNA, die die Fluoreszenzmarkierung trägt, einen starren Duplex. Dieser nun wickelt sich nicht um die Nanoröhren, und die Fluoreszenz wird beobachtet. Doorn und Mitarbeiter^[197] verfolgten eine etwas andere Strategie. Sie verwendeten ein Farbstoff-Ligand-Konjugat, bei dem der mit den SWNTs komplexierte Farbstoff eine Fluoreszenz löscht. Durch die Wechselwirkung des an die Nanoröhren gebundenen Rezeptorliganden mit dem Analyt wurde das Farbstoff-Ligand-Konjugat von den Nanoröhren entfernt, und die Fluoreszenz kehrte zurück. Mit diesem Verfahren wurde eine nanomolare Empfindlichkeit erzielt.

Die Lumineszenz im Infrarotbereich haben Strano und Mitarbeiter^[35] für Biosensoren genutzt, indem halbleitende SWNTs in Doppelstrang-DNA (dsDNA) eingewickelt wurden. Die Konformationsänderung der DNA von der B- zur Z-Form verändert die dielektrische Umgebung der SWNTs bei gleichzeitiger Verschiebung der Wellenlänge der SWNT-Fluoreszenz. In dieser ersten Studie^[35] wurde dieser Einfluss einer veränderten dsDNA-Struktur auf die optischen Eigenschaften für die Detektion von Metallionen genutzt, die eine solche Änderung der DNA-Struktur verursachen. Zweiwertige Quecksilber-, Cobalt-, Calcium- und Magnesiumionen sind dafür bekannt, dass sie eine B-Z-Umwandlung von dsDNA bewirken, und die in DNA eingewickelten SWNT-Biosensoren konnten alle genannten Metalle detektieren, wobei die Empfindlichkeit in der Reihe $\text{Hg}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+}$ abnahm. Auf Strukturänderungen von dsDNA, die um Nanoröhren gewickelt ist, beruhte auch eine Detektion von Hg^{2+} mithilfe von Zirkulardichroismus. Man glaubt, dass Hg^{2+} die Wechselwirkung zwischen der DNA und den SWNTs, und mittelbar das durch die Assoziation der Nanoröhren mit der DNA induzierte Zirkulardichroismus-Signal, abschwächt.^[198]

Man hat Nanoröhren mit Einzelstrang-DNA (single-stranded DNA, ssDNA) umwickelt, um die DNA-Hybridisierung^[199,200] und Wechselwirkungen zwischen niedermolekularen Verbindungen und der DNA zu beobachten (Abbildung 10).^[47] Das ist eine besonders interessante Erweiterung der früheren Studie von Strano und Mitarbeitern^[35] in Richtung einer multimodalen optischen Detektion. Heller et al.^[47] konnten bis zu sechs genotoxische Analyte gleichzeitig detektieren, unter anderem alkylierend wirkende Chemotherapeutika und reaktive Sauerstoffspezies wie H_2O_2 , Singuletsauerstoff und Hydroxylradikale. Die Detektionsfähigkeit ein und derselben Probe von SWNTs, die mit ssDNA umwickelt sind, für mehrere unterschiedliche Analyte beruht auf den verschiedenen optischen Reaktionen von (6,5)- und (7,5)-SWNTs. Zum Beispiel verursacht das DNA alkylierende

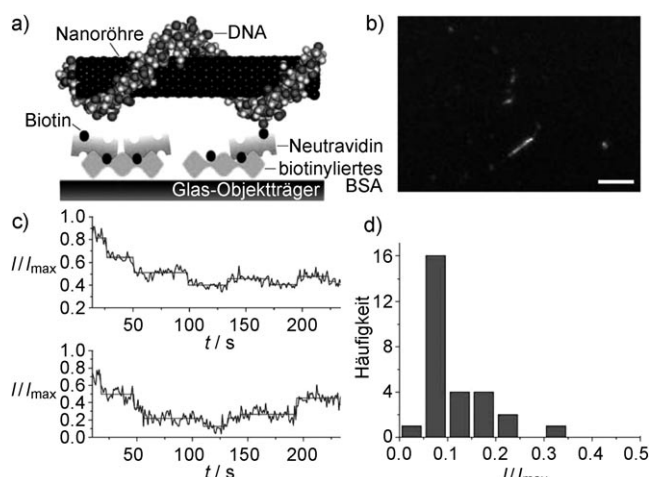


Abbildung 10. Immobilisierte DNA-SWNT-Komplexe für die Detektion von H_2O_2 . a) Bindung von DNA-SWNT an eine Glasoberfläche mit Rinderserumalbumin (BSA)-Biotin und Neutravidin. b) Photolumineszenz-Mikrograph verschiedener DNA-SWNT-Komplexe. Maßstab $10\ \mu\text{m}$. c) Die Anpassung an die Spuren in einem NIR-Film zeigt, dass bei der Perfusion von H_2O_2 die Emission der SWNT schrittweise gelöscht wird. d) Das Histogramm der normierten Schrittgröße für fünf Spuren aus einem NIR-Film lässt auf eine Detektion von H_2O_2 auf Einzelmolekülebene schließen. (Wiedergabe nach Lit. [47] mit Genehmigung von Macmillan Publishers Ltd., Copyright 2009.)

Chemotherapeutikum Melphalan sowohl bei (6,5)- als auch bei (7,5)-Nanoröhren eine Rotverschiebung in der Photolumineszenz. H_2O_2 und Cu^{2+} führen zu einer Rotverschiebung in der (6,5)-Bande, sie ändern aber die (7,5)-Bande nicht. H_2O_2 und Fe^{2+} schädigen die DNA und schwächen beide Banden ab, insbesondere jedoch die (7,5)-Bande. Die unterschiedlichen Auswirkungen der einzelnen Analyte auf die optische Signatur der SWNT-Mischung ermöglichen die simultane Detektion mehrerer Analyte mithilfe einer chemometrischen Analyse. In der gleichen Arbeit wurde über ein sequenzspezifisches Verhalten berichtet, wobei Sequenzen mit mehr Guaninbasen empfänglicher für Singulett-Sauerstoff sind, während DNA-Sequenzen mit besserer Metallbindung stärker auf Metallionen ansprechen. Schließlich illustrierte diese Studie auch die Fähigkeit von DNA-SWNTs zur Detektion von Wirkstoffen und reaktiven Sauerstoffspezies in lebenden Zellen. Es wurde gezeigt, dass die DNA-SWNTs durch Endocytose in 3T3-Fibroblasten eindringen können, und zwar ohne genotoxisch zu wirken sowie unter Erhaltung ihrer Photolumineszenz.^[81] Es wurde beobachtet, dass in lebenden Zellen perfundierende Wirkstoffe und reaktive Sauerstoffspezies Änderungen in den SWNT-Spektren induzieren.^[47]

Ein wichtiger Aspekt der NIR-Lumineszenz von DNA-SWNTs ist, dass das Einwickeln in DNA^[36] oder Collagen^[81] eine Detektion der Wechselwirkungen von einzelnen Molekülen ermöglicht, analog zu den Nanoröhren-FETs.^[45] Dieses System erscheint in vielerlei Hinsicht als ein idealer Biosensor, da es nanoskalig ist, und es kann, mit ausgezeichneter Empfindlichkeit, mehrere Analyte in biologischen Medien detektieren.

4. Biosensoren auf Graphen-Basis

Unter wissenschaftlichen und technischen Aspekten sind CNTs viel besser erforscht als Graphen, das erst seit einer grundlegenden Arbeit von Novoselov, Geim und Mitarbeitern aus dem Jahr 2004 für experimentelle Untersuchungen zur Verfügung steht.^[83] Wir schließen deshalb eine kurze Einführung in die Herstellungsmethoden von Graphen an, bevor wir uns Biosensoren mit diesem Material zuwenden.

4.1. Herstellung von Graphen

Eine diagnostische Anwendung von Graphen-basierten Biosensoren setzt ein Verfahren voraus, mit dem sich qualitativ hochwertiges Graphen reproduzierbar und in großen Mengen herstellen lässt, sodass es im industriellen Maßstab in Sensoreinheiten integriert werden kann. Die Forschung zur Herstellung und Verarbeitung von Graphen ist außerordentlich rege, aber unser Überblick über die wichtigsten Methoden wird zeigen, dass noch nicht alle Aufgaben gelöst sind.

Grundsätzlich gibt es vier Methoden zur Erzeugung von Graphen.^[201] Im ersten Fall wird Graphen (mikro)mechanisch von Graphit abgespalten oder abgeschält. Fragmente eines hochwertigen Graphits (z.B. HOPG) werden wiederholt mit einem Klebeband abgezogen, bis man schließlich einige Graphenmonoschichten erhält.^[83] Mit dieser Methode werden zurzeit die qualitativ besten, am wenigsten modifizierten Formen von Graphen erhalten. Sie kann verfeinert werden, indem eine Polymerhülle auf das Substrat aufgetragen wird, um den Kontrast und die Adhäsion der Graphenlagen zu verbessern^[123] und größere Graphenfragmente zu erzeugen. (Mittlerweile sind millimetergroße Stücke möglich.^[96]) Die Monoschichten können aber mit vielen anderen Kohlenstofffragmenten, die aus zwei, drei, Dutzenden oder sogar Hunderten Schichten bestehen, vermischt sein, und die Schwierigkeit besteht darin, Graphenfragmente mit der gewünschten Schichtenzahl und Größe zu identifizieren. Mit viel Geduld kann man mit diesem Verfahren hochwertiges Graphen für die wissenschaftliche Forschung erhalten, allerdings wird es wohl nie zu einem hohen Durchsatz und großen Mengen reichen.

Die meisten der besser skalierbaren Methoden zur Graphenerzeugung beinhalten nasschemische Schritte. Wie Park und Ruoff in einer aktuellen Übersicht darlegen, beruht ein solches Verfahren hauptsächlich auf dem Abschälen von Graphit, das unter stark sauren Bedingungen in Graphenoxid umgewandelt wird (Abbildung 11 a, Methode I).^[202] Durch den Oxidationsprozess entstehen auf den Graphenoberflächen viele sauerstoffhaltige funktionelle Gruppen, z.B. Carboxy-, Epoxy- und Hydroxygruppen. Diese polaren Gruppen, von denen einige ionisierbar sind, machen das Graphenoxid extrem hydrophil, sodass die einzelnen Graphenschichten in Wasser oder polaren organischen Lösungsmitteln dispergiert werden können. Zwar sind mit Graphenoxid viele Verarbeitungsmethoden wie Schleuderguss und Tauchbeschichtung möglich, durch die funktionellen Gruppen gehen aber die einzigartigen Eigenschaften des Graphens verloren. Graphenoxid ist ein elektrischer Isolator, dessen Schichtstruktur

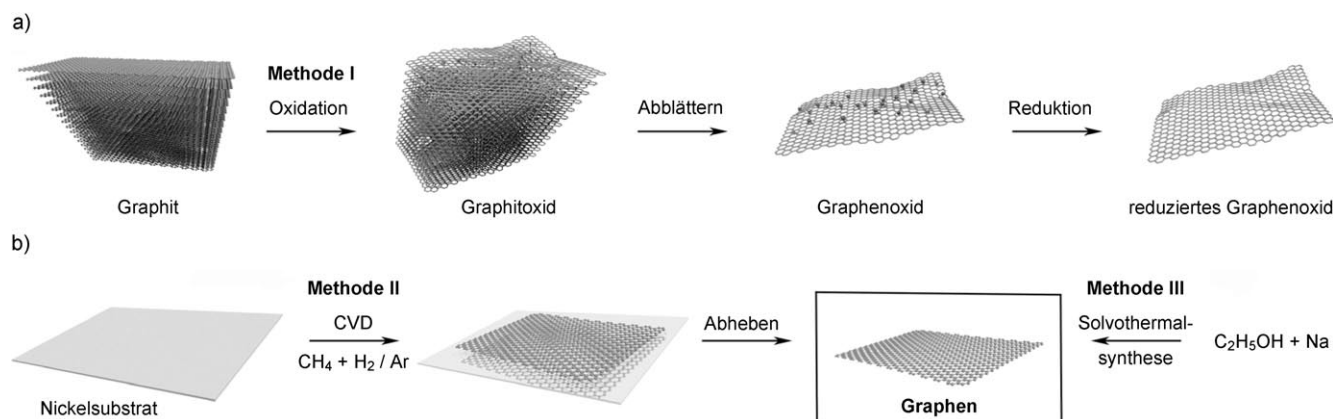


Abbildung 11. Verfahren für die Herstellung von Graphen: a) Oxidation, Abblättern und Reduktion zur Erzeugung einzelner Schichten von reduziertem Graphenoxid aus Graphit (Methode I). b) Chemische Abscheidung aus der Gasphase (CVD, Methode II, links) und Solvothermalsynthese (Methode III, rechts).

durch eine große Zahl von sp^3 -hybridisierten Kohlenstoffatomen verzerrt ist. Um die Struktur und Eigenschaften von Graphen zurückzugewinnen, reduziert man das Graphenoxid deshalb mit einem Reagens wie Hydrazin oder durch das Erhitzen in reduzierender Atmosphäre. Obwohl im reduzierten Graphenoxid die Leitfähigkeit und Planarität von Graphen größtenteils wiederhergestellt sind, enthält es noch immer eine signifikante Menge von Kohlenstoff-Sauerstoff-Bindungen.^[130, 131, 203–205] Dennoch haben sowohl Graphenoxid als auch seine reduzierte Form nützliche Eigenschaften.

Man hat auch versucht, ohne chemische Modifikation auszukommen, z.B. beim Abschälen von Graphitpulver in organischen Lösungsmitteln mit ähnlichen Oberflächenenergien^[206] oder Abschälen von Graphit und Dispergieren der gewonnenen Graphenschichten in Tensidlösungen mithilfe von Intercalation, thermischer Ausdehnung und Reintercalation.^[207]

Thermische Methoden sind zwar teurer als nasschemische Verfahren, sie erfordern aber keine chemische Modifikation des Graphens. Übersichten^[209, 210] beschreiben das epitaktische Aufwachsen von Graphenschichten auf den Basisflächen von einkristallinem Siliciumcarbid, das im Ultrahochvakuum auf über 1200°C erhitzt wird. Beim Verdampfen des Siliciums wachsen Graphenschichten, die allerdings Defekte wie substratinduzierte Wellen, gegeneinander verdrehte Schichten sowie Versetzungsschleifen und Streuzentren enthalten.^[211] Daraus folgt, dass sich epitaktisches^[117, 212] und mechanisch abgeschältes Graphen hinsichtlich ihrer elektronischen Bandstruktur und Eigenschaften so sehr unterscheiden, dass sie eigentlich als zwei verschiedene Materialien zu betrachten sind.^[209] Unter diesem Blickwinkel ist die chemische Abscheidung aus der Gasphase (CVD) die bessere thermische Methode, da sie ein Graphen mit „konventionelleren“ Eigenschaften ergibt.

Aktuelle Arbeiten beschäftigen sich mit der Züchtung zentimetergroßer Graphenfilme, indem Kohlenwasserstoffdampf über ein etwa 1000°C heißes Metallsubstrat (z.B. Ni oder Cu) geleitet wird (Abbildung 11 b, Methode II).^[208, 213, 214] Neben der makroskaligen Ausdehnung des hergestellten Materials besteht ein weiterer Vorteil der CVD-Methode in der Übertragbarkeit der Graphenfilme auf ein anderes Sub-

strat nach dem Auflösen des Metallträgers (Abbildung 12). Andererseits ist es mit dieser Methode sehr schwierig, monodisperse Filme zu erhalten und die Schichtenzahl zu steuern. Eine Lösung dieses Problems ist mit einer Arbeit von Li und Mitarbeitern^[214] aus dem Jahr 2009 näher gerückt ist, die Cu-Substrate für ein selbstbeschränkendes Wachstum von Graphenfilmen nutzten.

Die letzte Herstellungsmethode für Graphen ist die chemische Synthese, bei der man Vorstufenverbindungen durch eine organische Reaktion miteinander kombiniert, sodass molekulare Graphenfragmente entstehen. Die Perspektiven dieses Verfahrens und Einzelheiten typischer Reaktionen wurden in mehreren Übersichten erörtert.^[215–217] Es sei hier nur darauf hingewiesen, dass die Graphenfragmente mit zunehmender Ausdehnung rasch unlöslich werden, sodass die als Endprodukte erhaltenen Graphenstücke kleiner als 5 nm sind.^[217] Ausgedehntere Kohlenstofffilme können durch die kontrollierte Abscheidung von Molekülfeldern mit anschließender Pyrolyse erzeugt werden,^[218] aber eine echte Graphenschicht hat man auf diese Weise bisher nicht erhalten. Eine andere chemische Methode verfolgten Choucair et al.^[219] bei einer Solvothermalreaktion zwischen Natrium und Ethanol mit nachfolgender rascher Pyrolyse, mit der sie Graphenplättchen in Gramm-Mengen herstellen konnten (Abbildung 11 b, Methode III).

Offensichtlich haben alle vier Methoden bestimmte Nachteile, und zurzeit erfüllt keine von ihnen die Voraussetzungen für eine kommerzielle Herstellung von Biosensoren auf Graphenbasis. Auch wird deutlich, dass diese Verfahren unterschiedliche graphenähnliche Materialien ergeben, was die Vielfalt der beim Entwurf von Biosensoren zur Auswahl stehenden Eigenschaften erhöht. Dies könnte aber auch Verwirrung stiften, wenn das betreffende Material in der Literatur nur unzureichend charakterisiert und/oder nicht angemessen – oder ganz einfach falsch – beschrieben wird.

4.2. Graphen in Biosensoren

Es gibt erst relativ wenige Berichte über die Verwendung von Graphen in Biosensoren. Bevor wir uns den Biosensoren

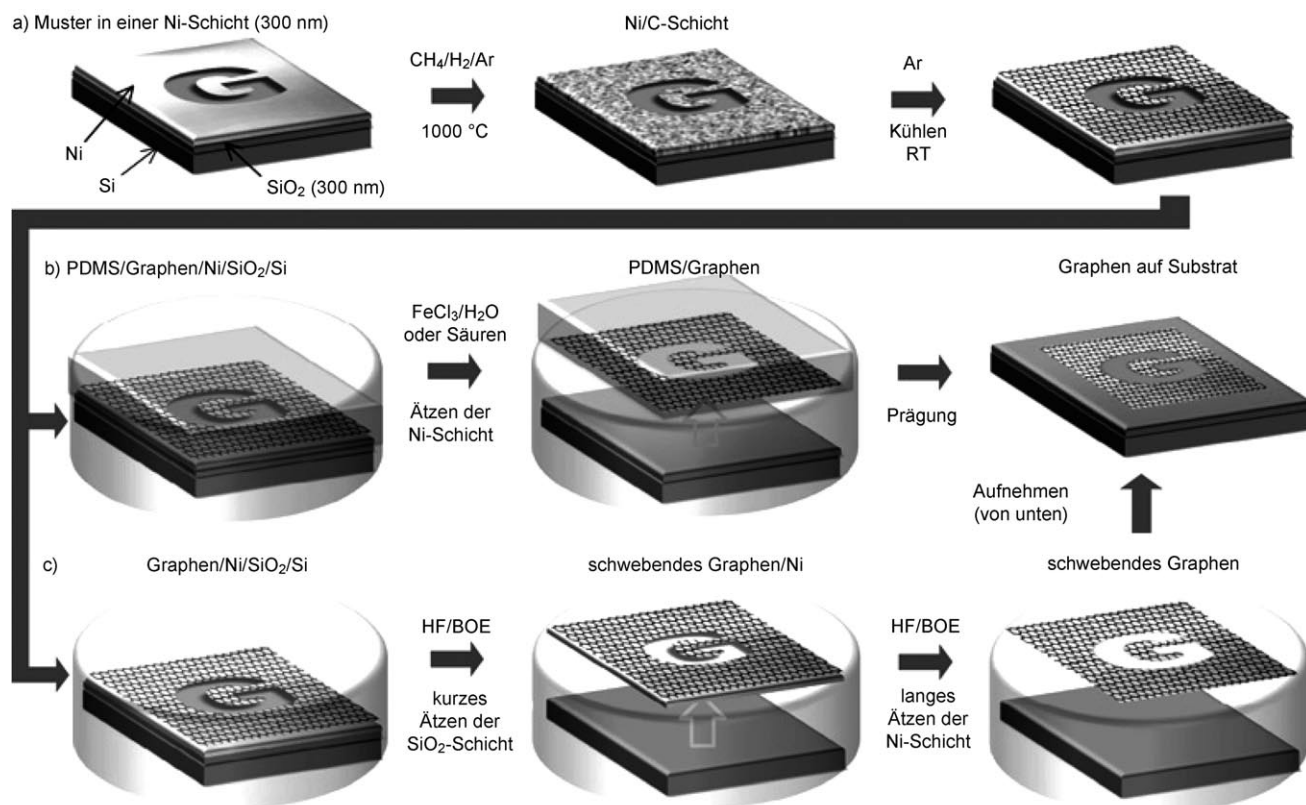


Abbildung 12. a) Die Synthese strukturierter Graphenfilme auf einer dünnen Nickelschicht durch chemische Abscheidung aus der Gasphase. b) Ätzen mit FeCl₃ (oder Säuren) und Transfer des Graphenfilms mit einem Polydimethylsiloxan (PDMS)-Stempel auf ein anderes Substrat. c) Ätzen mit BOE („buffered oxid etchant“) oder HF-Lösung und Transfer der Graphenfilme. (Wiedergabe nach Lit. [208] mit Genehmigung von Macmillan Publishers Ltd., Copyright 2009.)

zuwenden, wollen wir deshalb untersuchen, welche Kenntnisse aus der Anwendung von Graphen in anderen Sensoren bereits vorliegen. Es handelt sich dabei hauptsächlich um Gassensoren (z. B. für H₂O, NO₂, CO und NH₃); dies sind fast immer elektrische Sensoren, welche auf einer Änderung des spezifischen Widerstands innerhalb der Schichten des Graphens oder eines Graphenderivats infolge der Adsorption von Gasmolekülen beruhen.^[134, 220–225] Angesichts der vielfältigen, und unterschiedlich erfolgreichen, Herstellungsmethoden für Graphen (siehe Abschnitt 4.1) überrascht es nicht, dass über die Hälfte dieser Gassensoren kein reines Monoschichtgraphen enthält. Dessen ungeachtet haben mehrere Studien gezeigt, dass Graphen und verwandte Materialien für viele Gase und Dämpfe außerordentlich niedrige Nachweisgrenzen aufweisen. Zum Beispiel konnte ein von Robinson et al.^[221] hergestellter elektrischer Gassensor auf der Basis von reduziertem Graphenoxid giftige Gase in ppb-Konzentrationen detektieren. Seine Leistung war der eines gleichartigen SWNT-basierten Sensors im allgemeinen ebenbürtig oder sogar wesentlich besser. Vergleichsmessungen zeigten, dass das Rauschniveau bei Filmen aus reduziertem Graphenoxid um ein bis zwei Zehnerpotenzen niedriger lag als bei SWNT-basierten Sensoren. Für andere Gassensoren mit einem Detektor aus Graphenoxid wurden ähnliche, obschon etwas geringere Leistungen ermittelt (ppm-Bereich).^[222–224] Qazi et al.^[220] konnten in einer weiteren Studie NO₂-Kon-

zentrationen von nur 60 ppb detektieren, indem sie Veränderungen der Austrittsarbeit an der Oberfläche oder der elektrischen Leitfähigkeit von dünnen Graphitflocken maßen. Die Detektion von einzelnen Molekülen gelang Schedin et al.^[134] schließlich mithilfe optimierter elektrischer Sensoren mit einigen mechanisch abgeschälten Graphenschichten (Abbildung 13). Nachdem sie die Änderung des spezifischen Widerstands ihrer Baueinheit in hochverdünntem NO₂ über mehrere Stunden gemessen hatten, werteten sie die Daten zur Adsorption und Desorption von Gasmolekülen statistisch aus. Sie konnten belegen, dass sich die erhaltenen Adsorptions- und Desorptionspeaks vom Hintergrundrauschen abheben und mit der Ladungsänderung infolge des Verlusts bzw. Gewinns einzelner Elektronen zu erklären sind.

Aus vielen Studien und aus theoretischen Arbeiten^[226–228] lässt sich ableiten, dass ein gewisser Funktionalisierungsgrad die Voraussetzung für solche beeindruckenden Leistungen von Graphen in Gassensoren bildet. Es ist in der Tat so, dass sich die elektrischen Eigenschaften von thermisch gereinigtem Graphen in Gegenwart eines bestimmten Gases gar nicht oder nur wenig verändern.^[225] Wie konnte Schedin et al.^[134] dann mit „reinem“ Graphen die Detektion einzelner Moleküle gelingen? Tatsächlich war die verwendete Baueinheit unbeabsichtigt durch die zurückgebliebene Polymerschicht eines lithographischen Fotolacks „funktionalisiert“, und diese

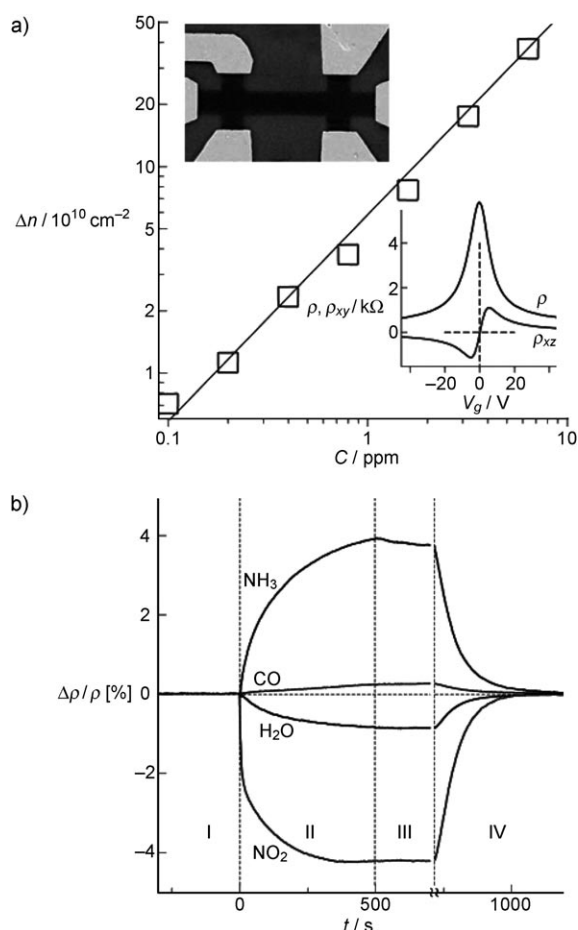


Abbildung 13. a) Die Konzentration (Δn) der chemisch induzierten Ladungsträger in einem Monoschichtgraphen, das verschiedenen NO_2 -Konzentrationen (C) ausgesetzt war. Oberer Einschub: SEM-Mikrograph der Baueinheit; der Hall-Stab ist $1 \mu\text{m}$ breit. Unterer Einschub: Die Änderungen von spezifischem Widerstand ρ und Hall-Widerstand ρ_{xy} mit der Gate-Spannung V_g der Baueinheit illustrieren den ambipolaren Feldeffekt. b) Die Änderung des spezifischen Widerstands von Graphen in Gegenwart einiger Gase bei einer Konzentration von 1 ppm im Trägergas (He oder N_2) und ohne Magnetfeld. (Wiedergabe nach Lit. [134] mit Genehmigung von Macmillan Publishers Ltd., Copyright 2007.)

Schicht half, die Gasmoleküle zu konzentrieren, und erhöhte möglicherweise den Ladungstransfer. Diese Interpretation wird von aktuellen Experimenten gestützt, bei denen die elektrischen Leistungen von Grapheneinheiten als Gassensoren jeweils vor und nach dem Entfernen des Fotolacks miteinander verglichen wurden. Ohne die Polymerschicht war die Empfindlichkeit um ein bis zwei Zehnerpotenzen geringer (je nach dem eingesetzten Gas).^[225] Die Bedeutung von Verunreinigungen und Leerstellen haben auch Ab-initio-Studien zur Gasadsorption auf Graphen bestätigt, die eine stärkere Adsorption auf Atomsubstitutions- und Defektplätzen anzeigten.^[227,228] Die Bedeutung der Funktionalisierung wird auch durch den Erfolg von Gassensoren auf der Basis von reduziertem Graphenoxid belegt. Diese Sensoren sind durch sauerstoffhaltige Reste und Defekte „funktionalisiert“, die bei der Oxidation des Ausgangsmaterials Graphit entstehen, sowie durch die stickstoffhaltigen Gruppen und/

oder Leerstellen, die sich bei der nachfolgenden Reduktion des Graphenoxids bilden. Die Änderung des Reduktionsgrads bewirkt auch ein anderes Sensorverhalten, und die Verunreinigungen und Defekte erscheinen als (hochenergetische) Plätze mit starker Gasadsorption,^[221] was die Modellierung auch bestätigt. Natürlich sind noch detailliertere Experimente nötig, um die relativen Beiträge zur Sensorleistung zu ermitteln, die den Verunreinigungen und Defekten infolge von Oxidation und Reduktion, den entsprechenden Änderungen der elektrischen Leitfähigkeit in der Graphenschicht und den für die Adsorption verfügbaren sp^2 -hybridisierten Zentren mit niedriger Energie zuzurechnen sind. Insgesamt zeigen diese Arbeiten, dass die Leistung einer Baueinheit stark von der Reinheit und Struktur des verwendeten Graphenmaterials abhängt, und deshalb ist ein genaues Verständnis seiner chemischen Eigenschaften so wichtig.

Betrachtet man die graphenbasierten Biosensoren, so fällt auf, dass bisher lediglich ein Sensor tatsächlich reines Graphen enthielt.^[229] In allen anderen Fällen lagen Graphenoxid (oder seine Abkömmlinge),^[100,104,230,231] Mehrschichtgraphen oder verwandte Strukturen vor,^[97,99,103] was die große Bandbreite der eingesetzten graphenartigen Materialien verdeutlicht. Die Arbeit an „modifizierten“ Graphenformen wird auch in der Zukunft fortgeführt werden, weil Abweichungen vom „idealen“ Graphen offenbar ein Maßschneidern der Eigenschaften von Biosensoren ermöglichen könnten. Mit zwei oder mehr Graphenschichten ergeben sich z.B. mehr Möglichkeiten zur Optimierung der elektronischen Eigenschaften. Demgegenüber kann eine Oberflächenfunktionalisierung über kovalente oder physikalische Modifikation die Empfindlichkeit und/oder Selektivität erhöhen und die nichtspezifische Bindung minimieren.

Die meisten einschlägigen Publikationen berichten über die Detektion von Biomolekülen in einer elektrochemischen Reaktion mit unterschiedlichen Graphenarten. Zum Beispiel erzeugten Lu et al.^[97,103] graphitische Elektrodenmaterialien für eine empfindliche Messung der Glukosekonzentration. Die Elektroden waren Nanokompositfilme aus thermisch abgeschälten Graphit-„Nanoplättchen“, die in dem leitenden Polymer Nafion dispergiert waren, ähnlich wie bei analogen Elektroden mit Graphitpulver oder CNTs. In einer H_2O_2 -Lösung wurden an den Nanoplättchen-Nafion-Kompositen signifikante Oxidations- und Reduktionsströme festgestellt, während das elektrochemische Ansprechen einer mit Nafion modifizierten Goldelektrode vernachlässigbar war. Die Graphitnanoplättchen müssen also die Oxidation und Reduktion von H_2O_2 katalysieren und das Überpotential herabsetzen, sodass, anders als mit der Nafion-Gold-Elektrode, Peroxid detektiert werden kann. Bei CNT-Elektroden wurden ähnliche Trends beobachtet.^[232] Durch die Zugabe von Glukose-Oxidase zu den Nanokompositen erhielt man Elektroden, die auf Glukose bis zu dreimal besser ansprachen als die meisten Sensoren mit CNTs.^[97] Die gleiche Gruppe berichtete später über die Abscheidung katalytischer Platin- und Palladiumnanopartikel auf Graphitnanoplättchen. Die Nanopartikel blieben dabei extrem klein, und im Fall von Platin waren sie gleichmäßig verteilt. Kompositelektroden, bestehend aus diesen mit Nanopartikeln dekorierten Nanoplättchen sowie Nafion, hatten ein außerordentlich hohes Oberfläche/Volu-

men-Verhältnis. Bei niedrigen Kosten war ihre Leistung ausgezeichnet, und sie zeigten eine ausgeprägte Abnahme des für die H_2O_2 -Detektion erforderlichen Überpotentials. Ähnliche Konzepte, bei denen Nanoröhren gleichzeitig eine große Oberfläche für das Aufwachsen katalytischer Nanopartikel bieten, wurden für CNTs ausgiebig angewendet.^[157,233]

Einen anderen Ansatz zur Detektion von Glucose verfolgten Shan und Mitarbeiter.^[104] Ihre Elektroden bestanden aus reduziertem Graphenoxid, „geschützt“ durch Polyvinylpyrrolidon, einer mit Polyethylenimin funktionalisierten ionischen Flüssigkeit sowie Glucose-Oxidase. Ein Hauptziel dieser Untersuchung war es, die große Oberfläche und mäßige elektrische Leitfähigkeit von reduziertem Graphenoxid zu nutzen, um einen direkten Elektronentransfer zwischen der Glucose-Oxidase und der Elektrode zu erreichen. Wie bei vielen ähnlichen Studien ist jedoch auch hier fraglich, ob die in elektrochemischen Messungen beobachteten Redoxpeaks von FAD in nativer Konfiguration stammten, das sich tief in der Glucose-Oxidase befindet, oder aber von einer denaturierten Form des Enzyms. Es ist noch ungeklärt, ob und wie das reduzierte Graphenoxid die direkte elektrochemische Kommunikationen zwischen dem redoxaktiven Enzym und der Elektrode vermittelt haben könnte.

Andere Gruppen untersuchten die elektrochemische Detektion wichtiger Neurotransmitter wie Dopamin und Serotonin durch die Kanten von Mehrschichtgraphen-Nanoflocken^[99] oder die Kanten und funktionellen Gruppen von reduziertem Graphenoxid.^[100] Mit Mikrowellenplasma-unterstützter CVD züchteten Shang et al.^[99] im Jahr 2008 ohne Katalysatoren auf Si-Substraten Filme aus mehreren Nanoflocken-Schichten. Die freiliegenden scharfen Kanten dieser Flocken waren in Lösung an Redoxreaktionen beteiligt, was die Detektion redoxaktiver Biomoleküle ermöglichte. Bezüglich dieser elektrochemischen Aktivität sind die freiliegenden Kanten mit Plätzen auf den Kantenflächen von HOPG^[60] oder an den Spitzen von CNTs^[62] vergleichbar. Cyclovoltammetrische Messungen an einer Elektrode aus Graphen-Nanoflocken ergaben eindeutige voltammetrische Peaks für die direkte Oxidation von Dopamin in Lösung. Bei der Analyse anderer Lösungen verursachten die potenziell störenden Verbindungen Ascorbinsäure (Vitamin C) und Harnsäure ebenfalls eindeutige Peaks. Es ist bemerkenswert, dass die Untersuchung einer gemischten Lösung immer noch gut aufgelöste Peaks der drei Verbindungen zeigte. Dopamin lässt sich mit Elektroden auf der Basis von Nanoflocken also eindeutig in Mischungen identifizieren (Abbildung 14). Wird dagegen eine Glaskohlenstoff-Elektrode verwendet, so verursachen die Biomoleküle, ob einzeln oder als Mischung, jeweils ähnlich breite Peaks bei höheren Potentialen. Analoge Effekte waren zuvor in Studien an Elektroden mit eingebauten CNTs gefunden worden.^[234,235] Der wesentliche Leistungsunterschied zwischen den beiden Elektrodenarten ist dem schnelleren Elektronentransfer und der elektrokatalytischen Wirkung geschuldet, die von den Defekten auf den Kanten der Graphen-Nanoflocken hervorgerufen werden.

In einer aktuelleren Studie verglichen Alwarappan et al.^[100] die elektrochemischen Eigenschaften und die Empfindlichkeit von Schichten aus reduziertem Graphenoxid mit den entsprechenden Eigenschaften von SWNTs. Mit der je-

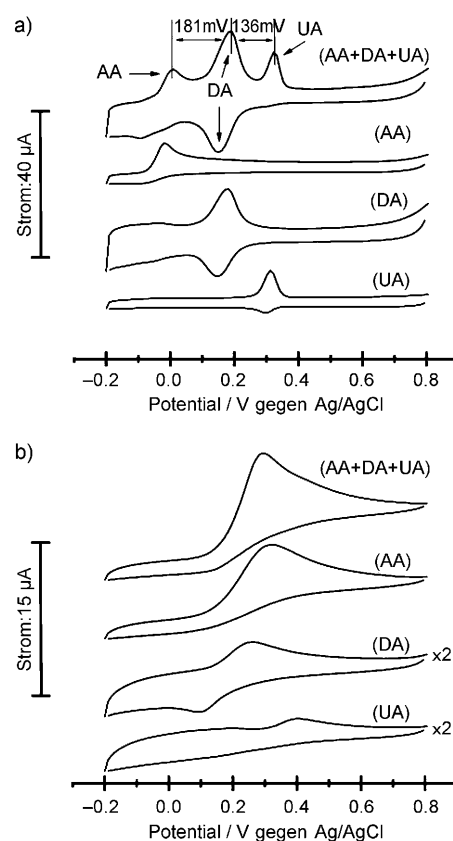


Abbildung 14. Cyclovoltammetrische Messungen an a) einer Nanoflocken-Elektrode und b) an einer Glaskohlenstoff-Elektrode in Lösungen mit 1 mM Ascorbinsäure (AA), 0,1 mM Dopamin (DA) und/oder 0,1 mM Harnsäure (UA). Nach Lit. [99].

weiligen Kohlenstoffstruktur bedeckte Elektroden wurden cyclovoltammetrisch in Dopamin- und Serotoninlösungen vermessen. Für beide Biomolekülararten wurden mit reduziertem Graphenoxid höhere Ströme bei geringeren Potentialen sowie eine höhere Elektrodenstabilität gefunden als mit Nanoröhren. Für eine Lösung aus Dopamin, Serotonin und Ascorbinsäure konnten mit Graphenoxid auch drei getrennte Oxidationspeaks identifiziert werden, wohingegen die SWNT-Elektrode nur einen einzigen breiten Peak ergab. Die höhere Empfindlichkeit und Stabilität sowie das bessere Signal-Rausch-Verhältnis der Graphenoxid-Elektroden scheinen aus einer großen Konzentration von Kanten- und Oberflächendefekten zu folgen, die für elektrochemische Reaktionen zur Verfügung stehen, während es in den SWNTs nur wenige aktive Plätze gibt.

Die ersten elektrischen Biosensoren auf Graphenbasis erzeugten Mohanty und Berry^[230] aus Graphenoxid oder aus Graphenaminen, die durch die Behandlung von Graphenoxid mit stickstoffhaltigen Plasmen oder Ethylendiamin hergestellt worden waren. Aus einer Suspension wurden einige Schichten des Graphenderivats auf einer Siliciumdioxid-Oberfläche mit entgegengesetzter Ladung adsorbiert. Die Schichten werden dadurch elektrostatisch auf dem Siliciumdioxid befestigt, wobei aber große Falten entstehen. Ober- und unterhalb der Flocken befanden sich Goldelektroden für die anschließenden elektrischen Messungen. Diese zeigten

erwartungsgemäß, dass die chemisch modifizierten Graphene p-Halbleiter mit einem hohen Widerstand (im Megaohm-Bereich) und einer extrem geringen Ladungsträgerbeweglichkeit ($0.002\text{--}5.9\text{ cm}^2\text{ V}^{-1}\text{ s}^{-1}$) waren. Mohanty und Berry^[230] nutzten die funktionellen Gruppen auf dem Graphenoxid oder Graphenamin zur Herstellung von Biosensoren. Zum Beispiel verankerten sie Oligonucleotidstränge auf den Graphenderivaten und beobachteten die Fluoreszenz, während mit Rhodamin grün markierte komplementäre Oligonucleotide mit den verankerten Strängen hybridisierten. Elektrische Messungen ergaben, dass die ursprüngliche Verankerung der DNA-Einzelstränge die Leitfähigkeit des Graphenoxids mehr als verdoppelte (Abbildung 15). Das wurde mit einem negativen Gating durch die negativ geladenen Moleküle erklärt, das die Defektelektronendichte erhöht. Die Hybridisierung der DNA erhöht die Leitfähigkeit nochmals, was in den Denaturierungs- und Rehybridisierungszyklen aber vollständig reversibel war. Die gleichen Autoren zeigten experimentell, dass negativ geladene Bakterien auf positiv geladenem Graphenamin elektrostatisch adsorbiert werden, wo sie bis zu 4 h lang lebensfähig bleiben. Die elektrostatische Adsorption eines einzelnen Bakteriums auf der Graphenamineinheit erhöhte die Leitfähigkeit um 42 % und belegte die Empfindlichkeit für einzelne Zellen. Schließlich wurde noch gezeigt, dass die Adsorption von Polyelektrolyt-Molekülen auf modifiziertem Graphen zu polaritätsabhängigen Änderungen der elektrischen Leitfähigkeit führt.

In einer neuen Studie realisierten Ohno et al.^[229] die elektrische Detektion von gelöstem Rinderserumalbumin (BSA) mithilfe eines Graphen-FET mit Elektrolyt-Gate. Der

Sensor wurde aus mechanisch abgeschältem Monoschichtgraphen hergestellt, auf dem lithographisch Metallkontakte angebracht wurden. Der Signalgeber bestand folglich praktisch aus idealem Graphen, wenn man von möglichen Rückständen des Fotolack-Polymers aus der Lithographie absieht. Der Sensor befand sich auf einem Siliciumwafer mit einer SiO_2 -Schicht, und mit einer Elektrolytlösung und darüber liegender Bezugselektrode wurde der Sensor beim Anlegen einer Spannung an das „Bottom-Gate“ (das dotierte Silicium) oder das „Top-Gate“ (die Bezugselektrode) elektrisch leitfähig. Auf diese Weise konnte die Veränderung der Leitfähigkeit der Baueinheit bei unterschiedlichen „Top-Gate“- oder „Bottom-Gate“-Spannungen sowie bei verschiedenen pH-Werten beobachtet werden. Die Lage des Neutralpunkts (des Minimums der Leitfähigkeit, das dem Dirac-Punkt entspricht) verschob sich linear über den untersuchten pH-Bereich von 4.0 nach 8.2. Dieses Ansprechen der elektrischen Eigenschaften des Graphens auf den pH-Wert der Lösung ist mit einer früheren Studie an Baueinheiten mit epitaktischem Graphen konsistent^[98] und zeigt, dass Graphen zum Messen des pH-Werts genutzt werden könnte. Ohno et al.^[229] untersuchten auch, wie ihr Sensor elektrisch auf die Adsorption des BSA-Proteins aus Standardlösungen ansprach. Sie fanden eine schrittweise Änderung der Leitfähigkeit bei fortgesetzter Zugabe einer immer größeren BSA-Menge und konnten auch 0.3 nm des Proteins detektieren. Für künftige Sensoren wird die Funktionalisierung des Graphens notwendig sein, um die Spezifität sicherzustellen und eine nichtspezifische Bindung zu vermindern. Diese Studie bestätigt aber eindrucksvoll die Fähigkeit von reinem Graphen zur Detektion von Biomolekülen, ähnlich wie die bahnbrechende Arbeit von Schedin et al.^[134]

die Fähigkeit des Graphens zur Detektion von Gasmolekülen zeigte.

Schließlich entwickelten Lu et al.^[231] eine optische Methode für die Detektion von DNA-Fragmenten und Proteinen in Lösung, die auf einer Fluoreszenzlöschung infolge der Adsorption von Biomolekülen auf Graphenoxid beruht. Da die Nucleobasen der DNA schwach an Graphenoxid und reduziertes Graphenoxid binden,^[236] spekulierten sie, dass Oligonucleotide mit Fluoreszenzmarkierungen an die Graphenoxid-Flocken binden würden, wobei die Fluoreszenz gelöscht würde.^[231] Diese Vermutung bestätigte sich auch, und 97 % des Fluoreszenzsignals der Einzelstrang-DNA wurden in Gegenwart von Graphenoxid gelöscht. Wie erwartet, resultierte die anschließende Zugabe komplementärer DNA-Stränge in einer Hybridisierung, bei der die markierte DNA auf den Graphenoxid-Oberflächen ersetzt und etwa 77 % des ursprünglichen

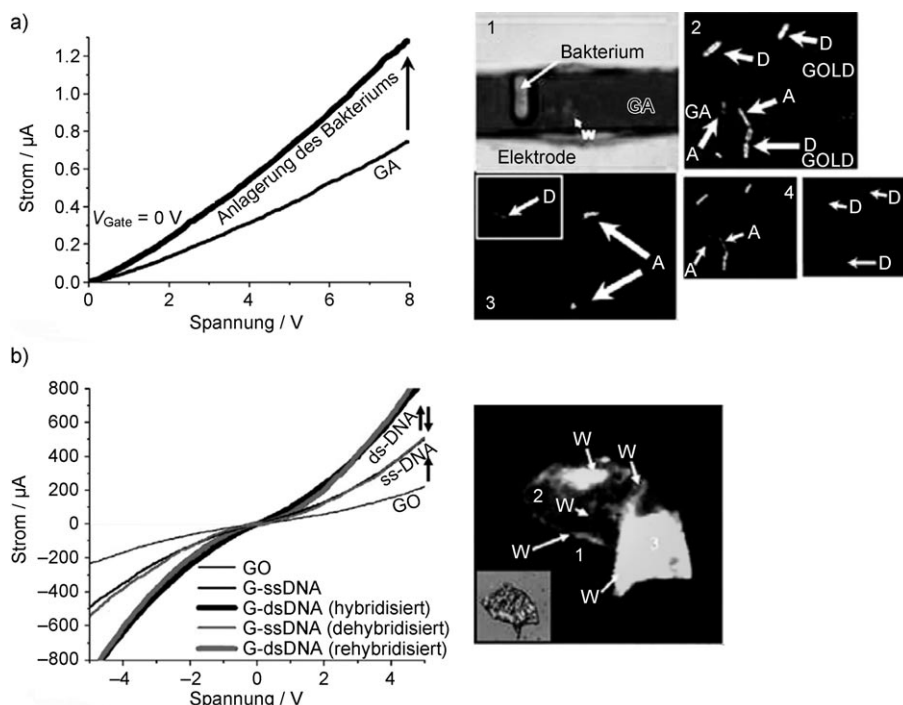


Abbildung 15. Das elektrische Ansprechen von a) Graphenamin, GA, auf ein einzelnes Bakterium (Einschub 1 zeigt die Baueinheit) sowie von b) Graphenoxid, GO, beim Anpfropfen von ss-DNA sowie bei der anschließenden Hybridisierung der DNA mit den Komplementärsträngen (ds-DNA). (Wiedergabe nach Lit. [230] mit Genehmigung der American Chemical Society, Copyright 2008.)

Fluoreszenzsignals wiederhergestellt wurden. Diese Methode ist offensichtlich analog zu dem schon in Abschnitt 3.3 beschriebenen Löschen der Fluoreszenz mit CNTs.

5. Die Kohlenstoffallotrope im Vergleich

Am Beginn dieses Aufsatzes wurden drei wichtige Fragen aufgeworfen, die wir nach der Erörterung des aktuellen Entwicklungsstands bei Biosensoren aus CNTs und Graphen nun beantworten können.

5.1. Welche Vorteile bieten Kohlenstoffnanomaterialien gegenüber makroskopischen Materialien für die Herstellung von Biosensoren?

Die vorausgegangene Diskussion hat deutlich gemacht, dass Kohlenstoffnanomaterialien wesentliche Vorteile für die Konstruktion von Biosensoren bieten. Zwei wichtige Beispiele seien in diesem Zusammenhang genannt. Zum einen haben Kohlenstoffnanomaterialien einzigartige, wenn auch vielleicht noch nicht vollständig verstandene, elektrochemische Eigenschaften. Ein Beispiel ist die Fähigkeit zur Identifizierung und Quantifizierung von Biomolekülen wie Dopamin und Serotonin sowie von Verbindungen wie Ascorbinsäure und Harnsäure in Mischungen, die mit Glaskohlenstoff-Elektroden nicht möglich ist (siehe Abschnitt 4.2).^[99,100,234,235] Die zuletzt genannten Säuren sind starke Antioxidantien, deren Konzentrationen bei vielen Krankheiten spezifisch, aber oft unentdeckt, verändert sind. Dadurch wird der hochempfindliche elektrochemische Nachweis mithilfe der CNT- und Graphenelektroden diagnostisch umso wertvoller. Weitere Vorteile von CNTs für Biosensoren sind ihre Fähigkeit, als wirksame Ion-zu-Elektron-Signalgeber in der potentiometrischen Analyse zu fungieren,^[237,238] und die Tatsache, dass die SWNTs wegen ihrer geringen Größe und hohen Leitfähigkeit auch als Kleinstelektroden genutzt werden können, die etwa so groß sind wie ein einzelnes Biomolekül.^[239] Durch ihre geringen Größen und elektrochemisch aktiven Spitzen ist es auch möglich, SWNTs in größere Biomoleküle „einzustöpseln“ und einen Zugang zu deren inneren Redoxzentren zu finden (siehe Abschnitt 3.1).

Zweitens verfügen Kohlenstoffnanomaterialien über außerordentliche elektrische Eigenschaften. Bei richtiger Herstellung können SWNTs und Graphen einen ballistischen Transport mit extrem hohen Elektronenbeweglichkeiten zeigen, was Möglichkeiten für die Entwicklung von Hochgeschwindigkeitssensoren eröffnet (siehe die Abschnitte 2.1 und 2.2). Darüber hinaus sind in der Struktur dieser beiden Materialien sämtliche Atome auch Oberflächenatome, sodass schon eine geringe Veränderung in der Ladungsumgebung infolge einer Adsorption von Biomolekülen zu einer messbaren Änderung der elektrischen Eigenschaften führt. Es wurde bereits gezeigt, dass CNTs und Graphen (oder verwandte Materialien) einzelne Biomoleküle^[45] und Gasmoleküle^[134] sowie einzelne Zellen^[187,230] detektieren können (siehe die Abschnitte 3.2 und 4.2).

Ein Nachteil von Kohlenstoffnanomaterialien besteht darin, dass sie schwer handhabbar und, wenigstens derzeit noch, von eher uneinheitlichem Charakter sind. Ihre Anwendung in Biosensoren sollte sich deshalb auf Baueinheiten beschränken, in denen ihre Vorteile klar zur Geltung kommen und diese möglichen Nachteile überwiegen.

5.2. Bietet Graphen für die Herstellung von Biosensoren echte Vorteile gegenüber CNTs?

Die Beantwortung dieser Frage ist schwerer, da Graphen ein relativ junges Material ist und es nur wenige direkte Vergleiche der Leistung von CNTs und Graphen in Biosensoren gibt, von denen sicher keiner an vollständig optimierten Systemen durchgeführt wurde. Dessen ungeachtet existieren hinsichtlich einiger Eigenschaften gewichtige Unterschiede, die darauf schließen lassen, dass Graphen für bestimmte Sensoren durchaus besser geeignet sein könnte als CNTs. Dafür existieren zwei Arten von Belegen: Zum einen lassen sich mit Graphen einige Probleme lösen, die die Anwendung von CNTs in Biosensoren erschweren. Durch ihr großes Aspektverhältnis und den in einigen Fällen sehr nützlichen eindimensionalen Charakter der CNTs ist eine kontrollierte Anordnung von Nanoröhren für komplexe Sensoren oder andere Baueinheiten schwierig. Mit den Worten einer Gruppe von Autoren: „Unglücklicherweise erweist sich der Einbau von Nanoröhren in großskalige integrierte elektronische Architekturen als so hochgradig kompliziert, dass er vielleicht niemals realisiert werden kann.“^[209] Dagegen eignet sich Graphen, obwohl die Herstellungsmethoden noch der Verbesserung bedürfen (siehe Abschnitt 4.1), sehr gut für die Mikrofabrikation. Seit der ersten experimentellen Untersuchung von Graphen^[83] werden etablierte Mikrofabrikationsmethoden wie Maskierung, Elektronenstrahlolithographie, Trockenätzen im Sauerstoffplasma und Metallabscheidung angewendet. Man erzeugt Baueinheiten z. B. aus mechanisch abgespaltenem Graphen,^[83] reduziertem Graphenoxid,^[203] epitaktischem Mehrschichtgraphen^[212] und Graphen, das aus der Gasphase abgeschieden wurde.^[208] Song et al. zeigten vor kurzem sogar, dass das Abschälen umgangen werden kann, wenn die Lithographie direkt auf HOPG ausgeführt und das strukturierte Graphen durch Transferdruck auf das gewünschte Substrat übertragen wird.^[240] Ein anderes Problem, das mit Graphen gelöst werden kann, ist die fast unvermeidliche Verunreinigung von CNTs durch Metalle^[58,61] (siehe Abschnitt 2.1), die die Leistung der Nanoröhren in Biosensoren zumindest beeinträchtigt. Mechanisch abgeschältes Graphen und einige Graphenarten, die durch Abscheidung aus der Gasphase erzeugt werden, sind gänzlich frei von solchen katalytischen Verunreinigungen, was das elektrochemische Verhalten des Graphens einfacher verständlich und das Ansprechen des Sensors potenziell besser reproduzierbar macht.

Die zweite Art wahrscheinlicher Vorteile des Graphens gegenüber anderen Sensormaterialien betrifft bestimmte Leistungsaspekte. In Bezug auf FET-Sensoren ist vor allem die Qualität der Kristallstruktur und der Bandstrukturen zu nennen, die ein sehr niedriges Rauschniveau ermöglicht.

Durch die hohe Leitfähigkeit ist das Wärmetauschen im Graphen gering, und da die Struktur nur wenige Defekte enthält, ist auch das $1/f$ -Rauschen schwach.^[134] Das elektrische Rauschen kann weiter vermindert werden, indem man die Zahl an Graphenschichten so anpasst, dass die erhaltene Bandstruktur Potentialveränderungen durch äußere Verunreinigungen besser abschirmt.^[221,241] Die Variation der Schichtenzahl ergibt noch weitere Vorteile, unter anderem kann die Bandlücke von Doppelschichtgraphen^[108] elektrisch maßgeschneidert werden. Das Minimieren von Substrateffekten und die Verbesserung der Qualität der elektrischen Kontakte zum Graphen wären weitere Wege, um durch ein geringeres Rauschen die Empfindlichkeit zu erhöhen.^[242] Besondere Eigenschaften von Graphen sind seine große Flexibilität,^[208] die mechanisch robuste Sensoren ermöglichen sollte, und seine hohe Transparenz.^[207,208] Die Raman- und Infrarotaktivität von Graphen^[84,88] und die Veränderlichkeit dieser Eigenschaften durch Verunreinigungen, Defekte oder Spannungen^[127,128] könnten die Grundlage für eine Vielzahl optischer Biosensoren bilden. Jedoch zeigt Graphen weder so vielfältige optische Reaktionen wie einige der chiralen Formen von CNTs (wie durch Heller et al.^[47] illustriert, siehe Abschnitt 3.3), noch ist seine Struktur so stabil wie diejenige der CNTs, sodass Nanoröhren auf lange Sicht wohl die besseren Kandidaten für optischen Sensoren im Inneren von Zellen sind.

5.3. Welche Erkenntnisse aus der Forschung an CNT-basierten Biosensoren sind für die Entwicklung graphenbasierter Biosensoren relevant?

Eine wichtige Erkenntnis aus der Forschung an CNT-basierten Biosensoren ist, dass die Leistung eines Biosensors von der genauen Struktur und den chemischen Eigenschaften des verwendeten Kohlenstoffnanomaterials abhängt. Die stark voneinander abweichenden Ergebnisse mit CNTs in Sensoranwendungen folgen daraus, dass man viele recht unterschiedliche Materialien als „Kohlenstoffnanoröhren“ bezeichnet. Von den offenkundigen Differenzen zwischen SWNTs und MWNTs einmal abgesehen, unterscheiden sich selbst scheinbar ähnliche Chargen von Nanoröhren im Hinblick auf Länge und Struktur, elektronischen Typ, Verunreinigungen, Modifikation und Agglomerationsgrad. Diese Unterschiede sind der Grund für viele der Abweichungen, und nicht zuletzt haben sie für Verwirrung in der CNT-Literatur gesorgt. In einem vorgegebenem elektrochemischen System erhält man dann mit dem scheinbar immer gleichen Experiment ein ganzes Spektrum unterschiedlicher Ergebnisse (siehe Abschnitt 2.1). Die Schlussfolgerung hieraus ist, dass die Kohlenstoffnanomaterialien exakt charakterisiert und korrekt bezeichnet werden müssen.

Auf Graphen trifft das Gesagte in einem besonderen Maß zu. Die elektrischen und optischen Eigenschaften, selbst von annähernd idealem Graphen, reagieren sehr empfindlich auf viele Einflussfaktoren, zu denen die Schichtenzahl, das Substrat, Verunreinigungen sowie die Besonderheiten ihrer Kanten zählen (siehe Abschnitt 2.2). Dazu kommen noch die strukturellen und chemischen Unterschiede infolge der an-

gewendeten Herstellungsmethode (siehe Abschnitt 4.1), insbesondere bei Graphenoxid und seinen reduzierten Formen, sodass sich letztlich eine riesige Menge möglicher Materialvarianten ergibt. Ähnlich wie bei den CNTs führt das dazu, dass die für „Graphen“ festgestellten Leistungen eine riesigen Bandbreite haben, was wiederum Verwirrung hinsichtlich des verwendeten Materials und seiner Leistung in Biosensoren stiften kann. Zum Teil werden Materialien in der Literatur relativ unkritisch als „Graphen“ bezeichnet, obwohl es sich tatsächlich um etwas anderes, in manchen Fällen sogar um Graphit, handelt. Dringend sollte deshalb eine allgemein anerkannte und exakte Terminologie für die unterschiedlichen Graphenformen entwickelt werden. Wir sind der Meinung, dass Autoren mindestens 1) den Ursprung ihres Materials und 2) die Schichtenzahl angeben sollten – zum Beispiel Monoschichtgraphen, Doppelschichtgraphenoxid, einige Schichten chemisch reduzierten Graphenoxids und so weiter –, aber natürlich ist eine noch bessere und noch systematischere Terminologie denkbar.

6. Zusammenfassung und Ausblick

Dieser Aufsatz galt nicht der gesamten Literatur über Kohlenstoffnanomaterialien, ihrem vielfältigen Charakter, ihren Eigenschaften und ihren Anwendungen in Grundlagenforschung und angewandter Forschung, sondern wir haben uns ausschließlich auf ihr Potenzial als effektive Biosensoren konzentriert. Außerdem beschränkten wir uns auf Arbeiten, die ein echtes Potenzial für künftige Anwendungen erkennen lassen. Eine Suche nach „Kohlenstoffnanoröhren und Biosensoren“ in der biomedizinischen Datenbank PubMed ergibt 418 Originalbeiträge und 36 Übersichten seit 2002, während die analoge Suche nach „Graphen und Biosensoren“ nur 7 Originalbeiträge und keine Übersicht hervorbringt. Letzteres illustriert das frühe Stadium, in dem sich das betreffende Forschungsgebiet noch befindet, und der vorliegende Aufsatz kommt so gesehen zu einem günstigen Zeitpunkt. Zum Schluss gehen wir auf wichtige Probleme ein, die es bei der Entwicklung von Biosensoren aus CNTs oder Graphen noch zu lösen gilt und präsentieren einige Perspektiven auf diesem umfangreichen Forschungsgebiet.

Obwohl die beiden hier behandelten Materialien aussichtsreich sind, bleiben noch einige entscheidende Aufgaben zu lösen. Für die Anwendung von SWNTs ist die Uneinheitlichkeit des Materials vermutlich das größte Hindernis. Zwar sind zahlreiche Methoden zur Trennung von halbleitenden und metallischen Röhren aus den synthetisierten Proben bekannt,^[48,145,243–245] solche Trennprozesse im Anschluss an die Synthese sind aber oft langwierig, und eine Kontaminierung, oder sogar ein Abbau, der Nanoröhren kann nicht ausgeschlossen werden. Eine alternative Methode ist die Manipulation der elektronischen Eigenschaften von SWNTs durch kovalente chemische Funktionalisierung,^[246] obwohl dabei wegen der Einführung von sp^3 -hybridisierten Kohlenstoffatomen die π -Bindung unterbrochen wird.^[247] Wie wir in Abschnitt 4.1. dargestellt haben, ist die Etablierung einer verlässlichen Herstellungsmethode für Graphen ebenfalls noch eine große Herausforderung. Eine Massenproduktion

von Sensoren, die einheitlich und reproduzierbar sind, liegt bei beiden Materialarten noch in der Ferne.

Aus dem zweidimensionalen Aufbau des Graphens ergeben sich weitere Probleme, und diese betreffen z. B. das Abtrennen der Graphenschichten vom Graphit sowie das Separieren abgetrennter Schichten, die Kontrolle der Schichtenzahl, die Minimierung des Faltens und Abkantens der Schichten bei der Verarbeitung sowie das Beschränken von Substrateffekten, die durch die Neigung des Graphens zur starken Wechselwirkung mit vielen Substraten noch verstärkt werden.^[213] Die Kontaminierung der Oberfläche stellt ein besonderes Problem dar. Graphen ist stark lipophil (oder hydrophob), sodass die Adsorption von Verbindungen wie Kohlenwasserstoffen auf der großen lateralen Oberfläche unvermeidlich ist.^[91,92,248,249] Einige Verarbeitungsmethoden führen noch mehr unerwünschte Adsorbate ein; beispielsweise sind die bei der Lithographie und Mikrofabrikation von Graphen verwendeten Fotolacke nur schwer entfernbar.^[248] Ebenso hinterlassen die beim Abschälen und beim Gießen von Graphenfilmen eingesetzten Lösungsmittel oft beträchtliche Rückstände.^[206] Diese lassen sich zwar durch Glühen bei moderaten Temperaturen im Vakuum oder unter reduzierender Atmosphäre entfernen, die eigentliche Herausforderung besteht aber darin, die Ablagerung unerwünschter Adsorbate während des Betriebs zu vermeiden, die die Eigenschaften des Graphens und somit dessen Ansprechverhalten im Biosensor verändern würden.

Neue Entwicklungen bei Synthese und Reinigung versprechen eine Erweiterung unserer Kenntnisse über CNTs, und letztendlich die Herstellung eines einheitlicheren Materials, das für Biosensoren besser geeignet ist. Ähnliches gilt auch für die Forschung zur Synthese, Reinigung, Modifizierung und Biofunktionalisierung von Graphen, wie eine neue Übersicht von Geim zeigt.^[96] So kann man durch die kontrollierte Mikrowellenbehandlung von CNTs über 90 % eines vorhandenen Eisenkatalysators entfernen,^[250] aber das verbleibende Eisen beeinflusst die elektrochemischen Eigenschaften der CNTs stark. Methoden zur Trennung der verschiedenen chiralen, und unterschiedlich leitfähigen, CNT-Formen werden ebenfalls untersucht. Diese Forschung baut auf Berichten auf, wonach sich aromatische Polymere (auf Polyfluorenbasis) selektiv sowohl um die CNTs mit großen Durchmessern als auch um die chirale (6,5)-Form der CNTs wickeln.^[251]

Einige aktuelle Berichte beziehen sich zwar nicht direkt auf Biosensoren, weisen aber mit Erkenntnissen zum Entwurf von Sensoreinheiten der weiteren Entwicklung von Biosensoren mit Kohlenstoffnanomaterialien den Weg. So berichteten Gheith et al.^[252] über die Stimulierung von Nervenzellen durch laterale Ströme in hochleitfähigen SWNT-Mehrschichteinheiten. Es sind also biomedizinische Einheiten denkbar, mit denen man einzelne elektrisch anregbare Zellen (wie Muskel- oder endokrine Zellen) untersuchen könnte. So eine Einheit könnte in Wirkstoffstudien als ein „pharmakologischer Sensor“ auf molekularer Ebene wirken. Fadel et al.^[253] nutzten die große Oberfläche von SWNTs, um T-Lymphozyten einer hohen lokalen Konzentration von Anti-CD3 (primäre Antikörper gegen den T-Lymphozyt-Zellrezeptor) auszusetzen und so eine gesteigerte Immunreaktion

der T-Zelle auszulösen. Abgesehen von der direkten Bedeutung für mögliche medizinische Anordnungen – hohe Konzentrationen von Proteinstimuli sind z. B. notwendig, um eine effektive immunvermittelte zelluläre Reaktion auf Krebs zu induzieren – liegt hier auch ein indirekter „systemischer Biosensor“ vor, der eines Tages die Beobachtung der Immunreaktion geschwächter Patienten ermöglichen könnte.

Noch einen Schritt weiter gingen Forscher, die SWNTs mit Krebsantikörpern funktionalisierten, um Tumorzellen durch eine thermische Ablation unschädlich zu machen.^[254] Dabei heizen sich die SWNTs durch Absorption von NIR-Licht auf, das Gewebe relativ gut durchdringen kann. Dies verspricht auch die Möglichkeit einer selektiven Hyperthermie-Behandlung, weil die mit Antikörpern funktionalisierten SWNTs nur Krebszellen angreifen und durch lokales Erhitzen infolge der NIR-Anregung abtöten. Eine weitere Möglichkeit für Biosensoren ist das Anhängen von MWNTs an die Sonde eines Rasterkraftmikroskops (AFM), was den Transport von molekularem „Frachtgut“ durch eine von AFM-Sonden vermittelte Nanoinjektion in das Zellinnere möglich macht.^[255] Durch die Markierung solcher Nanoröhrensonden mit Antikörpern könnten bestimmte Zellarten (z. B. maligne oder differenzierte Zellen) in einer besseren Auflösung als mit laseroptischen Techniken erkannt und analysiert werden, und ein Mikroarray von AFM-Sonden mit unterschiedlichen Antikörpern würde ein „Multiplex“-Verfahren ermöglichen („Fischen nach Molekülen“).

Die Vorteile der Kohlenstoffnanomaterialien für die Detektion von Biomolekülen und ihre Bedeutung für die klinische Labortechnik sind offenkundig. Da kohlenstoffbasierte Sensoren in der Herstellung relativ billig sowie leicht und kompakt sind, erwarten wir die kommerzielle Nutzung einer „kompakten Kohlenstoffchemie“ analog zur „Trockenchemie“ der letzten Jahren im Bereich der medizinischen Pathologie. Die Miniaturisierung und Herstellung kompakter Biosensoren als diagnostische Einheiten mit ihren vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten wird intensiv erforscht. Beispiele dafür sind robuste diagnostische Notfalleinheiten für den Einsatz in abgelegenen, weit von medizinischen Einrichtungen entfernten Gebieten; preisgünstige Sensoren für die Detektion von Umweltschadstoffen, beispielsweise in Wasserläufen; die Überwachung des Gesundheitszustands in der Raumfahrt; der Schutz vor Bioterrorismus durch die schnelle Detektion von Viren und Bakterien in gefährdeten Gebäuden mithilfe einer Vielzahl unauffälliger Detektoren; die Selbstüberwachung von biologischen Implantaten und die Ausrüstung von Militärpersonal mit integrierten Detektionseinheiten für biologische oder chemische Kampfmittel. Biosensoren dienen in diesen und weiteren Anwendungen dem Schutz des Lebens, der Gesundheit und der Umwelt. Aufgrund seiner vielen einzigartigen Eigenschaften, und weil seine zweidimensionale Struktur mithilfe von etablierten Mikrofabrikationstechniken und großflächiger Biofunktionalisierung aufgebaut und modifiziert werden kann, spielt Graphen als Material für die Biosensoren der Zukunft eine wichtige Rolle. Es sind aber noch beträchtliche Forschungsarbeiten erforderlich, um die Biokompatibilität von Kohlenstoffnanomaterialien zu beurteilen und zu optimieren und eine mögliche Toxizität sowie langfristige Gesundheitsrisiken abzuschätzen.

Die Autoren danken dem Australian Key Centre for Microscopy and Microanalysis (AKCMM) der Universität Sydney. W.Y. wird unterstützt durch ein University of Sydney Postdoctoral Fellowship (U2158PJ-2007/2010). Diese Arbeit wurde unterstützt durch das Australian Research Council (P.T., J.G. und F.B.) und das ARC/NHMRC FABLS-Forschungsnetzwerk (RN0460002) (W.Y., P.T. und F.B.).

Eingegangen am 26. Juni 2009,
veränderte Fassung am 6. Oktober 2009
Online veröffentlicht am 24. Februar 2010

Übersetzt von Dr. Thomas Gelbrich, Innsbruck

- [1] W. R. Yang, P. Thordarson, J. J. Gooding, S. P. Ringer, F. Braet, *Nanotechnology* **2007**, 18, 412001.
- [2] L. Agui, P. Yanez-Sedeno, J. M. Pingarron, *Anal. Chim. Acta* **2008**, 622, 11.
- [3] M. Pumera, S. Sanchez, I. Ichinose, J. Tang, *Sens. Actuators B* **2007**, 123, 1195.
- [4] D. R. Thévenot, K. Toth, R. A. Durst, G. S. Wilson, *Biosens. Bioelectron.* **2001**, 16, 121.
- [5] P. Bergveld, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **1970**, BME-17, 70.
- [6] Y. Cui, Q. Q. Wei, H. K. Park, C. M. Lieber, *Science* **2001**, 293, 1289.
- [7] J. J. Storhoff, R. Elghanian, R. C. Mucic, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 1959.
- [8] W. R. Yang, J. J. Gooding, Z. C. He, Q. Li, G. N. Chen, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2007**, 7, 712.
- [9] J. J. Gooding, F. Mearns, W. R. Yang, J. Q. Liu, *Electroanalysis* **2003**, 15, 81.
- [10] J. J. Gooding, *Electroanalysis* **2008**, 20, 573.
- [11] A. Heller, *Acc. Chem. Res.* **1990**, 23, 128.
- [12] P. V. Bernhardt, *Aust. J. Chem.* **2006**, 59, 233.
- [13] J. Wang, *Electroanalysis* **2007**, 19, 769.
- [14] F. Patolsky, G. F. Zheng, C. M. Lieber, *Anal. Chem.* **2006**, 78, 4260.
- [15] J. Wang, *Chem. Rev.* **2008**, 108, 814.
- [16] I. Willner, M. Zayats, *Angew. Chem.* **2007**, 119, 6528; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 6408.
- [17] C. Amatore, S. Arbault, M. Guille, F. Lemaître, *Chem. Rev.* **2008**, 108, 2585.
- [18] C. X. Yu, J. Irudayaraj, *Anal. Chem.* **2007**, 79, 572.
- [19] O. A. Sadik, A. O. Aluoch, A. L. Zhou, *Biosens. Bioelectron.* **2009**, 24, 2749.
- [20] M. Stromberg, T. Z. G. de La Torre, J. Goransson, K. Gunnarsson, M. Nilsson, P. Svedlindh, M. Stromme, *Anal. Chem.* **2009**, 81, 3398.
- [21] K. E. Sapsford, T. Pons, I. L. Medintz, H. Mattoussi, *Sensors* **2006**, 6, 925.
- [22] J. M. Pingarron, P. Yanez-Sedeno, A. Gonzalez-Cortes, *Electrochim. Acta* **2008**, 53, 5848.
- [23] B. He, T. J. Morrow, C. D. Keating, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2008**, 12, 522.
- [24] D. R. Kauffman, A. Star, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, 37, 1197.
- [25] K. Maehashi, K. Matsumoto, *Sensors* **2009**, 9, 5368.
- [26] Rajesh, T. Ahuja, D. Kumar, *Sens. Actuators B* **2009**, 136, 275.
- [27] K. A. Kilian, T. Boecking, J. J. Gooding, *Chem. Commun.* **2009**, 630.
- [28] H. L. Qi, Y. Peng, Q. Gao, C. X. Zhang, *Sensors* **2009**, 9, 674.
- [29] A. K. Sarma, P. Vatsyayan, P. Goswami, S. D. Minter, *Biosens. Bioelectron.* **2009**, 24, 2313.
- [30] P. M. Ajayan, *Chem. Rev.* **1999**, 99, 1787.
- [31] I. Heller, J. Kong, H. A. Heering, K. A. Williams, S. G. Lemay, C. Dekker, *Nano Lett.* **2005**, 5, 137.
- [32] D. Krapf, B. M. Quinn, M. Y. Wu, H. W. Zandbergen, C. Dekker, S. G. Lemay, *Nano Lett.* **2006**, 6, 2531.
- [33] J. J. Gooding, A. Chou, J. Q. Liu, D. Losic, J. G. Shapter, D. B. Hibbert, *Electrochem. Commun.* **2007**, 9, 1677.
- [34] I. Heller, A. M. Janssens, J. Mannik, E. D. Minot, S. G. Lemay, C. Dekker, *Nano Lett.* **2008**, 8, 591.
- [35] D. A. Heller, E. S. Jeng, T. K. Yeung, B. M. Martinez, A. E. Moll, J. B. Gastala, M. S. Strano, *Science* **2006**, 311, 508.
- [36] I. Heller, J. Mannik, S. G. Lemay, C. Dekker, *Nano Lett.* **2009**, 9, 377.
- [37] A. Guiseppi-Elie, C. H. Lei, R. H. Baughman, *Nanotechnology* **2002**, 13, 559.
- [38] J. J. Gooding, R. Wibowo, J. Q. Liu, W. R. Yang, D. Losic, S. Orbons, F. J. Mearns, J. G. Shapter, D. B. Hibbert, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 9006.
- [39] X. Yu, D. Chattopadhyay, I. Galeska, F. Papadimitrakopoulos, J. F. Rusling, *Electrochem. Commun.* **2003**, 5, 408.
- [40] J. Q. Liu, A. Chou, W. Rahmat, M. N. Paddon-Row, J. J. Gooding, *Electroanalysis* **2005**, 17, 38.
- [41] F. Patolsky, Y. Weizmann, I. Willner, *Angew. Chem.* **2004**, 116, 2165; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 2113.
- [42] J. Li, H. T. Ng, A. Cassell, W. Fan, H. Chen, Q. Ye, J. Koehne, J. Han, M. Meyyappan, *Nano Lett.* **2003**, 3, 597.
- [43] J. Koehne, H. Chen, J. Li, A. M. Cassell, Q. Ye, H. T. Ng, J. Han, M. Meyyappan, *Nanotechnology* **2003**, 14, 1239.
- [44] R. J. Chen, S. Bangsaruntip, K. A. Drouvalakis, N. W. S. Kam, M. Shim, Y. M. Li, W. Kim, P. J. Utz, H. J. Dai, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, 100, 4984.
- [45] K. Besteman, J. O. Lee, F. G. M. Wiertz, H. A. Heering, C. Dekker, *Nano Lett.* **2003**, 3, 727.
- [46] B. R. Goldsmith, J. G. Coroneus, V. R. Khalap, A. A. Kane, G. A. Weiss, P. G. Collins, *Science* **2007**, 315, 77.
- [47] D. A. Heller, H. Jin, B. M. Martinez, D. Patel, B. M. Miller, T. K. Yeung, P. V. Jena, C. Hobartner, T. Ha, S. K. Silverman, M. S. Strano, *Nat. Nanotechnol.* **2009**, 4, 114.
- [48] M. C. Hersam, *Nat. Nanotechnol.* **2008**, 3, 387.
- [49] G. G. Wildgoose, C. E. Banks, H. C. Leventis, R. G. Compton, *Microchim. Acta* **2006**, 152, 187.
- [50] J. J. Gooding, *Electrochim. Acta* **2005**, 50, 3049.
- [51] H. J. Dai, *Acc. Chem. Res.* **2002**, 35, 1035.
- [52] L. M. Dai, *Aust. J. Chem.* **2007**, 60, 472.
- [53] T. W. Odom, J. L. Huang, P. Kim, C. M. Lieber, *Nature* **1998**, 391, 62.
- [54] T. W. Odom, J. L. Huang, P. Kim, C. M. Lieber, *J. Phys. Chem. B* **2000**, 104, 2794.
- [55] J. C. Charlier, *Acc. Chem. Res.* **2002**, 35, 1063.
- [56] C. E. Banks, A. Crossley, C. Salter, S. J. Wilkins, R. G. Compton, *Angew. Chem.* **2006**, 118, 2595; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 2533.
- [57] R. L. McCreery, *Chem. Rev.* **2008**, 108, 2646.
- [58] M. Pumera, *Langmuir* **2007**, 23, 6453.
- [59] X. Dai, G. G. Wildgoose, R. G. Compton, *Analyst* **2006**, 131, 901.
- [60] C. E. Banks, T. J. Davies, G. G. Wildgoose, R. G. Compton, *Chem. Commun.* **2005**, 829.
- [61] C. P. Jones, K. Jurkschat, A. Crossley, R. G. Compton, B. L. Riehl, C. E. Banks, *Langmuir* **2007**, 23, 9501.
- [62] A. Chou, T. Böcking, N. K. Singh, J. J. Gooding, *Chem. Commun.* **2005**, 842.
- [63] C. E. Banks, X. B. Ji, A. Crossley, R. G. Compton, *Electroanalysis* **2006**, 18, 2137.
- [64] M. Pumera, *Nanoscale Res. Lett.* **2007**, 2, 87.
- [65] X. B. Ji, C. E. Banks, A. Crossley, R. G. Compton, *ChemPhys-Chem* **2006**, 7, 1337.
- [66] M. Pumera, T. Sasaki, H. Iwai, *Chem. Asian J.* **2008**, 3, 2046.
- [67] K. P. Gong, S. Chakrabarti, L. M. Dai, *Angew. Chem.* **2008**, 120, 5526; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 5446.

- [68] R. R. Moore, C. E. Banks, R. G. Compton, *Anal. Chem.* **2004**, 76, 2677.
- [69] M. Pumera, *Chem. Eur. J.* **2009**, 15, 4970.
- [70] S. M. Huang, Q. R. Cai, J. Y. Chen, Y. Qian, L. J. Zhang, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 2094.
- [71] B. L. Liu, W. C. Ren, L. B. Gao, S. S. Li, S. F. Pei, C. Liu, C. B. Jiang, H. M. Cheng, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 2082.
- [72] S. Niyogi, M. A. Hamon, H. Hu, B. Zhao, P. Bhowmik, R. Sen, M. E. Itkis, R. C. Haddon, *Acc. Chem. Res.* **2002**, 35, 1105.
- [73] A. A. Green, M. C. Hersam, *Nat. Nanotechnol.* **2009**, 4, 64.
- [74] M. J. O'Connell, S. M. Bachilo, C. B. Huffman, V. C. Moore, M. S. Strano, E. H. Haroz, K. L. Rialon, P. J. Boul, W. H. Noon, C. Kittrell, J. P. Ma, R. H. Hauge, R. B. Weisman, R. E. Smalley, *Science* **2002**, 297, 593.
- [75] R. B. Weisman, S. M. Bachilo, *Nano Lett.* **2003**, 3, 1235.
- [76] M. Y. Sfeir, F. Wang, L. M. Huang, C. C. Chuang, J. Hone, S. P. O'Brien, T. F. Heinz, L. E. Brus, *Science* **2004**, 306, 1540.
- [77] D. A. Tsybolski, S. M. Bachilo, R. B. Weisman, *Nano Lett.* **2005**, 5, 975.
- [78] J. C. Meyer, M. Paillet, T. Michel, A. Moreac, A. Neumann, G. S. Duesberg, S. Roth, J. L. Sauvajol, *Phys. Rev. Lett.* **2005**, 95, 217401.
- [79] S. Berciaud, L. Cognet, P. Poulin, R. B. Weisman, B. Lounis, *Nano Lett.* **2007**, 7, 1203.
- [80] L. Cognet, D. A. Tsybolski, J. D. R. Rocha, C. D. Doyle, J. M. Tour, R. B. Weisman, *Science* **2007**, 316, 1465.
- [81] H. Jin, D. A. Heller, J. H. Kim, M. S. Strano, *Nano Lett.* **2008**, 8, 4299.
- [82] A. H. Castro Neto, F. Guinea, N. M. R. Peres, K. S. Novoselov, A. K. Geim, *Rev. Mod. Phys.* **2009**, 81, 109.
- [83] K. S. Novoselov, A. K. Geim, S. V. Morozov, D. Jiang, Y. Zhang, S. V. Dubonos, I. V. Grigorieva, A. A. Firsov, *Science* **2004**, 306, 666.
- [84] A. Gupta, G. Chen, P. Joshi, S. Tadigadapa, P. C. Eklund, *Nano Lett.* **2006**, 6, 2667.
- [85] Z. H. Ni, H. M. Wang, J. Kasim, H. M. Fan, T. Yu, Y. H. Wu, Y. P. Feng, Z. X. Shen, *Nano Lett.* **2007**, 7, 2758.
- [86] H. Hibino, H. Kageshima, F. Maeda, M. Nagase, Y. Kobayashi, H. Yamaguchi, *Phys. Rev. B* **2008**, 77, 075413.
- [87] A. K. Geim, K. S. Novoselov, *Nat. Mater.* **2007**, 6, 183.
- [88] J. W. Jiang, H. Tang, B. S. Wang, Z. B. Su, *Phys. Rev. B* **2008**, 77, 235421.
- [89] K. S. Novoselov, D. Jiang, F. Schedin, T. J. Booth, V. V. Khotkevich, S. V. Morozov, A. K. Geim, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, 102, 10451.
- [90] J. C. Meyer, A. K. Geim, M. I. Katsnelson, K. S. Novoselov, T. J. Booth, S. Roth, *Nature* **2007**, 446, 60.
- [91] M. H. Gass, U. Bangert, A. L. Bleloch, P. Wang, R. R. Nair, A. K. Geim, *Nat. Nanotechnol.* **2008**, 3, 676.
- [92] V. Geringer, M. Liebmann, T. Echtermeyer, S. Runte, M. Schmidt, R. Ruckamp, M. C. Lemme, M. Morgenstern, *Phys. Rev. Lett.* **2009**, 102, 076102.
- [93] A. Fasolino, J. H. Los, M. I. Katsnelson, *Nat. Mater.* **2007**, 6, 858.
- [94] N. M. R. Peres, *J. Phys. Condens. Matter* **2009**, 21, 323201.
- [95] L. M. Malard, M. A. Pimenta, G. Dresselhaus, M. S. Dresselhaus, *Phys. Rep.* **2009**, 473, 51.
- [96] A. K. Geim, *Science* **2009**, 324, 1530.
- [97] J. Lu, L. T. Drzal, R. M. Worden, I. Lee, *Chem. Mater.* **2007**, 19, 6240.
- [98] P. K. Ang, W. Chen, A. T. S. Wee, K. P. Loh, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 14392.
- [99] N. G. Shang, P. Papakonstantinou, M. McMullan, M. Chu, A. Stamboulis, A. Potenza, S. S. Dhesi, H. Marchetto, *Adv. Funct. Mater.* **2008**, 18, 3506.
- [100] S. Alwarappan, A. Erdem, C. Liu, C. Z. Li, *J. Phys. Chem. C* **2009**, 113, 8853.
- [101] F. R. F. Fan, S. Park, Y. W. Zhu, R. S. Ruoff, A. J. Bard, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 937.
- [102] X. Y. Yang, X. Y. Zhang, Z. F. Liu, Y. F. Ma, Y. Huang, Y. Chen, *J. Phys. Chem. C* **2008**, 112, 17554.
- [103] J. Lu, I. Do, L. T. Drzal, R. M. Worden, I. Lee, *ACS Nano* **2008**, 2, 1825.
- [104] C. S. Shan, H. F. Yang, J. F. Song, D. X. Han, A. Ivaska, L. Niu, *Anal. Chem.* **2009**, 81, 2378.
- [105] Y. Wang, Y. M. Li, L. H. Tang, J. Lu, J. H. Li, *Electrochem. Commun.* **2009**, 11, 889.
- [106] K. S. Novoselov, A. K. Geim, S. V. Morozov, D. Jiang, M. I. Katsnelson, I. V. Grigorieva, S. V. Dubonos, A. A. Firsov, *Nature* **2005**, 438, 197.
- [107] K. I. Bolotin, K. J. Sikes, Z. Jiang, M. Klima, G. Fudenberg, J. Hone, P. Kim, H. L. Stormer, *Solid State Commun.* **2008**, 146, 351.
- [108] E. V. Castro, K. S. Novoselov, S. V. Morozov, N. M. R. Peres, J. Dos Santos, J. Nilsson, F. Guinea, A. K. Geim, A. H. Castro Neto, *Phys. Rev. Lett.* **2007**, 99, 216802.
- [109] M. F. Craciun, S. Russo, M. Yamamoto, J. B. Oostinga, A. F. Morpurgo, S. Tarucha, *Nat. Nanotechnol.* **2009**, 4, 383.
- [110] A. Grüneis, C. Attacalite, L. Wirtz, H. Shiozawa, R. Saito, T. Pichler, A. Rubio, *Phys. Rev. B* **2008**, 78, 205425.
- [111] B. Partoens, F. M. Peeters, *Phys. Rev. B* **2006**, 74, 075404.
- [112] E. A. Henriksen, Z. Jiang, L. C. Tung, M. E. Schwartz, M. Takita, Y. J. Wang, P. Kim, H. L. Stormer, *Phys. Rev. Lett.* **2008**, 100, 087403.
- [113] R. S. Deacon, K. C. Chuang, R. J. Nicholas, K. S. Novoselov, A. K. Geim, *Phys. Rev. B* **2007**, 76, 081406.
- [114] Z. Jiang, E. A. Henriksen, L. C. Tung, Y. J. Wang, M. E. Schwartz, M. Y. Han, P. Kim, H. L. Stormer, *Phys. Rev. Lett.* **2007**, 98, 197403.
- [115] M. Orlita, C. Faugeras, G. Martinez, D. K. Maude, M. L. Sadowski, J. M. Schneider, M. Potemski, *J. Phys. Condens. Matter* **2008**, 20, 454223.
- [116] M. Orlita, C. Faugeras, J. M. Schneider, G. Martinez, D. K. Maude, M. Potemski, *Phys. Rev. Lett.* **2009**, 102, 166401.
- [117] P. Plochocka, C. Faugeras, M. Orlita, M. L. Sadowski, G. Martinez, M. Potemski, M. O. Goerbig, J. N. Fuchs, C. Berger, W. A. de Heer, *Phys. Rev. Lett.* **2008**, 100, 087401.
- [118] I. A. Luk'yanchuk, Y. Kopelevich, M. El Marssi, *Physica B* **2009**, 404, 404.
- [119] L. M. Malard, J. Nilsson, D. C. Elias, J. C. Brant, F. Plentz, E. S. Alves, A. H. Castro, M. A. Pimenta, *Phys. Rev. B* **2007**, 76, 201401.
- [120] A. C. Ferrari, J. C. Meyer, V. Scardaci, C. Casiraghi, M. Lazzeri, F. Mauri, S. Piscanec, D. Jiang, K. S. Novoselov, S. Roth, A. K. Geim, *Phys. Rev. Lett.* **2006**, 97, 187401.
- [121] D. Graf, F. Molitor, K. Ensslin, C. Stampfer, A. Jungen, C. Hierold, L. Wirtz, *Nano Lett.* **2007**, 7, 238.
- [122] J. Yan, Y. B. Zhang, P. Kim, A. Pinczuk, *Phys. Rev. Lett.* **2007**, 98, 166802.
- [123] R. R. Nair, P. Blake, A. N. Grigorenko, K. S. Novoselov, T. J. Booth, T. Stauber, N. M. R. Peres, A. K. Geim, *Science* **2008**, 320, 1308.
- [124] K. S. Novoselov, E. McCann, S. V. Morozov, V. I. Fal'ko, M. I. Katsnelson, U. Zeitler, D. Jiang, F. Schedin, A. K. Geim, *Nat. Phys.* **2006**, 2, 177.
- [125] J. H. Chen, C. Jang, S. D. Xiao, M. Ishigami, M. S. Fuhrer, *Nat. Nanotechnol.* **2008**, 3, 206.
- [126] H. Hibino, H. Kageshima, M. Kotsugi, F. Maeda, F. Z. Guo, Y. Watanabe, *Phys. Rev. B* **2009**, 79, 125437.
- [127] Z. H. Ni, W. Chen, X. F. Fan, J. L. Kuo, T. Yu, A. T. S. Wee, Z. X. Shen, *Phys. Rev. B* **2008**, 77, 115416.
- [128] H. M. Wang, Y. H. Wu, Z. H. Ni, Z. X. Shen, *Appl. Phys. Lett.* **2008**, 92, 053504.
- [129] L. Brey, J. J. Palacios, *Phys. Rev. B* **2008**, 77, 041403.

- [130] V. C. Tung, M. J. Allen, Y. Yang, R. B. Kaner, *Nat. Nanotechnol.* **2009**, *4*, 25.
- [131] Z. S. Wu, W. C. Ren, L. B. Gao, J. P. Zhao, Z. P. Chen, B. L. Liu, D. M. Tang, B. Yu, C. B. Jiang, H. M. Cheng, *ACS Nano* **2009**, *3*, 411.
- [132] Z. H. Ni, Y. Y. Wang, T. Yu, Y. M. You, Z. X. Shen, *Phys. Rev. B* **2008**, *77*, 235403.
- [133] M. Moreno-Moreno, A. Castellanos-Gomez, G. Rubio-Bollinger, J. Gomez-Herrero, N. Agrait, *Small* **2009**, *5*, 924.
- [134] F. Schedin, A. K. Geim, S. V. Morozov, E. W. Hill, P. Blake, M. I. Katsnelson, K. S. Novoselov, *Nat. Mater.* **2007**, *6*, 652.
- [135] T. Enoki, Y. Kobayashi, K. Fukui, *Int. Rev. Phys. Chem.* **2007**, *26*, 609.
- [136] V. B. Shenoy, C. D. Reddy, A. Ramasubramaniam, Y. W. Zhang, *Phys. Rev. Lett.* **2008**, *101*, 245501.
- [137] F. R. F. Fan, A. J. Bard, *Science* **1995**, *267*, 871.
- [138] S. M. Nie, S. R. Emery, *Science* **1997**, *275*, 1102.
- [139] H. P. Lu, L. Y. Xun, X. S. Xie, *Science* **1998**, *282*, 1877.
- [140] E. Katz, I. Willner, *ChemPhysChem* **2004**, *5*, 1085.
- [141] I. Dumitrescu, P. R. Unwin, N. R. Wilson, J. V. Macpherson, *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 3598.
- [142] Z. F. Liu, Z. Y. Shen, T. Zhu, S. F. Hou, L. Z. Ying, Z. J. Shi, Z. N. Gu, *Langmuir* **2000**, *16*, 3569.
- [143] A. Chou, P. K. Eggers, M. N. Paddon-Row, J. J. Gooding, *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113*, 3203.
- [144] L. M. Dai, A. W. H. Mau, *Adv. Mater.* **2001**, *13*, 899.
- [145] L. T. Qu, F. Du, L. M. Dai, *Nano Lett.* **2008**, *8*, 2682.
- [146] B. Q. Wei, R. Vajtai, Y. Jung, J. Ward, R. Zhang, G. Ramanath, P. M. Ajayan, *Nature* **2002**, *416*, 495.
- [147] L. M. Dai, A. Patil, X. Y. Gong, Z. X. Guo, L. Q. Liu, Y. Liu, D. B. Zhu, *ChemPhysChem* **2003**, *4*, 1150.
- [148] P. Diao, Z. F. Liu, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 20906.
- [149] J. K. Campbell, L. Sun, R. M. Crooks, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 3779.
- [150] I. Heller, J. Kong, K. A. Williams, C. Dekker, S. G. Lemay, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 7353.
- [151] J. Wang, M. Musameh, Y. H. Lin, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2408.
- [152] M. Musameh, J. Wang, A. Merkoci, Y. H. Lin, *Electrochem. Commun.* **2002**, *4*, 743.
- [153] Q. Wang, H. Tang, Q. J. Me, L. Tan, Y. Y. Zhang, B. Li, S. Z. Yao, *Electrochim. Acta* **2007**, *52*, 6630.
- [154] R. T. Kachooosangi, M. M. Musameh, I. Abu-Yousef, J. M. Yousef, S. M. Kanan, L. Xiao, S. G. Davies, A. Russell, R. G. Compton, *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 435.
- [155] X. Yu, B. Munge, V. Patel, G. Jensen, A. Bhirde, J. D. Gong, S. N. Kim, J. Gillespie, J. S. Gutkind, F. Papadimitrakopoulos, J. F. Rusling, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 11199.
- [156] M. Gao, L. M. Dai, G. G. Wallace, *Electroanalysis* **2003**, *15*, 1089.
- [157] L. T. Qu, L. M. Dai, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 10806.
- [158] L. T. Qu, L. M. Dai, E. Osawa, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 5523.
- [159] J. C. Claussen, A. D. Franklin, A. ul Haque, D. M. Porterfield, T. S. Fisher, *ACS Nano* **2009**, *3*, 37.
- [160] H. Hu, Y. C. Ni, V. Montana, R. C. Haddon, V. Pargura, *Nano Lett.* **2004**, *4*, 507.
- [161] G. G. Wallace, S. E. Moulton, G. M. Clark, *Science* **2009**, *324*, 185.
- [162] E. W. Keefer, B. R. Botterman, M. I. Romero, A. F. Rossi, G. W. Gross, *Nat. Nanotechnol.* **2008**, *3*, 434.
- [163] N. W. S. Kam, E. Jan, N. A. Kotov, *Nano Lett.* **2009**, *9*, 273.
- [164] Y. Q. Lin, N. N. Zhu, P. Yu, L. Su, L. Q. Mao, *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 2067.
- [165] S. K. Smart, A. I. Cassady, G. Q. Lu, D. J. Martin, *Carbon* **2006**, *44*, 1034.
- [166] V. E. Kagan, H. Bayir, A. A. Shvedova, *Nanomedicine* **2005**, *1*, 313.
- [167] M. J. Moghaddam, S. Taylor, M. Gao, S. M. Huang, L. M. Dai, M. J. McCall, *Nano Lett.* **2004**, *4*, 89.
- [168] W. R. Yang, M. Moghaddam, S. Taylor, B. Bojarski, L. Wiczorek, J. Herrmann, M. McCall, *Chem. Phys. Lett.* **2007**, *443*, 169.
- [169] P. G. He, L. M. Dai, *Chem. Commun.* **2004**, 348.
- [170] P. G. He, S. N. Li, L. M. Dai, *Synth. Met.* **2005**, *154*, 17.
- [171] S. M. Shamah, J. M. Healy, S. T. Cload, *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 130.
- [172] G. A. Zelada, J. Riu, A. Düzgün, F. X. Rius, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 7470; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 7334.
- [173] F. Patolsky, B. P. Timko, G. F. Zheng, C. M. Lieber, *MRS Bull.* **2007**, *32*, 142.
- [174] G. F. Zheng, F. Patolsky, Y. Cui, W. U. Wang, C. M. Lieber, *Nat. Biotechnol.* **2005**, *23*, 1294.
- [175] F. Patolsky, G. F. Zheng, O. Hayden, M. Lakadamyali, X. W. Zhuang, C. M. Lieber, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 14017.
- [176] P. G. Collins, A. Zettl, H. Bando, A. Thess, R. E. Smalley, *Science* **1997**, *278*, 100.
- [177] P. G. Collins, K. Bradley, M. Ishigami, A. Zettl, *Science* **2000**, *287*, 1801.
- [178] A. Star, J. C. P. Gabriel, K. Bradley, G. Gruner, *Nano Lett.* **2003**, *3*, 459.
- [179] S. Boussaad, N. J. Tao, R. Zhang, T. Hopson, L. A. Nagahara, *Chem. Commun.* **2003**, 1502.
- [180] A. Star, E. Tu, J. Niemann, J. C. P. Gabriel, C. S. Joiner, C. Valcke, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 921.
- [181] K. Maehashi, T. Katsura, K. Kerman, Y. Takamura, K. Matsumoto, E. Tamiya, *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 782.
- [182] C. C. Cid, J. Riu, A. Maroto, F. X. Rius, *Analyst* **2008**, *133*, 1001.
- [183] E. L. Gui, L. J. Li, K. K. Zhang, Y. P. Xu, X. C. Dong, X. N. Ho, P. S. Lee, J. Kasim, Z. X. Shen, J. A. Rogers, S. G. Mhaisalkar, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 14427.
- [184] K. Bradley, J. C. P. Gabriel, M. Briman, A. Star, G. Gruner, *Phys. Rev. Lett.* **2003**, *91*, 218301.
- [185] M. T. Martinez, Y. C. Tseng, N. Ormategui, I. Loinaz, R. Eritja, J. Bokor, *Nano Lett.* **2009**, *9*, 530.
- [186] P. J. Choi, L. Cai, K. Frieda, S. Xie, *Science* **2008**, *322*, 442.
- [187] H. G. Sudibya, J. M. Ma, X. C. Dong, S. Ng, L. J. Li, X. W. Liu, P. Chen, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 2761; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 2723.
- [188] R. A. Villamizar, A. Maroto, F. X. Rius, I. Inza, M. J. Figueras, *Biosens. Bioelectron.* **2008**, *24*, 279.
- [189] H. M. So, D. W. Park, E. K. Jeon, Y. H. Kim, B. S. Kim, C. K. Lee, S. Y. Choi, S. C. Kim, H. Chang, J. O. Lee, *Small* **2008**, *4*, 197.
- [190] C. W. Wang, C. Y. Pan, H. C. Wu, P. Y. Shih, C. C. Tsai, K. T. Liao, L. L. Lu, W. H. Hsieh, C. D. Chen, Y. T. Chen, *Small* **2007**, *3*, 1350.
- [191] X. J. Zhou, J. M. Moran-Mirabal, H. G. Craighead, P. L. McEuen, *Nat. Nanotechnol.* **2007**, *2*, 185.
- [192] D. X. Cui, B. F. Pan, H. Zhang, F. Gao, R. Wu, J. P. Wang, R. He, T. Asahi, *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 7996.
- [193] M. Engel, J. P. Small, M. Steiner, M. Freitag, A. A. Green, M. C. Hersam, P. Avouris, *ACS Nano* **2008**, *2*, 2445.
- [194] P. Avouris, M. Freitag, V. Perebeinos, *Nat. Photonics* **2008**, *2*, 341.
- [195] P. Avouris, M. Freitag, V. Perebeinos, *Carbon Nanotubes* **2008**, *111*, 423.
- [196] R. H. Yang, Z. W. Tang, J. L. Yan, H. Z. Kang, Y. M. Kim, Z. Zhu, W. H. Tan, *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 7408.
- [197] B. C. Satishkumar, L. O. Brown, Y. Gao, C. C. Wang, H. L. Wang, S. K. Doorn, *Nat. Nanotechnol.* **2007**, *2*, 560.

- [198] X. Y. Gao, G. M. Xing, Y. L. Yang, X. L. Shi, R. Liu, W. G. Chu, L. Jing, F. Zhao, C. Ye, H. Yuan, X. H. Fang, C. Wang, Y. L. Zhao, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 9190.
- [199] E. S. Jeng, P. W. Barone, J. D. Nelson, M. S. Strano, *Small* **2007**, *3*, 1602.
- [200] E. S. Jeng, A. E. Moll, A. C. Roy, J. B. Gastala, M. S. Strano, *Nano Lett.* **2006**, *6*, 371.
- [201] D. Li, R. B. Kaner, *Science* **2008**, *320*, 1170.
- [202] S. Park, R. S. Ruoff, *Nat. Nanotechnol.* **2009**, *4*, 217.
- [203] C. Gomez-Navarro, R. T. Weitz, A. M. Bittner, M. Scolari, A. Mews, M. Burghard, K. Kern, *Nano Lett.* **2007**, *7*, 3499.
- [204] Z. Q. Wei, D. E. Barlow, P. E. Sheehan, *Nano Lett.* **2008**, *8*, 3141.
- [205] D. Yang, A. Velamakanni, G. Bozoklu, S. Park, M. Stoller, R. D. Piner, S. Stankovich, I. Jung, D. A. Field, C. A. Ventrice, R. S. Ruoff, *Carbon* **2009**, *47*, 145.
- [206] Y. Hernandez, V. Nicolosi, M. Lotya, F. M. Blighe, Z. Y. Sun, S. De, I. T. McGovern, B. Holland, M. Byrne, Y. K. Gun'ko, J. J. Boland, P. Niraj, G. Duesberg, S. Krishnamurthy, R. Goodhue, J. Hutchison, V. Scardaci, A. C. Ferrari, J. N. Coleman, *Nat. Nanotechnol.* **2008**, *3*, 563.
- [207] X. L. Li, G. Y. Zhang, X. D. Bai, X. M. Sun, X. R. Wang, E. Wang, H. J. Dai, *Nat. Nanotechnol.* **2008**, *3*, 538.
- [208] K. S. Kim, Y. Zhao, H. Jang, S. Y. Lee, J. M. Kim, J. H. Ahn, P. Kim, J. Y. Choi, B. H. Hong, *Nature* **2009**, *457*, 706.
- [209] W. A. de Heer, C. Berger, X. S. Wu, P. N. First, E. H. Conrad, X. B. Li, T. B. Li, M. Sprinkle, J. Hass, M. L. Sadowski, M. Potemski, G. Martinez, *Solid State Commun.* **2007**, *143*, 92.
- [210] T. Seyller, A. Bostwick, K. V. Emtsev, K. Horn, L. Ley, J. L. McChesney, T. Ohta, J. D. Riley, E. Rotenberg, F. Speck, *Phys. Status Solidi B* **2008**, *245*, 1436.
- [211] Q. H. Wang, M. C. Hersam, *Nat. Chem.* **2009**, *1*, 206.
- [212] C. Berger, Z. M. Song, T. B. Li, X. B. Li, A. Y. Ogbazghi, R. Feng, Z. T. Dai, A. N. Marchenkov, E. H. Conrad, P. N. First, W. A. de Heer, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 19912.
- [213] A. Reina, X. T. Jia, J. Ho, D. Nezich, H. B. Son, V. Bulovic, M. S. Dresselhaus, J. Kong, *Nano Lett.* **2009**, *9*, 30.
- [214] X. S. Li, W. W. Cai, J. H. An, S. Kim, J. Nah, D. X. Yang, R. Piner, A. Velamakanni, I. Jung, E. Tutuc, S. K. Banerjee, L. Colombo, R. S. Ruoff, *Science* **2009**, *324*, 1312.
- [215] S. Muller, K. Müllen, *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. A* **2007**, *365*, 1453.
- [216] J. Wu, W. Pisula, K. Müllen, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 718.
- [217] L. J. Zhi, K. Müllen, *J. Mater. Chem.* **2008**, *18*, 1472.
- [218] X. Wang, L. J. Zhi, N. Tsao, Z. Tomovic, J. L. Li, K. Müllen, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 3032; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 2990.
- [219] M. Choucair, P. Thordarson, J. A. Stride, *Nat. Nanotechnol.* **2009**, *4*, 30.
- [220] M. Qazi, T. Vogt, G. Koley, *Appl. Phys. Lett.* **2007**, *91*, 233101.
- [221] J. T. Robinson, F. K. Perkins, E. S. Snow, Z. Q. Wei, P. E. Sheehan, *Nano Lett.* **2008**, *8*, 3137.
- [222] R. Arsat, M. Breedon, M. Shafiei, P. G. Spizziri, S. Gilje, R. B. Kaner, K. Kalantar-Zadeh, W. Wlodarski, *Chem. Phys. Lett.* **2009**, *467*, 344.
- [223] J. D. Fowler, M. J. Allen, V. C. Tung, Y. Yang, R. B. Kaner, B. H. Weiller, *ACS Nano* **2009**, *3*, 301.
- [224] G. H. Lu, L. E. Ocola, J. H. Chen, *Appl. Phys. Lett.* **2009**, *94*, 083111.
- [225] Y. P. Dan, Y. Lu, N. J. Kybert, Z. T. Luo, A. T. C. Johnson, *Nano Lett.* **2009**, *9*, 1472.
- [226] O. Leenaerts, B. Partoens, F. M. Peeters, *Phys. Rev. B* **2008**, *77*, 125416.
- [227] Z. M. Ao, J. Yang, S. Li, Q. Jiang, *Chem. Phys. Lett.* **2008**, *461*, 276.
- [228] Y. H. Zhang, Y. B. Chen, K. G. Zhou, C. H. Liu, J. Zeng, H. L. Zhang, Y. Peng, *Nanotechnology* **2009**, *20*.
- [229] Y. Ohno, K. Maehashi, U. Yamashiro, K. Matsumoto, *Nano Lett.* **2009**, *9*, 3318.
- [230] N. Mohanty, V. Berry, *Nano Lett.* **2008**, *8*, 4469.
- [231] C. H. Lu, H. H. Yang, C. L. Zhu, X. Chen, G. N. Chen, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 4879; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 4785.
- [232] A. Salimi, R. G. Compton, R. Hallaj, *Anal. Biochem.* **2004**, *333*, 49.
- [233] B. M. Quinn, C. Dekker, S. G. Lemay, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 6146.
- [234] K. B. Wu, J. J. Fei, S. S. Hu, *Anal. Biochem.* **2003**, *318*, 100.
- [235] M. N. Zhang, K. P. Gong, H. W. Zhang, L. Q. Mao, *Biosens. Bioelectron.* **2005**, *20*, 1270.
- [236] N. Varghese, U. Mogera, A. Govindaraj, A. Das, P. K. Maiti, A. K. Sood, C. N. R. Rao, *ChemPhysChem* **2009**, *10*, 206.
- [237] G. A. Crespo, S. Macho, J. Bobacka, F. X. Rius, *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 676.
- [238] G. A. Crespo, S. Macho, F. X. Rius, *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 1316.
- [239] Z. K. Tang, L. Y. Zhang, N. Wang, X. X. Zhang, G. H. Wen, G. D. Li, J. N. Wang, C. T. Chan, P. Sheng, *Science* **2001**, *292*, 2462.
- [240] L. Song, L. Ci, W. Gao, P. M. Ajayan, *ACS Nano* **2009**, *3*, 1353.
- [241] Y. M. Lin, P. Avouris, *Nano Lett.* **2008**, *8*, 2119.
- [242] Q. H. Shao, G. X. Liu, D. Teweldebrhan, A. A. Balandin, S. Runyantsev, M. S. Shur, D. Yan, *IEEE Electron Device Lett.* **2009**, *30*, 288.
- [243] P. C. Collins, M. S. Arnold, P. Avouris, *Science* **2001**, *292*, 706.
- [244] R. Krupke, F. Hennrich, H. von Lohneysen, M. M. Kappes, *Science* **2003**, *301*, 344.
- [245] M. Zheng, A. Jagota, M. S. Strano, A. P. Santos, P. Barone, S. G. Chou, B. A. Diner, M. S. Dresselhaus, R. S. McLean, G. B. Onoa, G. G. Samsonidze, E. D. Semke, M. Usrey, D. J. Walls, *Science* **2003**, *302*, 1545.
- [246] M. S. Strano, C. A. Dyke, M. L. Usrey, P. W. Barone, M. J. Allen, H. W. Shan, C. Kittrell, R. H. Hauge, J. M. Tour, R. E. Smalley, *Science* **2003**, *301*, 1519.
- [247] M. Kanungo, H. Lu, G. G. Malliaras, G. B. Blanchet, *Science* **2009**, *323*, 234.
- [248] M. Ishigami, J. H. Chen, W. G. Cullen, M. S. Fuhrer, E. D. Williams, *Nano Lett.* **2007**, *7*, 1643.
- [249] U. Stoberl, U. Wurstbauer, W. Wegscheider, D. Weiss, J. Eroms, *Appl. Phys. Lett.* **2008**, *93*, 051906.
- [250] Y. H. Chen, Z. Iqbal, S. Mitra, *Adv. Funct. Mater.* **2007**, *17*, 3946.
- [251] A. Nish, J. Y. Hwang, J. Doig, R. J. Nicholas, *Nat. Nanotechnol.* **2007**, *2*, 640.
- [252] M. K. Gheith, T. C. Pappas, A. V. Liopo, V. A. Sinani, B. S. Shim, M. Motamedi, J. R. Wicksted, N. A. Kotov, *Adv. Mater.* **2006**, *18*, 2975.
- [253] T. R. Fadel, E. R. Steenblock, E. Stern, N. Li, X. Wang, G. L. Haller, L. D. Pfefferle, T. M. Fahmy, *Nano Lett.* **2008**, *8*, 2070.
- [254] P. Chakravarty, R. Marches, N. S. Zimmerman, A. D. E. Swafford, P. Bajaj, I. H. Musselman, P. Pantano, R. K. Draper, E. S. Vitetta, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 8697.
- [255] X. Chen, A. Kis, A. Zettl, C. R. Bertozzi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 8218.