

Herstellung leitfähiger Nanostrukturen durch Oberflächen-Klickreaktion und kontrollierte Metallisierung von DNA

Jan Timper, Katrin Gutsmedl, Christian Wirges, Janine Broda, Michael Noyong, Joachim Mayer, Thomas Carell und Ulrich Simon*

Professor Günter Schmid zum 75. Geburtstag gewidmet

DNA findet aufgrund seiner außergewöhnlichen Selbstorganisationseigenschaften vielfach Verwendung als Templatmolekül zum Aufbau nanoskaliger Strukturen.^[1] Angesichts der intrinsisch schlechten Leitfähigkeit von DNA gibt es derzeit unterschiedliche Ansätze, diese signifikant zu erhöhen, um DNA zum Aufbau elektrischer Schaltkreise verwenden zu können.^[2] Ein vielversprechendes Konzept ist die Abscheidung von Metallen wie Ag,^[3] Pd,^[4] Pt,^[5] Cu^[6] oder Co^[7] auf DNA, um elektrisch leitfähige Strukturen zu erhalten. Die bisher entwickelten Verfahren nutzen hauptsächlich die Reduktion elektrostatisch gebundener Metallionen, die als Gegenionen zum negativ geladenen Phosphatrückgrat der DNA fungieren. So entstehen kleine Metallcluster, die als Nukleationskeime für z. B. eine weitere reduktive Abscheidung von Metall aus Lösung dienen können. Ein selektiverer Metallisierungsprozess wurde durch die Entwicklung von Syntheserouten erreicht, die auf der Abscheidung zweier Metalle,^[8] photoinduzierter Silberabscheidung^[9] oder der Bildung von Pt^{II}-DNA-Addukten als Vorstufe für weitere Metallabscheidung^[10] beruhen.

Kürzlich berichteten wir über die Herstellung dimetallischer Ag/Au-Nanodrähte über eine zweistufige Metallisierung künstlicher DNA-Template.^[11] Zu diesem Zweck wurden Alkin-modifizierte Cytosinderivate in künstliche DNA-Stränge eingebaut. Mittels Klick-Chemie konnten dann azidfunktionalisierte Zuckermoleküle angebunden werden, die als lokalisierte Reduktionsmittel für Ag⁺ in einer Tollens-Reaktion dienten. So entstanden Ag⁰-Nukleationskeime entlang der DNA, an denen in einem weiteren Schritt analog zu einem photographischen Entwicklungsprozess Gold aus Lösung abgeschieden werden konnte. Durch Abbildung im

Rasterkraftmikroskop (AFM) konnte gezeigt werden, dass Nanodrähte mit einem Durchmesser von nur 10 nm erhalten wurden.

Ein tieferes Verständnis des Silbernukleationsprozesses konnte durch Untersuchungen an künstlichen Diol-modifizierten DNA-Strängen erlangt werden.^[12] Die Diolgruppen wurden in Mono- bzw. Dialdehyde gespalten, sodass sich eine dichte homogene Belegung der DNA mit funktionellen Gruppen für die Ag⁺-Reduktion ergab. Die Dialdehyd-DNA (daDNA) zeigte dabei eine höhere Effizienz bei der Silberkeimbildung, sodass für eine anschließende Entwicklung auch eine homogene Goldabscheidung zu vermuten ist.

Der von uns entwickelte Ansatz erlaubt zwar eine programmierte DNA-Metallisierung, allerdings sind die erhaltenen Nanodrähte strukturell sehr empfindlich und zerbrechlich, da eine spezifische Anbindung an ein stabilisierendes Substrat fehlt. Dies ist allerdings eine wichtige Voraussetzung für die zukünftige Integration in elektronische Bauelemente.

Um diesen Nachteil zu überwinden, wird eine neuartige DNA benötigt, die zum einen eine programmierbare Metallisierung erlaubt und gleichzeitig die kovalente Anbindung an technisch relevante Substrate wie Siliciumwafer ermöglicht. Darüber hinaus sollte die DNA intermolekulare Verknüpfungen erlauben, sodass sich Multistränge mit höherer struktureller Stabilität bilden können. Dabei sollte die Möglichkeit zur Integration in programmierbare DNA-Architekturen erhalten bleiben, sodass eine definierte Positionierung und Anbindung komplexer Strukturen auf vorstrukturierten Substraten möglich wird.

In diesem Sinne beschreiben wir hier die Entwicklung eines difunktionellen DNA-Templats bestehend aus einer Immobilisierungs- und einer Metallisierungssequenz. Die Immobilisierungssequenz besteht aus einem 300 Basenpaare (bp) langen alkinfunktionalisierten Abschnitt, der eine kovalente Anbindung an eine azidterminierte Si-Oberfläche mittels Kupfer-katalysierter Alkin-Azid-Cycloaddition (CuAAC) ermöglicht, während die zwei 900 bp langen Metallisierungssequenzen auf dem Diol-Nucleobasen-Ansatz beruhen.^[13] Die Diol-Nucleobasen erfüllen zwei Anforderungen: 1) Sie ermöglichen die Bildung der Ag-Keime als ersten Schritt des zweistufigen Metallisierungsprozesses, und 2) sie ermöglichen die aldehydvermittelte Interstrangverknüpfung, analog der Glutaraldehyd-Protein-Vernetzung.^[14] Wir erwarten, dass diese neuartige DNA die oben formulierten Anforderungen erfüllt und bis zu einer Länge von mehreren μm kontinuierlich metallisierbar ist.

[*] Dipl.-Chem. J. Timper, Dipl.-Chem. J. Broda, Dr. M. Noyong, Prof. Dr. U. Simon
Institut für Anorganische Chemie, RWTH Aachen University
und
JARA – Fundamentals of Future Information Technologies
Landoltweg 1, 52074 Aachen (Deutschland)
E-Mail: ulrich.simon@ac.rwth-aachen.de

Dr. K. Gutsmedl, Dr. C. T. Wirges, Prof. Dr. T. Carell
Department Chemie und Biochemie
Ludwig-Maximilians-Universität
Butenandtstraße 5–13, 81377 München (Deutschland)

Prof. Dr. J. Mayer
Gemeinschaftslabor für Elektronenmikroskopie, RWTH Aachen
Ahornstraße 55, 52074 Aachen (Deutschland)

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201202401> zu finden.

Die difunktionelle DNA wurde durch Polymerasekettenreaktion (PCR) dreier verschiedener Fragmente synthetisiert: 1) einem 900 bp langem PCR-Produkt (PCR900-3, I) mit Diol-dT (Deoxythymine, Nucleosid 3, siehe Hintergrundinformationen) anstelle des natürlichen dT, 2) einem 300 bp langen PCR-Produkt (PCR300-1) mit Alkin-dT (Nucleosid 1, siehe Hintergrundinformationen) anstelle des natürlichen dT und 3) einem 900 bp langen PCR-Produkt II (PCR900-3, II) mit Diol-dT (Nucleosid 3) anstelle des natürlichen dT. Beide Stränge wurden so ausgewählt, dass spezifische Restriktionsstellen für einen BsaI-Restriktionsverdau vorhanden waren, um spezifische Einzelstrangenden (sticky ends) an den PCR-Fragmenten zu erhalten. Die drei PCR-Produkte konnten durch Ligation der Einzelstrangenden selektiv zu einem 2100 bp langen sequenzspezifisch funktionalisierten Alkin-Diol-DNA-Strang (aldoDNA, L1) verknüpft werden (A in Abbildung 1; siehe auch Hintergrundinformationen).

In ersten Tests wurden die Reaktionsbedingungen für die Interstrangverknüpfung mit 2000 bp langer daDNA optimiert, unter der Annahme, dass die Insertion des Immobilisierungsabschnitts die Vernetzungs- und Metallisierungseigenschaften beeinflussen würde.^[12] Wir nutzten die Technik eines zurückweichenden Wassermeniskus, um gestreckte DNA-

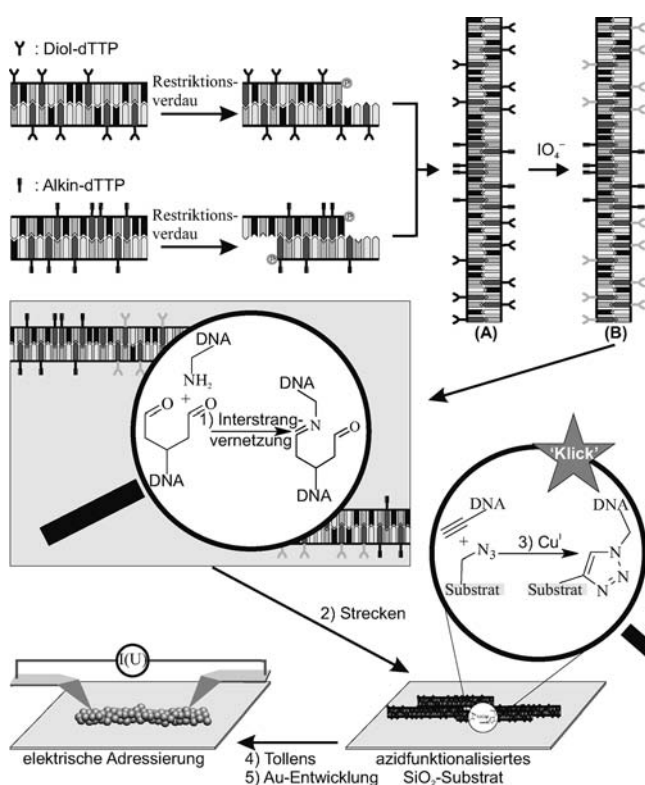


Abbildung 1. Synthese der difunktionellen DNA durch Restriktionsverdau und Ligation dreier PCR-Fragmente zu einer Alkin-Diol-DNA (aldoDNA, A). Anschließend Periodatspaltung ergab die Alkin-Dialdehyd-DNA (aldaDNA, B), die eine zweistufige Metallisierung eingehen kann. Die aldaDNA erfährt dabei eine intermolekulare Vernetzung (1), sodass durch Strecken auf ein azidfunktionisiertes Si-Substrat mikrometerlange DNA-Multistränge entstehen. Diese Stränge wurden mittels Klickreaktion kovalent an die Oberfläche gebunden (3) und anschließend metallisiert (4, 5). So entstanden elektrisch kontaktierbare Nanodrähte. dTTP: Deoxythymintriphosphat.

Strukturen zu erhalten,^[15] die wir im AFM als mikrometerlange Strukturen mit entsprechender Ausrichtung abbilden konnten. Da die verwendete daDNA eine Länge von etwa 600 nm aufweist, zeigt die beobachtete Länge die Bildung von Multistrangaggregaten an, mit Höhenprofilen zwischen 2.5 und 8 nm. Wir vermuten, dass die Interstrangvernetzung aus einer Aldehyd-Amin-Kondensation unter Bildung einer Schiff-Base resultiert. Für diese Strukturen konnten wir die erfolgreiche Metallisierung bereits bestätigen (siehe Hintergrundinformationen).

Im nächsten Schritt optimierten wir die CuAAC-Immobilisierungsreaktion für die aldoDNA. Dafür wurde die DNA in einem ersten Streckvorgang auf den Substratoberflächen abgeschieden. Im AFM zeigten sich 400 nm lange Strukturen, die teilweise zurückgefalteter DNA zugeordnet werden können. In einem zweiten Streckvorgang wurde der Cu^I-Katalysator eingesetzt, um die kovalente Substratanbindung der aldoDNA zu erreichen. Anschließend konnte die DNA auch durch gründliches Spülen nicht mehr entfernt werden, woraus wir auf eine kovalente Anbindung schlossen.

Um den Metallisierungsprozess für die Synthese der leitfähigen Multistrang-DNA-Nanodrähte zu optimieren, untersuchten wir den Metallisierungsprozess zunächst an diesen einzelnen Strängen. Dafür wurde nach Substratanbindung eine Periodatspaltung durchgeführt, um die aldoDNA in Alkin-Dialdehyd-DNA (aldaDNA) zu überführen. Anschließend wurde die Probe 50 s mit Tollens-Reagens und 10 s mit Goldentwicklerlösung behandelt (siehe Hintergrundinformationen). AFM-Untersuchungen der Proben zeigten unförmige Strukturen, aber auch im Vergleich zu den DNA-Strukturen auf 5 bis 9 nm Höhe gewachsene drahtähnliche Strukturen, die eine Metallbeschichtung der DNA nahelegen (siehe Hintergrundinformationen).

Der Präparationsprozess wurde dann auf 40 nm dicke SiO₂-Membranen übertragen, sodass die metallisierten Strukturen mit Rastertransmissionselektronenmikroskopie (STEM) untersucht werden konnten. Am Rand der Membranen konnten die Proben vor und nach Metallisierung außerdem im AFM charakterisiert werden. Es zeigten sich ähnliche strangartige Strukturen, wie zuvor für die Si-Oberflächen beschrieben.

Die STEM-Aufnahmen zeigten drahtähnliche Metallstrukturen, sehr ähnlich denjenigen, die im AFM auf den Si-Oberflächen gefunden wurden. Die Strukturen sind granular, aber zusammenhängend mit etwa 10 nm Durchmesser. Die Granularität resultiert aus dem Wachstum der Silberkeime im Entwicklungsschritt. Dies konnte durch eine Serie von STEM-Aufnahmen zu unterschiedlichen Zeitpunkten in der Goldentwicklung abgebildet werden. Eine statistische Auswertung des Partikelgrößenwachstums zeigte eine Proportionalität des mittleren Partikeldurchmessers zur Quadratwurzel der Entwicklungszeit, sodass über die Entwicklungszeit der Durchmesser der Strukturen eingestellt werden kann (siehe Hintergrundinformationen).

Letztlich kombinierten wir Interstrangverknüpfung und kovalente Immobilisierung durch Strecken der aldaDNA auf azidfunktionisierte Si-Substrate. Es ergaben sich die gewünschten mikrometerlangen Multistränge (Abbildung 2), die durch Cu^I-Katalyse angebunden werden konnten.

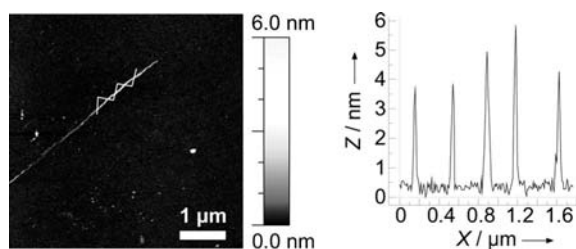


Abbildung 2. AFM-Aufnahme der nach Periodatspaltung auf eine azid-funktionalisierte Oberfläche gestreckten aldaDNA mit dazugehörigem Höhenprofil eines Linescans.

Diese DNA-Template konnten wie oben beschrieben metallisiert werden. Nach 50 s Au-Entwicklungszeit wurden Strukturen erhalten, die stabil genug waren, um mittels unserer In-situ-Kontaktierungsmethode elektrisch charakterisiert zu werden.^[16] Abbildung 3 zeigt drei REM-Aufnahmen eines mikrometerlangen und etwa 80 nm dicken Nanodrahts mit den zwei Messspitzen in unterschiedlichen Positionen (siehe Hintergrundinformationen).

$I(U)$ -Kennlinien wurden für drei Spitzenabstände von 1.15 µm, 1.25 µm und 2.32 µm gemessen und zeigen lineares Verhalten über den gesamten Spannungsbereich von ± 2 V (Abbildung 3). Die linearen $I(U)$ -Kennlinien zeigen metalli-

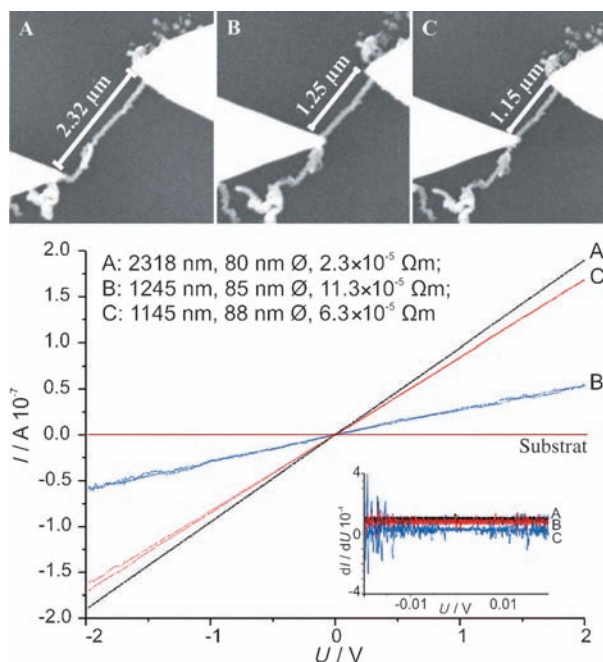


Abbildung 3. Oben: REM-Aufnahmen einer metallisierten DNA mit den leitfähigen AFM-Spitzen in unterschiedlichen Kontaktierungspositionen. Unten: Zugehörige $I(U)$ -Kennlinien, die in situ aufgenommen wurden und eindeutig ohmsche Leitfähigkeit belegen. Der Einschub zeigt die entsprechenden dI/dU -Kennlinien, die eine konstante Leitfähigkeit im Rahmen des Messrauschens belegen. Unterschiede in der Leitfähigkeit können der Qualität der Kontakte zugeordnet werden. Die $I(U)$ -Kennlinien entsprechen den Abbildungen der Messpositionen auf dem Nanodraht. Die Kennlinien zeigen eine eindeutig lineare Charakteristik ohne Hysterese mit Widerständen, die vom Spitzenabstand unabhängig sind.

sches Leitungsverhalten an, wobei die Widerstände zwischen 2.3×10^{-5} und $11.3 \times 10^{-5} \Omega \text{m}$ variieren. Das ist wesentlich niedriger als die Werte für hochkristallines Gold, aber in guter Übereinstimmung mit Werten für polykristalline Goldnanodrähte oder eindimensionale Goldnanopartikelanordnungen. Dies passt zu der granularen Struktur resultierend aus dem Entwicklungsprozess der Nanodrähte. Die unterschiedlichen Widerstände für die drei Messungen an unterschiedlichen Spitzenpositionen können auf unterschiedliche Kontaktflächen zwischen Spitzen und Draht zurückgeführt werden. Dennoch sind die von uns gefundenen spezifischen Widerstände vergleichbar mit anderen in der Literatur beschriebenen Werten.^[17]

Zusammenfassend haben wir eine neuartige difunktionelle DNA entworfen, die mittels Klick-Chemie auf funktionalisierten Substraten kovalent immobilisiert und anschließend durch kontrollierte Metallisierung in elektrisch leitfähige Nanodrähte überführt werden kann. Der Durchmesser der Nanodrähte kann über die Entwicklungsdauer der Metallisierung reguliert werden, sodass kontinuierlich metallisierte Strukturen mit 10 nm Durchmesser und kleiner erhalten werden können. Die Integration von Immobilisierungs- und Metallisierungssequenzen in komplexe DNA-Architekturen, wie z.B. DNA-Origami, bietet einen vielversprechenden Ansatz für den Aufbau von DNA-basierten nanoelektronischen Bauelementen und für die molekulare Lithographie.

Eingegangen am 27. März 2012

Online veröffentlicht am 15. Juni 2012

Stichwörter: DNA · Klick-Chemie · Leitfähigkeit · Nanodrähte · Selbstorganisation

- [1] a) E. Winfree, F. Liu, L. A. Wenzler, N. C. Seeman, *Nature* **1998**, 394, 539–544; b) Y. He, T. Ye, M. Su, C. Zhang, A. E. Ribbe, W. Jiang, C. Mao, *Nature* **2008**, 452, 198–201; c) Y. Weizmann, A. B. Braunschweig, O. I. Wilner, Z. Cheglakov, I. Willner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, 105, 5289–5294.
- [2] X. Guo, A. A. Gorodetsky, J. Hone, J. K. Barton, C. Nuckolls, *Nat. Nanotechnol.* **2008**, 3, 163–167.
- [3] E. Braun, Y. Eichen, U. Sivan, G. Ben-Yoseph, *Nature* **1998**, 391, 775–778.
- [4] J. Richter, R. Seidel, R. Kirsch, M. Mertig, W. Pompe, J. Plachke, H. K. Schackert, *Adv. Mater.* **2000**, 12, 507–510.
- [5] R. Seidel, L. C. Ciacchi, M. Weigel, W. Pompe, M. Mertig, *J. Phys. Chem. B* **2004**, 108, 10801–10811.
- [6] C. F. Monson, A. T. Woolley, *Nano Lett.* **2003**, 3, 359–363.
- [7] Q. Gu, C. Cheng, D. T. Haynie, *Nanotechnology* **2005**, 16, 1358–1363.
- [8] a) K. Keren, R. S. Berman, E. Braun, *Nano Lett.* **2004**, 4, 323–326; K. Keren, M. Krueger, R. Gilad, G. Ben-Yoseph, U. Sivan, E. Braun, *Science* **2002**, 297, 72–75; b) G. A. Burley, J. Gierlich, M. R. Mofid, H. Nir, S. Tal, Y. Eichen, T. Carell, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 1398–1399; c) M. Fischler, U. Simon, H. Nir, Y. Eichen, G. A. Burley, J. Gierlich, P. M. E. Gramlich, T. Carell, *Small* **2007**, 3, 1049–1055.
- [9] L. Berti, A. Alessandrini, P. J. Facci, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 11216–11217.
- [10] M. Mertig, L. C. Ciacchi, R. Seidel, W. Pompe, *Nano Lett.* **2002**, 2, 841–844.
- [11] Lit. [8c].

- [12] C. T. Wirges, J. Timper, M. Fischler, A. S. Sologubenko, J. Mayer, U. Simon, Th. Carell, *Angew. Chem.* **2008**, *121*, 225–225; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *48*, 219–223.
- [13] a) V. V. Tsukruk, I. Luzinov, D. Julthongpiput, *Langmuir* **1999**, *15*, 3029–3032; b) N. Balachander, C. N. Sukenik, *Langmuir* **1990**, *6*, 1621–1627.
- [14] M. Porro, S. Viti, G. Antoni, M. Saletti, *Anal. Biochem.* **1982**, *127*, 316–321.
- [15] a) D. Bensimon, A. J. Simon, V. Croquette, A. Bensimon, *Phys. Rev. Lett.* **1995**, *74*, 4754–4757; b) R. Mehta, M. Rahimi, J. Lund, B. Parviz, *IEEE Trans. Nanotechnol.* **2007**, *6*, 734–736.
- [16] a) M. Noyong, K. Blech, A. Rosenberger, V. Klocke, U. Simon, *Meas. Sci. Technol.* **2007**, *18*, N84–N89; b) K. Blech, M. Noyong, F. Juillerat, T. Nakayama, H. Hofmann, U. Simon, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2008**, *8*, 461–465.
- [17] a) O. Harnack, W. E. Ford, A. Yasuda, J. M. Wessels, *Nano Lett.* **2002**, *2*, 919–923; b) F. Griffin, A. Ongaro, D. Fitzmaurice, *Analyst* **2004**, *129*, 1171–1175.
-