

# Lichtgesteuerter bioelektrochemischer Sensor basierend auf CdSe/ZnS-Quantum Dots

Johannes Tanne, Daniel Schäfer, Waquas Khalid, Wolfgang J. Parak, Fred Lisdat

## Zusammenfassung

Diese Studie beschäftigt sich mit der Untersuchung der Sauerstoffsensitivität von QD-Elektroden auf Basis von CdSe/ZnS-Nanopartikeln. Das Verhalten des sauerstoffabhängigen Photostroms wurde dabei in Abhängigkeit des pH-Wertes und des Potentials untersucht. Auf Grundlage dieser Sauerstoffabhängigkeit wurde die Enzymaktivität von GOD über Photostrommessungen evaluiert. Für die Konstruktion eines photobioelektrochemischen Sensors, der durch Beleuchtung der entsprechenden Elektrodenfläche ausgelesen werden kann, wurden Multischichten auf die CdSe/ZnS-modifizierten Elektroden aufgetragen. Die Layer-by-Layer Deposition von GOD mit Hilfe des Polyelektrolyten PAH zeigte, dass eine Sensorkonstruktion möglich ist. Die Sensoreigenschaften dieser Elektroden werden drastisch durch die Menge an immobilisiertem Enzym auf der Quantum Dot-Schicht beeinflusst. Durch die Präparation von vier Bilayern  $[GOD/PAH]_4$  an CdSe/ZnS Elektroden kann ein schnell ansprechbarer Sensor für Konzentrationen zwischen 0.1 – 5 mM Glukose hergestellt werden. Dies eröffnet neue Möglichkeiten für die Multianalytdetektion mit nichtstrukturierten Sensorelektroden, lokalisierten Enzymen und räumlich aufgelöster Auslesung durch Licht.

## Abstract

This study reports on the oxygen sensitivity of quantum dot electrodes modified with CdSe/ZnS nanocrystals. The photocurrent behaviour is analysed in dependence on pH and applied potential by potentiostatic and potentiodynamic measurements. On the basis of the influence of the oxygen content in solution on the photocurrent generation the enzymatic activity of GOD is evaluated in solution. In order to construct a photobioelectrochemical sensor which can be read out by illuminating the respective electrode area multilayers were build up on the CdSe/ZnS-modified electrodes. The layer-by-layer deposition of GOD by means of the polyelectrolyte PAH show that a sensor construction is possible. The sensing properties of such kind of electrodes are drastically influenced by the amount and density of the enzyme on top of the quantum dot layer. By depositing 4 bilayers  $[GOD/PAH]_4$  on the CdSe/ZnS electrode a fast responding sensor for the concentration range 0.1mM-5mM glucose can be prepared. This opens the door to a multi-analyte detection with a non-structured sensing electrode, localized enzymes and spatial read-out by light.

## 1 Einleitung

Während der letzten Jahre sind Nanostrukturen mehr und mehr in den Mittelpunkt des Interesses für bioanalytische Systeme gerückt (Umar et al. 2009: 278; Lahiff et al. 2010: 1575). Unter den verschiedenen Arten von Nanostrukturen sind insbesondere Nanopartikel interessant, da sie durch ihr Oberflächen/Volumen Verhältnis veränderte chemische und physikalische Eigenschaften im Vergleich zum Vollmaterial besitzen. Bei Verwendung von Metallnanopartikeln und Kohlenstoffnanoröhren sind besonders die hohen elektrokatalytischen Aktivitäten von Vorteil (Shipway et al. 2000: 18; Lohmüller et al. 2011: 1934). Sie werden häufig im

direkten Kontakt mit Enzymen als Erkennungselement in Biosensoren eingesetzt (Xiao et al. 2008: 648). Dadurch kann das Signal für eine sensitive und selektive Substratdetektion verstärkt werden (Zayats et al. 2002: 2120).

Aufgrund ihrer einzigartigen photophysikalischen Eigenschaften wurden Quantum Dots (QDs) darüber hinaus intensiv während der letzten Jahre untersucht. Besonders II-VI-Halbleiter (z. B. CdSe, CdS, HgS, ZnS, ZnSe) sind interessant (Esteves et al. 2002: 347). Die QDs werden häufig mit einem zweiten Halbleitermaterial (z. B. ZnS (Dabbousi et al. 1997: 9463)) beschichtet, um den Kern vor Oxidation oder Bleaching (Ausbleichen der Fluoreszenz) zu schützen. Die Bandlückenenergie

in der Schale ist größer, um die Generation des Excitons (Elektron-Loch-Paar) und die Relaxation des Elektrons auf den Kern zu beschränken und somit die Quantenausbeute zu erhöhen (Hines et al. 1996: 468).

Bei der Beleuchtung von Quantum Dots mit ausreichender Energie wird ein Elektronen-Loch-Paar erzeugt, bei dem das Elektron in das Leitungsband übergeht und im Valenzband ein positives Defektelektron zurücklässt. Die Relaxation der Ladungsträger kann strahlend verlaufen, wobei die abgestrahlte Energie der Bandlückenenergie entspricht. Aufgrund der Quantenbeschränkung steigt die Bandlückenenergie mit sinkendem Durchmesser der QDs (Alvisatos et al. 1996: 933). Aus diesem Grund kann die Wellenlänge des emittierten Lichts durch die Partikelgröße gesteuert werden. Der Größeneffekt, das breite Absorptionsspektrum und der hohe Widerstand gegen chemische und Photodegradation machen sie im Vergleich zu organischen Farbstoffen effizienter für biologisches Labeling (Medinitz et al. 2005: 435). Des Weiteren können die Oberflächenliganden nach der QD-Synthese durch andere Moleküle ausgetauscht werden, um funktionelle Gruppen zu integrieren (Pellegrino et al. 2005: 48). Das ermöglicht eine definierte Einführung von hydrophilen Eigenschaften, die vorteilhaft für das Markieren von Biomolekülen mit QDs ist (Bruchez et al. 1998: 2013). Es konnten Anwendungen für das Immunosensing (Seydack et al. 2005: 2454), Markieren von Nukleinsäuren (Ma et al. 2008: 181), Proteinen (Chan et al. 1998: 2016) und Peptiden (Pinaud et al. 2004: 6115) gezeigt werden. Es war sogar möglich, die Photolumineszenz von QDs in Zellen (Wu et al. 2003: 41), Gewebe und lebenden Organismen ohne Interferenz durch die Autofluoreszenz des Gewebes nachzuweisen (Akerman et al. 2002: 12617).

Neben der Fluoreszenzdetektion können QDs auch für Förster-Resonanz-Energie-Transfer (FRET) Systeme eingesetzt werden, um die Detektion von biomolekularen Interaktionen und Bindungseffekten zu ermöglichen (Ha et al. 2001: 78). Dies konnte sowohl für Proteine (Medinitz et al. 2003: 630) als auch für DNA (Boeneman et al. 2010: 7253) gezeigt werden.

Wegen der Generation von Ladungsträgern können QDs auch für elektrochemische Sensoren eingesetzt werden. Abhängig vom Potential wird ein anodischer oder kathodischer Photostrom generiert. Ersterer wird durch den Elektronentransfer vom Leitungsband der QDs auf die Elektrode erzeugt. Letzterer wird durch den Elektronentransfer von der Elektrode auf das Defektelektron im Valenzband der QDs ausgelöst (Stoll et al. 2006:

741). Es ist auch eine Verstärkung des Photostroms mit redoxaktiven Spezies in Lösung möglich. Zum Beispiel konnten die Reaktionsprodukte der enzymatischen Reaktion von Acetylcholinesterase (Pardo-Yissar et al. 2003: 622) und Mediatoren wie Eisenhexacyanoferrat (Stoll et al. 2006: 741) nachgewiesen werden. Der Photostrom ist des Weiteren durch die Zugabe von Cytochrom c schaltbar (Katz et al. 2006: 1395). Außerdem sind unterschiedliche Enzyme mit QD-modifizierten Elektroden kombiniert worden (Stoll et al. 2008: 260). Nicht für alle Systeme ist ein direkter Elektronentransfer zwischen Protein und QDs notwendig, oft beruhen Systeme auch auf dem Nachweis der Reaktionsprodukte. Ein Beispiel ist NADH, das die Detektion von Dehydrogenase-katalysierten Reaktionen ermöglicht (Schubert et al. 2010: 1395).

Die verschiedenen, genannten Systeme zeigen bereits in reiner Pufferlösung die Generierung eines Photostroms. Zusammen mit dem Sauerstoffeinfluss auf die Photolumineszenz (Van Sark et al. 2001: 8281) kann geschlussfolgert werden, dass  $O_2$  als Elektronenakzeptor während der Beleuchtung agieren könnte. Es wurde bereits gezeigt, dass Enzymaktivierung durch reaktive Sauerstoffspezies möglich ist, wenn CdSe/ZnS-Nanopartikel mit Licht angeregt werden (Ipe et al. 2006: 519).

In dieser Arbeit werden deshalb CdSe/ZnS-Elektroden im Hinblick auf den  $O_2$ -Einfluss analysiert. Basierend auf den Ergebnissen werden  $O_2$ -konsumierende Enzymreaktionen mit QD-Elektroden kombiniert und das System für den sensitiven Substratnachweis eingesetzt. Verschiedene Immobilisierungsstrategien von Glukoseoxidase (GOD) werden untersucht, um eine effiziente  $O_2$ -Umsetzung in den Enzymschichten während der katalytischen Reaktion zu realisieren. Das erlaubt die Konstruktion eines photobioelektrochemischen Sensors, der das Auslesen durch räumlich begrenzte Beleuchtung spezifischer Sensoroberflächen ermöglicht.

## 2 Experimenteller Teil

### Materialien

Argon kommt von Air Liquid (Düsseldorf, Germany). 1,4-Benzendithiol (97 %; BDT) wurde bei Alfa Aesar (Karlsruhe, Germany) bezogen. Di-Natriumhydrogenphosphat (wasserfrei), (N-[2-Hydroxyethyl]piperazin-N'-[2-ethanschwefelsäure]) (99.5 %; HEPES), Citratsäure-Monohydrate, Toluol, Peroxidase aus *Meerrettich* (EC 1.11.1.7, HRP), Glukoseoxidase aus *Asp. niger* (EC

1.1.3.4, GOD) und Poly(allylaminhydrochlorid) wurden von Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany) geliefert. Methanol (99.9 %,  $\leq 50$  ppm  $H_2O$ ),  $\alpha$ -D(+)-Glukose-Monohydrate, Schwefelsäure (96 %); Wasserstoffperoxid (50 %) kamen von Roth (Karlsruhe, Germany). Alle Puffer wurden mit Reinstwasser (Ultra Clear Direct, Siemens Water Technologies) hergestellt.

CdSe/ZnS Nanopartikel wurden nach einem etablierten Protokoll hergestellt (Dabbousi et al. 1997: 9463; Reiss et al. 2002: 781). Die QDs wurden mit Trioctylphosphinoxide (TOPO) ummantelt und in wasserfreiem Toluol gelöst. Die QDs wurden mit einer Konzentration von ungefähr 16  $\mu$ M hergestellt und besaßen einen mittleren Durchmesser von ca. 2.5 nm.

### 3 Ergebnisse und Diskussion

#### Untersuchung der $O_2$ -Abhängigkeit des Photostroms

Wie bereits erwähnt, ist die Photolumineszenz von CdSe/ZnS-Nanopartikeln abhängig von der Sauerstoffkonzentration (Sun et al. 2009: 347). Das gibt Anlass für die nähere Untersuchung des Sauerstoffeinflusses auf den Photostrom von CdSe/ZnS-modifizierten Elektroden. Die QDs sind mit Benzendithiol funktionalisiert und auf Goldelektroden immobilisiert. Der kathodische Photostrom der QD-Elektroden wird in luftgesättigtem und Argon gespültem Puffer gemessen. Abbildung 1A zeigt ein Linear sweep-Voltammogramm der Elektroden unter Argon und Luft. Während der Beleuchtung wird ein Photostrom generiert, der abhängig vom angelegten Potential ist. In beiden Pufferlösungen ist die Generierung eines Photostroms möglich, wobei der Photostrom in sauerstofffreier Lösung deutlich geringer ausfällt. Das weist darauf hin, dass Sauerstoff durch die erzeugten freien Elektronen während der Beleuchtung der Nanokristalle reduziert werden kann. Der sauerstoffabhängige Teil des Photostroms wird aus der Differenz der Photoströme beider Lösungen berechnet und ist in Abbildung 1C gezeigt. Es ist ersichtlich, dass nicht nur der absolute kathodische Photostrom, sondern auch der sauerstoffabhängige Teil mit sinkendem Potential steigt. Abbildung 1B illustriert schematisch die Schritte des Elektronentransfers während der Beleuchtung der QD-Elektroden. Elektronen vom Leitungsband der QDs können den in Puffer gelösten Sauerstoff reduzieren. Das »Loch« im Valenzband der QDs kann durch einen Elektronentransfer von der Elektrode auf die QDs neutralisiert werden.

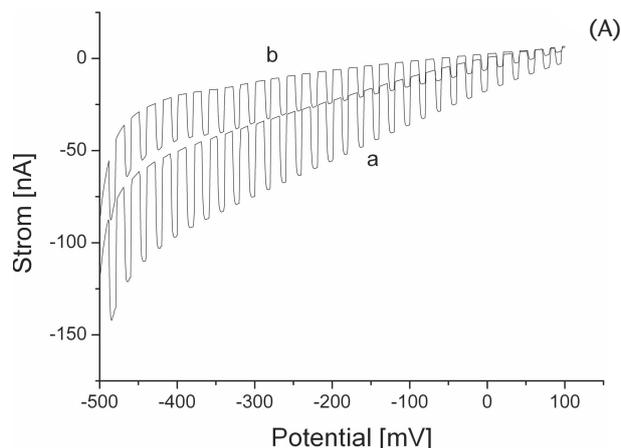


Abb. 1A: LS-Voltammogramm einer Au-[QD-BDT] in Argon gespültem Puffer (b) und luftgesättigtem Puffer (a) (100 mM HEPES; pH 8; 1 mV/s; zwischen -500 und +100 mV vs. Ag/AgCl, 1M KCl)

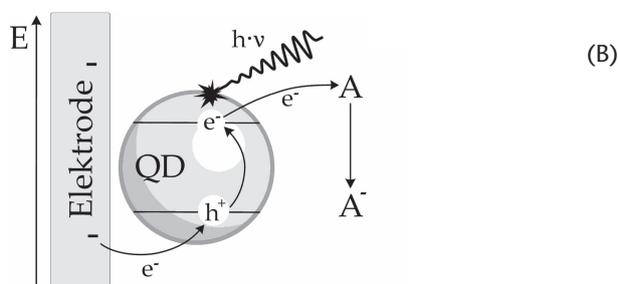


Abb. 1B: Illustration der Schritte des Elektronentransfers nach der Beleuchtung der QD-Elektroden

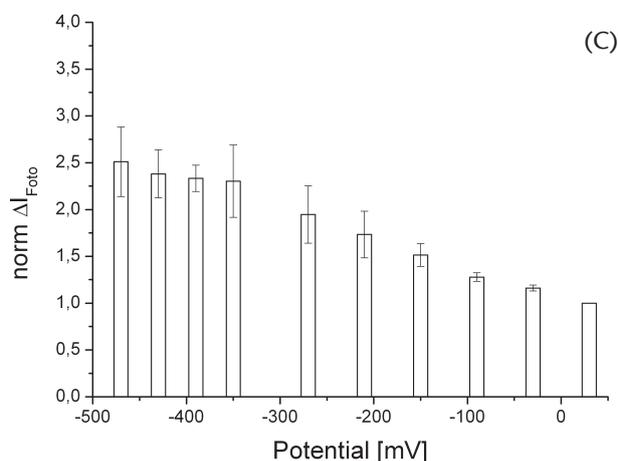


Abb. 1C: Normalisierte Differenz des Photostroms in An- und Abwesenheit von Sauerstoff ( $\Delta I_{\text{photo}}$ ) in Abhängigkeit vom Potential (Fehlerbalken resultieren von 4 unabhängig gemessenen Sensorelektroden, normalisiert auf die Stromänderung bei +30 mV vs. Ag/AgCl)

In den weiteren Studien wird als Arbeitspotential -350 mV vs. Ag/AgCl, 1M KCl gewählt. Nach der Präparation und der ersten Messung der Elektroden der QD-Elektroden zeigt sich ein Anstieg um bis zu 10% innerhalb der ersten sechs bis acht Lichtpulse bevor sie stabil werden.

Um den Einfluss der Lösung auf den Photostrom zu untersuchen, wird der Photostrom bei unterschiedlichen pH-Werten gemessen. Die Ergebnisse sind in Abbildung 2 dargestellt. Messungen in basischem und neutralem Puffer resultieren in den höchsten Werten für den sauerstoffabhängigen Photostrom. Im Säuren zeigt sich jedoch ein geringerer Photostrom. Das gilt nicht nur für den  $O_2$ -abhängigen, sondern auch für den absoluten Photostrom (Abbildung 2B). Offensichtlich ist die Rekombination von Ladungsträgern unter diesen Bedingungen verstärkt, vermutlich auf der Partikeloberfläche. Die amperometrischen Messungen können durch LSV-Messungen bei unterschiedlichen pH-Werten bestätigt werden.

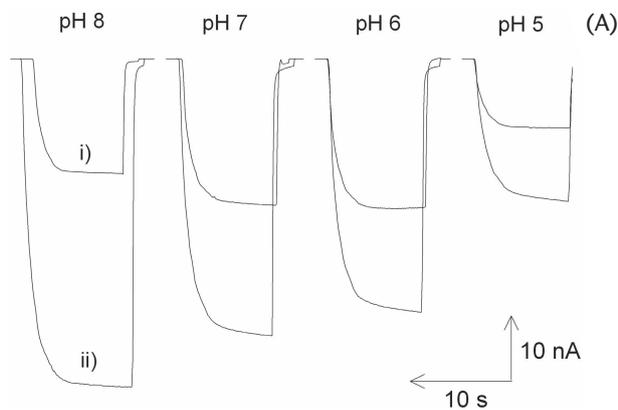


Abb. 2A: Photostrommessungen einer Au-[QD-BDT] Elektrode bei konstantem Potential in Argon-gespültem Puffer (i) und luftgesättigtem Puffer (ii) in Abhängigkeit des pH-Wertes (100 mM HEPES;  $t_s = 10$  s;  $E = -350$  mV vs. Ag/AgCl, 1M KCl)

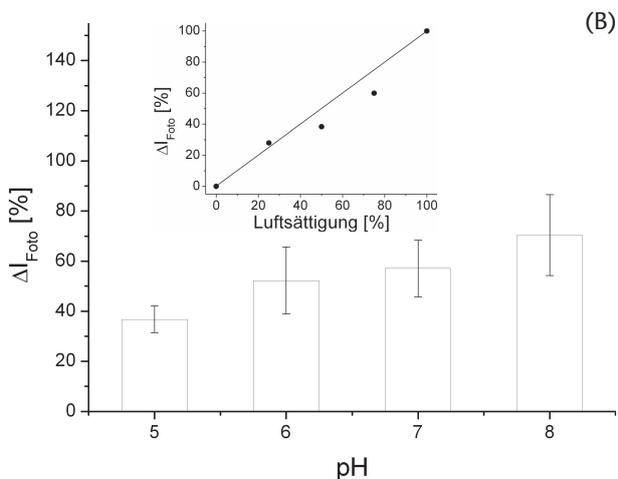


Abb. 2B: Relative Signaländerung nach Entfernung des Sauerstoffs aus luftgesättigter Lösung bei verschiedenen pH-Werten (Fehlerbalken resultieren von 4 unabhängig gemessenen Sensorelektroden); Inset: Abhängigkeit der Photostromänderung von der Sauerstoffkonzentration (relativ zur Luftsättigung) bei physiologischen pH (100 mM HEPES; pH 7).

In weiteren Studien wird die Abhängigkeit des Photostroms von unterschiedlichen Sauerstoffkonzentrationen bei neutralem pH-Wert getestet. Der kathodische Photostrom von CdSe/ZnS-modifizierten Elektroden wird bei  $-350$  mV (vs. Ag/AgCl) in Argon gespültem und luftgesättigtem Puffer gemessen. Nach der Detektion eines stabilen Signals wird ein Teil des Puffers entnommen, durch luftgesättigten Puffer ersetzt und erneut gemessen. Mit Zunahme der Sauerstoffkonzentration im Puffer steigt ebenfalls der Photostrom an. Die Studien beweisen eine lineare Sauerstoffsensitivität des Photostroms bei pH 7 und 8. Der Inset der Abbildung 2B illustriert diese Konzentrationsabhängigkeit des Photostroms.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass QDs als eine katalytische Schicht für die Reduktion von Sauerstoff unter Lichtbestrahlung eingesetzt werden können. Diese Sauerstoffsensitivität von QD-modifizierten Elektroden ermöglicht die Kombination mit enzymatischen Reaktionen.

#### Evaluierung der GOD-Aktivität in Lösung

Der Biokatalysator Glukoseoxidase (GOD) kann sein Substrat durch Reduktion von  $O_2$  oxidieren. Durch die Umsetzung von  $O_2$  könnte eine Unterdrückung des Photostroms QD-modifizierter Elektroden ermöglicht werden. Um das Konzept zu prüfen und die Enzymreaktion zu evaluieren, werden verschiedene Enzymaktivitäten getestet. Die Ergebnisse sind in Abbildung 3 dargestellt. Photostrommessungen vor und nach der Zugabe von Glukose bei  $-350$  mV (vs. Ag/AgCl, 1M KCl) führen zu keiner Signaländerung. Daraus kann geschlossen werden, dass Glukose nicht an den QD-Elektroden umgewandelt werden kann. Nach der Zugabe des Enzyms wird der Photostrom jedoch unterdrückt. In Abbildung 3A kann die Enzymkinetik über den zeitlichen Verlauf des Photostroms beobachtet werden. Abbildung 3B fasst die Ergebnisse aus Messungen mit unterschiedlicher Enzymaktivität zusammen. Es kann gezeigt werden, dass selbst bei niedriger Aktivität des Enzyms (0.025 U/ml) eine Unterdrückung des Photostroms nachweisbar ist.

Die Ergebnisse demonstrieren, dass die Kombination von QD-Elektroden mit der GOD-Reaktion möglich ist. Der Photostrom wird unterdrückt und kann für den Substrat-Nachweis eingesetzt werden. Basierend auf diesen Ergebnissen werden verschiedene Immobilisierungsversuche des Enzyms an den QD-Elektroden durchgeführt, um einen photoelektrochemischen Biosensor zu entwickeln.

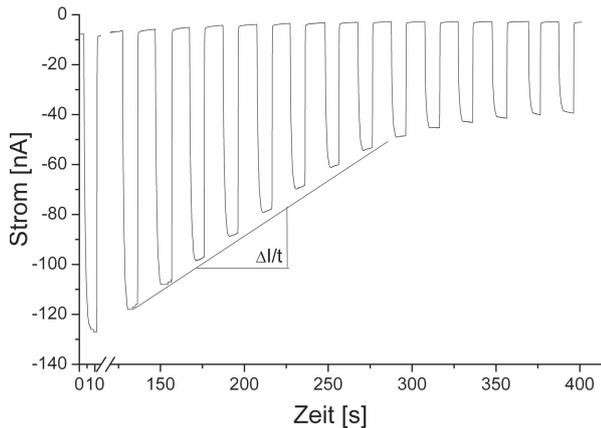


Abb. 3A: Photostrommessungen einer Au-[QD-BDT] Elektrode in 30 mM Glukose und nach Zugabe von GOD (100 mM HEPES; pH 6.8;  $t_l = 10$  s;  $E = -350$  mV vs. Ag/AgCl, 1M KCl)

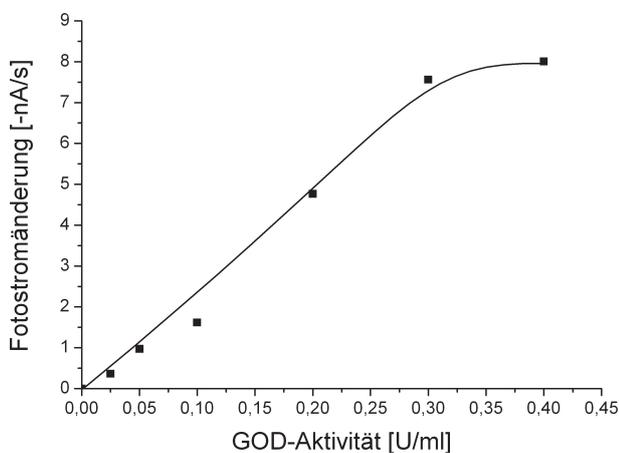


Abb. 3B: Geschwindigkeit der Photostromänderung für verschiedene GOD-Aktivitäten.

### Herstellung eines [GOD/PAH]<sub>n</sub>-Multilayer Assemblat

Um eine schonende und definierte Immobilisierung von GOD zu ermöglichen, wird eine alternierende Deposition von GOD und einem positiv geladenen Polyelektrolyten Poly(allylaminhydrochlorid) (PAH) durchgeführt. Diese Layer-by-Layer Assemblierung ermöglicht nicht nur die Präparation von definierten Strukturen, sondern auch eine bessere Kontrolle der abgelagerten Enzymmenge. Um die Bedingungen für eine effektive Assemblierung von unterschiedlich geladenen Molekülen zu untersuchen, werden zunächst QCM-Messungen durchgeführt. Diese Technik ist gut geeignet um den Aufbau von Polyelektrolyt/Protein-Multischichten zu untersuchen (Lisdar et al. 2009: 274; Sarauli et al. 2009: 2288; Tanne et al. 2010: 1427).

Hierfür werden Quarzkristalle mit BDT modifiziert und in eine Fließzelle eingebaut. Alternierendes Vorbeifließen von GOD und PAH in 2mM Natriumphosphat Puffer pH 7 ermöglichen eine erfolgreiche Assemblierung. Dies wurde bis zu 4 Bilayern untersucht. Abbil-

dung 4A illustriert deutlich die Abnahme der Frequenz mit Zunahme der Depositionsschritte. Die negative Ladungsdichte des Proteins bei neutralem pH-Wert ist offensichtlich ausreichend für eine erfolgreiche Adsorption des positiv geladenen Polyelektrolyten. Das beweist, dass die Ablagerung von multiplen GOD-Schichten über elektrostatische Wechselwirkung mit PAH möglich ist. Aus den Messungen kann man außerdem erkennen, dass die Menge an abgelagerten GOD relativ konstant über die verschiedenen Adsorptionsschritte ist.

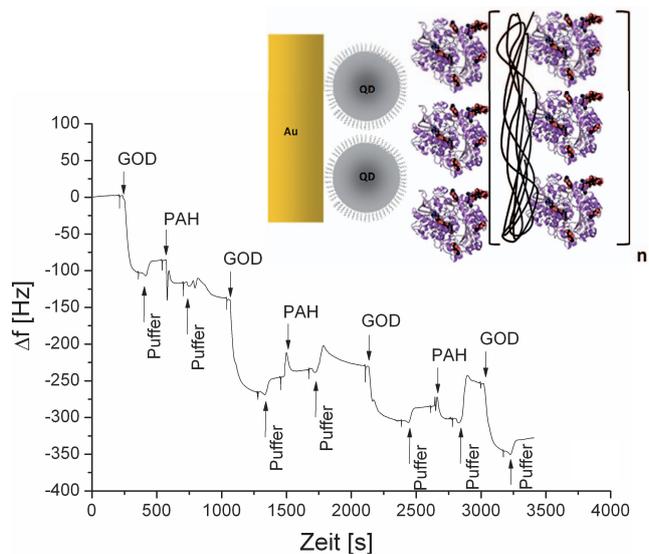


Abb. 4A: Massensensitive Analyse einer [GOD/PAH]<sub>n</sub>-Multischichtassemblierung auf BDT-modifizierten Quarzchips in 2 mM Natriumphosphatpuffer (Flussgeschwindigkeit 40  $\mu$ l/min); Inset: Schematische Illustration der Multischichtassemblierung von [GOD/PAH]<sub>n</sub> auf einer BDT-modifizierten Goldelektrode;

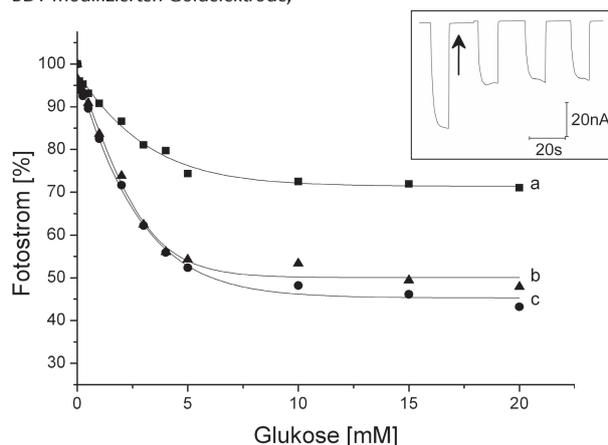


Abb. 4B: Relative Änderung des Photostroms einer Au-[QD-BDT] Elektrode mit immobilisierten [GOD/PAH]<sub>n</sub>-Schichten mit ansteigender Glukosekonzentration, (a) [GOD/PAH]<sub>2</sub>, (b) [GOD/PAH]<sub>4</sub>, (c) [GOD/PAH]<sub>6</sub> (100 mM HEPES pH 6.8;  $t_l = 10$  s;  $E = -350$  mV vs. Ag/AgCl, 1M KCl); Inset: Verhalten des Photostroms von Elektroden mit 4 Bilayern [GOD/PAH]<sub>4</sub> in luftgesättigtem Puffer ohne Glukose (Lichtpuls 1) und nach der Zugabe von 4 mM Glukose (Lichtpulse 2 - 4, der Pfeil markiert die Zugabe von Glukose).

In den weiteren Studien sind QD-Elektroden mit  $[\text{GOD}/\text{PAH}]_n$ -Multischichten modifiziert und das Verhalten des sauerstoffabhängigen Photostroms untersucht worden. Abbildung 4B zeigt die Ergebnisse von Sensoren mit unterschiedlicher Anzahl an immobilisierten  $[\text{GOD}/\text{PAH}]_n$ -Schichten. Die Abbildung illustriert die relative Änderung des Photostroms in Abhängigkeit der Glukosekonzentration. Man kann eindeutig den Signalanstieg mit steigender Zahl der GOD-Schichten erkennen. Die Ergebnisse demonstrieren auch, dass die GOD-Moleküle zugänglich sind und Glukose durch die Schichten diffundieren kann. Das bedeutet, dass Glukose nicht nur durch die äußere Schicht umgesetzt wird, sondern ebenso die inneren Schichten (bis zu 4 Schichten GOD) zur Signalunterdrückung beitragen. Die Dichte der GOD-Moleküle in der Multischichtarchitektur ist hoch genug, um einen effizienten Sauerstoffabbau zu ermöglichen, obwohl  $\text{O}_2$  eine höhere Diffusionsgeschwindigkeit im Vergleich zu Glukose besitzt. Diese Betrachtungsweise wird unterstützt, wenn man Sensoren vergleicht, die mit derselben Schichtzahl  $[\text{GOD}/\text{PAH}]_4$  aber unterschiedlicher GOD-Konzentration ( $400 \mu\text{M}$  statt  $2 \text{ mM}$ ) präpariert werden. Bei mittlerer GOD-Konzentration kann der Photostrom nur auf 60% ( $20 \text{ mM}$  Glukose) unterdrückt werden; bei  $2 \text{ mM}$  GOD ist eine Unterdrückung bis zu 50% möglich. Daher wird für die weiteren Untersuchungen eine hohe Enzymkonzentration eingesetzt.

Für Elektroden, die unter diesen Bedingungen hergestellt werden, zeigt sich eine Steigerung der Unterdrückung des sauerstoffabhängigen Photostroms bis zu 4 GOD-Schichten. Die Ablagerung weiterer Schichten ermöglicht keine Sensitivitätssteigerung im Bereich  $100 \mu\text{M}$  bis  $5 \text{ mM}$  Glukose. Die maximale Änderung des Photostroms liegt bei 50% ( $10 \text{ mM}$  Glukose). Diese Ergebnisse und die Messungen in Argon-gespültem Puffer beweisen, dass 50% des Photostroms (bei pH 7) von Sauerstoff abhängig sind. Die GOD-Multischichten können den gesamten  $\text{O}_2$ -abhängigen Photostrom unterdrücken, wenn eine hohe Enzymaktivität bei hoher Substratkonzentration genutzt wird. Die Messungen zeigen mit einem dynamischen Messbereich zwischen  $100 \mu\text{M}$  und  $5 \text{ mM}$  das Potential des Systems für den Glukosenachweis. Durch das Fixieren der Enzymreaktion kann eine räumlich begrenzte Auslesung des Signals durch spezifische Beleuchtung des entsprechenden Elektrodenareals stattfinden. Die Auflösung ist dabei sowohl von der Immobilisierungstechnik als auch von der Art des optischen Systems für die Photoanregung

abhängig. Das Signalverhalten der gesamten Elektrode wird durch die Änderung der Glukosekonzentration charakterisiert. Schon nach 10 s stellt sich ein stabiles Signal ein. Das ist im Inset der Abbildung 5B illustriert, wobei nach dem ersten Lichtpuls die Glukosekonzentration geändert und anschließend 3 mal Photoströme aufgezeichnet wurden.

## 4 Zusammenfassung

CdSe/ZnS-modifizierte Elektroden sind präpariert und der kathodische Photostrom während der Beleuchtung in An- und Abwesenheit von  $\text{O}_2$  aufgezeichnet worden. Nach wenigen Lichtpulsen kann ein stabiler Photostrom detektiert werden. Diese Basisexperimente verifizieren die lichtunterstützte Sauerstoffreduktion bei negativem Elektrodenpotential. Die Ergebnisse zeigen desweiteren eine Abhängigkeit des  $\text{O}_2$ -abhängigen Photostroms vom pH-Wert mit einer bevorzugten Reaktion im basischen und neutralen pH-Bereich.

Die  $\text{O}_2$ -sensitive Elektrode wird für die Untersuchung der GOD-Reaktion in Lösung eingesetzt. Wegen des enzymatischen Verbrauchs des Sauerstoffs wird das Signal unterdrückt. Dadurch können verschiedene Enzymaktivitäten in Lösung nachgewiesen werden.

Die alternierende Assemblierung von negativ geladenen GOD- und positiv geladenen Polyelektrolyt-Schichten ermöglicht die Etablierung eines Multischichtsystems durch elektrostatische Wechselwirkungen. QCM-Messungen zeigen die Ablagerung einer konstanten Menge von GOD für die einzelnen Schichten. Photostrommessungen mit variierender Glukosekonzentration beweisen die Zugänglichkeit von GOD innerhalb der Schichten und zeigen einen Signalanstieg mit steigender Schichtzahl. Eine  $[\text{GOD}/\text{PAH}]_4$ -Multilayer Elektrode nutzt den gesamten Bereich des  $\text{O}_2$ -abhängigen Photostroms. Mit einer kurzen Ansprechzeit sowie einem dynamischen Messbereich zwischen  $100 \mu\text{M}$  und  $5 \text{ mM}$  Glukose ist dieses System ein geeigneter Biosensor für den Glukosenachweis. Die Untersuchungen demonstrieren die Nützlichkeit des Konzeptes für eine lichtunterstützte Auslesung einer Sensoroberfläche, basierend auf QD-Schichten und einer gekoppelten Enzymarchitektur.

## Danksagung

Wir bedanken uns für die finanzielle Unterstützung der DFG (Projekt LI7062-1, PA794/3-1).

## Literatur

- Akerman, M. E., Chan, W. C. W., Laakkonen, P., Bhatia, S. N., Ruoslahti, E. (2002): PNAS 2002, 99(20), 12617-12621.
- Algar, W. R., Massey, M., Krull, U. J. (2009): Trends Anal. Chem. 2009, 28(3), 292-306.
- Alivisatos, A. P. (1996): Science 1996, 271, 933-937.
- Bailey, V. J., Easwaran, H., Zhang, Y., Griffiths, E., Belinsky S. A., Herman, J. G., Baylin, S. B., Carraway, H. E., Wang, T.-H. (2009): Genome Research 2009, 19, 1455-1461.
- Bardi, G., Malvindi, M. A., Gherardini, L., Costa, M., Pompa, P. P., Cingolani, R., Pizzorusso, T. (2010): Biomat. 2010, 31, 6555-6566.
- Boeneman, K., Deschamps, J. R., Buckhout-White, S., Prasuhn, D. E., Blanco-Canosa, J. B., Dawson, P. E., Stewart, M. H., Susumu, K., Goldman, E. R., Ancona, M., Medintz, I. L. (2010): ACS Nano 2010, 4(12), 7253-7266.
- Bonanni, A., Del Valle, M. (2010): Anal. Chim. Acta 2010, 678, 7-17.
- Bruchez, M., Moronne, M., Gin, P., Weiss, S., Alivisatos, A. P. (1998): Science 1998, 281, 2013-2016.
- Chan, W. C. W., Maxwell, D. J., Gao, X., Bailey, R. E., Han, M., Nie, S. (2002): Curr. Opin. Biotechnol. 2002, 13(1), 40-46.
- Chan, W. C. W., Nie, S. (1998): Science 281, 2016-2018.
- Clarke, S., Pinaud, F., Beutel, O., You, C., Piehler, J., Dahan, M. (2010): Nano Lett. 2010, 10, 2147-2154.
- Dabbousi, B. O., Rodriguez-Viejo, J., Mikulec, F. V., Heine, J. R., Mattoussi, H., Ober, R., Jensen, K. F., Bawendi, M. G. (1997): J. Phys. Chem. B 1997, 101, 9463-9475.
- Dittmeyer, R., Keim, W., Reysa, G., Oberholz, A. (2004): Chemische Technik: Prozesse und Produkte. Band 2: Neue Technologie, Wiley-VCH, Weinheim.
- Esteves, A. C. C., Trindade, T. (2002): Curr. Opin. Solid State Mater. Sci., 2002, 6, 347-353.
- Göbel, G., Dietz, T., Lisdat, F. (2010): Electroanalysis 2010, 22, 1581-1585.
- Ha, T. (2001): Methods 2001, 25(1), 78-86.
- Hines, M. A., Guyot-Sionnest, P. (1996): J. Phys. Chem. 1996, 100, 468-471.
- Ipe, B. I., Niemeyer, C. M. (2006): Angew. Chem. 2006, 118, 519-522.
- Kang, W. J., Ko, M. H., Lee, D. S., Kim, S. (2009): Proteomics Clin. Appl. 2009, 3(12), 1383-1388.
- Kang, X., Mai, Z., Zuo, X., Cai, P., Mo (2007): J. Anal. Biochem. 2007, 369, 71-79.
- Katz, E., Zayats, M., Willner, I., Lisdat, F. (2006): Chem. Commun. 2006, 1395-1397.
- Kloepfer, J. A., Bradforth, S. E., Nadeau, J. L. (2005): J. Phys. Chem. B 2005, 109, 9996-10003.
- Koberling, F., Mews, A., Basche, T. (2001): Adv. Mater. 2001, 13(9), 672-676.
- Lahiff, E., Lynam, C., Gilmartin, N., O'Kennedy, R., Diamond (2010): D. Anal. Bioanal. Chem. 2010, 398, 1575-1589.
- Lisdat, F., Dronov, R., Möhwald, H., Scheller, F. W., Kurth, D. G. (2009): Chem. Commun. 2009, 3, 274-283.
- Lohmüller, T., Aydin, D., Schwieder, M., Morhard, C., Louban, I., Pacholski, C., Spatz, J. P. (2011): Biointerphases 2011, 6(1), 1934-8630.
- Ma, L., Wu, S. M., Huang, J., Ding, Y., Pang, D. W., Li, L. (2008): Chromosoma 2008, 117(2), 181-187.
- Mattoussi, H., Mauro, M., Goldman, E. R., Anderson, G. P., Sundar, V. C., Mikulec, F. V., Bawendi, M. G. (2000): J. Am. Chem. Soc. 2000, 122, 12142-12150.
- Medinitz I. L., Clapp, A. R., Mattoussi, H., Goldman, E. R., Fisher, B., Mauro, J. M. (2003): Nat. Mater. 2003, 2, 630-638.
- Medinitz, I. L., Uyeda, H. T., Goldman, E. R., Mattoussi, H. (2005): Nature Materials 2005, 4, 435-445.
- Murray, C. B., Noms, D. J., Bawendi, M. G. (1993): J. Am. Chem. Soc. 1993, 115, 8706-8715.
- Parak, W. J., Boudreau, R., Le Gros, M., Gerion, D., Zanchet, D., Micheel, C. M., Williams, S. C., Alivisatos, A. P., Larabell, C. A. (2002): Adv. Mater. 2002, 14, 882-885.
- Pardo-Yissar, V., Katz, E., Wassermann, J., Willner, I. (2003): J. Am. Chem. Soc. 2003, 125, 622-623.
- Pellegrino, T., Kudera, S., Liedl, T., Muñoz Javier, A., Manna, L., Parak, W. J. (2005): small, 2005, 1, 48-63.
- Pinaud, F., King, D., Moore, H.-P., Weiss S. (2004): J. Am. Chem. Soc. 2004, 126, 6115-6123.
- Reiss, P., Bleuse, J., Pron, A. (2002): Nano Lett. 2002, 2, 781-784.
- Sarauli, D., Tanne, J., Schäfer, D., Schubart, I. W., Lisdat, F. (2009): Electrochem. Commun. 2009, 11, 2288-2291.
- Sarauli, D., Tanne, J., Xu, C., Schulz, B., Trnkova, L., Lisdat, F. (2010): Phys. Chem. Chem. Phys. 2010, 12, 14271-14277.
- Scheller, F., Schubert, F. (1992): Biosensors: Fundamentals and application; Elsevier.
- Schubert, K., Khalid, W., Yue, Z., Parak, W. J., Lisdat, F. (2010): Langmuir 2010, 26(2), 1395-1400.
- Seydack, M. (2005): Biosens. Bioelectron. 2005, 20, 2454-2469.
- Shipway, A. N., Katz, E., Willner, I. (2000): ChemPhysChem 2000, 1, 18-52.
- Stoll, Ch., Gehring, C., Schubert, K., Zanella, M., Parak, W. J., Lisdat, F. (2008): Biosens. Bioelectron. 2008, 24, 260-265.
- Stoll, Ch., Kudera, S., Parak, W. J., Lisdat, F. (2006): small 2006, 2, 6, 741-743.
- Sun, J., Zhu, Y., Yang, X., Li, C. (2009): Particuology 2009, 7, 347-352.
- Talpin, D. V., Rogach, A. L., Kornowski, A., Haase, M., Weller, H. (2001): Nano Lett. 2001, 1(4), 207-211.
- Umar, A., Rahman, M. M., Al-Hajry, A., Hahn, Y.-B. (2009): Electrochemistry Communications, 2009, 11, 278-281.
- Van Sark, W. G. J. H. M., Frederix, P. L. T. M., Bol, A. A., Gerritsen, H. C., Meijerink A. (2002): ChemPhysChem 2002, 3, 871-879.
- Van Sark, W. G. J. H. M., Frederix, P. L. T. M., Van den Heuvel, D. J., Gerritsen, H. C. (2001): J. Phys. Chem. B 2001, 105, 8281-8284.
- Wannier, G. H. (1937): Phys. Rev. 1937, 52, 193-197.
- Willner, I., Basnar, B., Willner, B. (2007): FEBS Journal 2007, 274, 302-309.
- Wu, X., Liu, H., Liu, J., Haley, K. N., Treadway, J. A., Larson, J. P., Ge, N., Peale, F., Bruchez, M. P. (2003): Nat. Biotechnol. 2003, 21, 41-46.
- Xiao, Y., Li, C. M. (2008): Electroanalysis 2008, 20(6), 648-662.
- Zayats, M., Katz, E., Willner, I. (2002): J. Am. Chem. Soc. 2002, 124, 10, 2120-2121.

## Autoren

**Johannes Tanne, M. Sc.**

AG Biosystemtechnik

FhG IBMT Golm

Technische Hochschule Wildau [FH]

johannes.tanne@ibmt.fraunhofer.de

**Dipl.-Ing. (FH) Daniel Schäfer**

AG Biosystemtechnik

Technische Hochschule Wildau [FH]

daniel.schaefer@th-wildau.de

**Dr. Waquas Kahlid**

Fachbereich Physik

Philips Universität Marburg

wqaskh@yahoo.com

**Prof. Dr. Wolfgang J. Parak**

Fachbereich Physik

Philips Universität Marburg

wolfgang.parak@physik.uni-marburg.de

**Prof. Dr. rer. nat. habil. Fred Lisdat**

AG Biosystemtechnik

Technische Hochschule Wildau [FH]

fred.lisdat@th-wildau.de