

2. BIOSENSOR SYMPOSIUM

TÜBINGEN 2001

<http://barolo.ipc.uni-tuebingen.de/biosensor2001>

Oligo(ethylenoxid)silan *Self-Assembled Monolayer* mit proteophoben Eigenschaften an Siliziumoxidoberflächen

Christian Hoffmann, Herwig Brunner, Günter Tovar

Universität Stuttgart, Institut für Grenzflächenverfahrenstechnik und

Fraunhofer-Institut für Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik Nobelstr. 12, 70569 Stuttgart

Tel. 0711-9704038, Fax 0711-9704200, cho@igb.fhg.de, www.uni-stuttgart.de/igvt

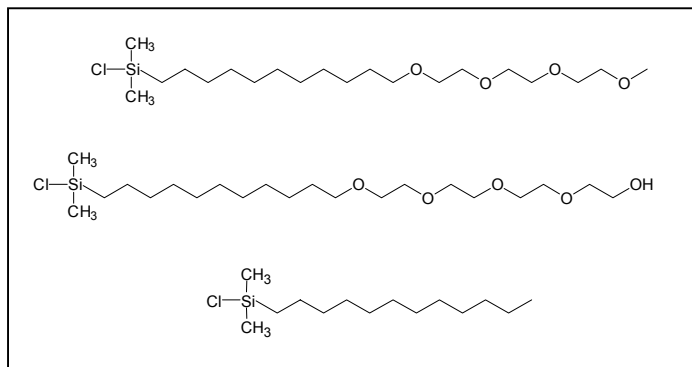
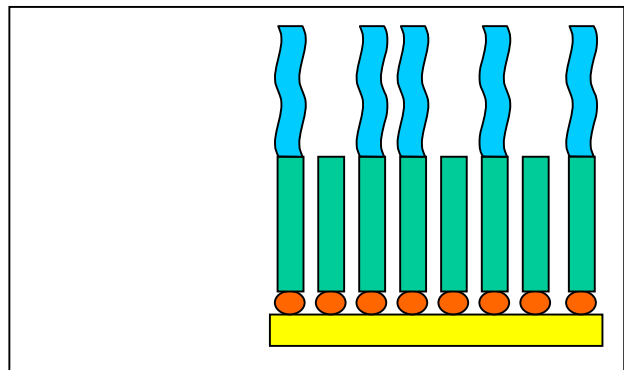
Registriernummer der Online-Anmeldung: 180

Poster

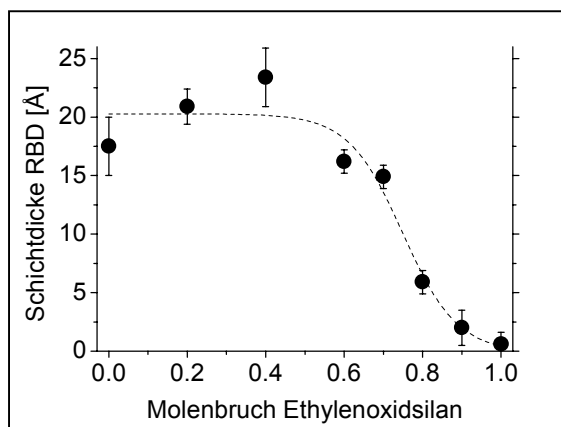
In so unterschiedlichen Anwendungen wie bei Immunoassays, in der klinischen Analyse oder der Diagnostik kommt der spezifischen Proteinimmobilisierung eine entscheidende Bedeutung zu.¹ Dabei müssen unspezifische, attraktive Wechselwirkungen (wie elektrostatische Anziehung) zwischen dem Protein und der technischen Oberfläche möglichst vermindert werden. Diese setzen die spezifische Anbindung des Proteins herab und können

sogar zur Denaturierung und zum vollständigen Funktionsverlust des Proteins führen. Generell werden proteophobe Oberflächen in Anwendungen benötigt, in denen es zum Kontakt mit Proteinen, Zellen und anderen biologischen Systemen kommt. Oligo(ethylenoxid)thiolat SAM auf Gold zeigen

proteinabweisende Eigenschaften^{2,3}, daher sollte ein analoges System aus Silan-SAM auf Siliziumoxid darstellbar sein. Hierfür synthetisierten wir neuartige Oligo(ethylenoxid)silane, um diese zu proteophoben SAM an Siliziumoxidoberflächen umzusetzen. Als Oberflächensubstrate dienten Siliziumwafer. Diese weisen zum einen eine sehr glatte Oxidoberfläche auf, zum anderen können sie aufgrund der guten



Reflexionseigenschaften durch ellipsometrische Messungen charakterisiert werden. Die für den SAM-Aufbau benötigten Oligo(ethylenoxid)-silane synthetisierten wir in einer zweistufigen Reaktion: Zunächst wurde 11-Brom-1-undecen in einer bimolekularen Substitutionsreaktion mit Tri(ethylenglycol)monomethylether (Abb. 2: Silan 1) oder Tetraethylenglycol (Silan 2) umgesetzt. Danach folgte die Hydrosilylierung des Alkens mit Dimethylchlorsilan. Kontrolliert wurde die Synthese durch Dünnschichtchromatographie, $^1\text{H-NMR}$ - sowie IR-Spektroskopie. Die dargestellten Moleküle wurden dann in reiner Form oder in binären Mischungen zwischen Silan 1 und Silan 3 (Dodecyldimethylchlorsilan) zu SAM umgesetzt (Abbildung 1). Die



einzelnen Reaktionsschritte an der Oberfläche wurden durch Ellipsometrie und Kontaktwinkelmessungen verfolgt und in Abhängigkeit vom Molenbruch diskutiert. Die gemessenen optischen Schichtdicken entsprechen ca. zwei Drittel der theoretischen Schichtdicke, was auf eine ungeordnete Struktur im SAM hindeutet. Mit steigendem Molenbruch von Ethylenoxidsilan in der Reaktionslösung erhöht sich die Schichtdicke auf dem Substrat, während der Kontaktwinkel (H_2O) abnimmt (Abbildung 3). Die proteophobe Eigenschaft wurde vor allem mit einer fluoreszenzmarkierten Proteindomäne der Raf-Kinase, der *Ras Binding Domain* (RBD), getestet. Als Fluoreszenzmarker wurde N^β -Nitrobenzofurazan- N^α -Boc-L-diaminopropionsäure ($\lambda_{\text{ex}} = 480 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 539 \text{ nm}$, $\epsilon = \sim 20000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) in das Protein eingeführt. Wenn die Oberfläche zu 90 % mit Ethylenoxidsilan belegt ist, geht die Menge an adsorbiertem Protein gegen Null, was durch Ellipsometrie und Fluoreszenzspektroskopie gezeigt wird (Abbildung 4). Weitere Proteine wurden an diesen Ethylenoxidoberflächen getestet und die proteinabweisende Funktion der Ethylenoxidsilan SAM bestätigt. So adsorbieren Myoglobin, Carbonic Anhydrase, Streptavidin, Trypsin Inhibitor, Cytochrom c und Insulin nicht, RNase nur zu einem geringen Anteil.

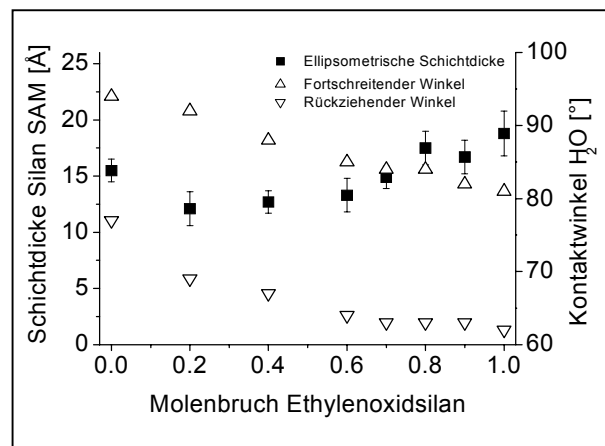


Abbildung 3: Ellipsometrische Schichtdicke und Kontaktwinkel der binären SAM

Literatur

- [1] Rao, S. V., Anderson, K. W. and Bachas, L. G. (1998) *Microchim. Acta.*, **128**, 127-143.
- [2] Sigal, G. B., Bamdad, C., Barberis, A., Strominger, J. and Whitesides, G. M. (1996) *Anal. Chem.*, **68**, 490-497.
- [3] Harder, P., Grunze, M., Dahint, R., Whitesides, G. M. and Laibinis, P.E., (1998) *J. Phys. Chem. B*, **102**, 426-436.