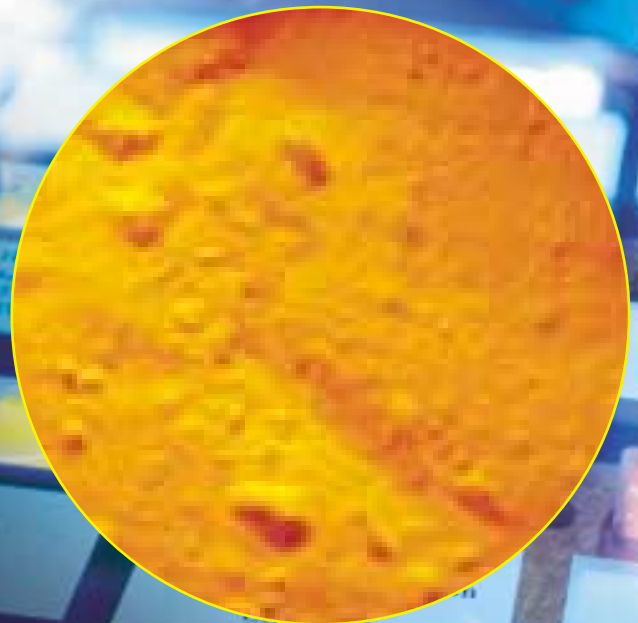


Nanopartikel machen Diagnose sicherer

Leuchtspele für die Medizin

Nanophosphore:
Mit den fluoreszierenden Pulvern (kleines Foto) will Dr. Werner Hoheisel die medizinischen Diagnosen sicherer machen.

Zum Nachweis von Krankheitserregern, zur Krebsdiagnostik und für genetische Tests sind Fluoreszenzfarbstoffe oft unverzichtbare Hilfsmittel. Nicht immer ist mit den meist organischen Substanzen eine sichere und gleichzeitig schnelle Diagnose möglich. Deshalb suchen Forscher seit Jahren nach Alternativen. Bayer-Wissenschaftler wurden jetzt im Nanokosmos fündig: Nanophosphore sind den bisher verwendeten Farbstoffen in vieler Hinsicht weit überlegen.





Farbenpracht: Bei Bestrahlung mit speziellem UV-Licht fluoreszieren die Nanophosphore (hier in einer Dispersion) in unterschiedlichen Farben.

Viren und Bakterien kann man nicht anmalen. Um sie aber im menschlichen Körper wirksam zu bekämpfen, müssen sie erst einmal sichtbar gemacht werden. In speziellen Labortests zur medizinischen Diagnostik nutzt man dazu so genannte Fluoreszenzfarbstoffe. Werden diese Substanzen mit Licht einer bestimmten Wellenlänge angeregt, strahlen sie die aufgenommene Energie anschließend in Form von Licht einer anderen Wellenlänge wieder ab. Mit den Fluoreszenzfarbstoffen ist es beispielsweise möglich, Antikörper gegen bestimmte Krankheitserreger im Blut eines Patienten zu identifizieren. Dazu setzt man einer aus dem Blut gewonnenen Probe spezielle Test-Antikörper zu. Sind im Blut tatsächlich die vermuteten Krankheitsauslöser enthalten, docken die Test-Antikörper an diese Proteine an. Weil die Test-Antikörper wiederum mit speziellen Leuchtstoffen markiert sind, können Mediziner durch die Messung des Fluoreszenzlichts die Anwesenheit der spezifischen Proteine in der Patientenprobe quantitativ nachweisen. Fluoreszenzfarbstoffe werden zunehmend auch eingesetzt, um mit Hilfe des als „Polymerase Chain Reaction“ (PCR) bekannten DNA-Analyseverfahrens die medizinische Diagnostik für den Nachweis von viralen Infektionskrankheiten über Krebserkrankungen bis hin zu genetischen Defekten schneller und sicherer zu machen. Nicht zuletzt werden auch zukünftige Biochips vielfach auf Fluoreszenzfarbstoffen basieren, um etwa Antikörper, Hormone oder

Erbsubstanz zu entdecken und zu quantifizieren.

„In diesen Leuchtstoffröhren steckt das Material, an dem wir für die medizinische Diagnostik forschen“, sagt Dr. Werner Hoheisel, Projektleiter im Competence Center Biophysics bei Bayer Technology Services in Leverkusen, indem er zur Decke zeigt. Was Büros weltweit erhellt, könnte demnächst in Laboren der medizinischen Diagnostik Einzug halten: Phosphore. Ihre Fähigkeit zur Fluoreszenz will die Division Diagnostika bei Bayer HealthCare für Testverfahren nutzen – um beispielsweise Krebserkrankungen in einem möglichst frühen Stadium nachzuweisen.

Nanophosphore als Minileuchten für Blutproben

Auf die neue Methode kamen die Experten beim Vorstoß in den Nanokosmos. Sie fanden so genannte Nanophosphore: eine miniaturisierte Form der aus den Lichtquellen bekannten anorganischen Leuchtphosphore in einer Größe von nur wenigen Nanometern. Die neuartigen „Mini-Leuchten“ könnten Untersuchungen von Blut-, Speichel-, Urin- oder Haarproben im Labor in Zukunft noch schneller und sicherer machen. Auch bisher setzten Mediziner schon Fluoreszenzfarbstoffe für die Labortests ein. Diese – allerdings organischen – Moleküle weisen aber eine Reihe von Nachteilen auf. Sie bleichen schnell aus, was beispielsweise die Archivierung von Gewebeproben erschwert. Außerdem ist bei ih-

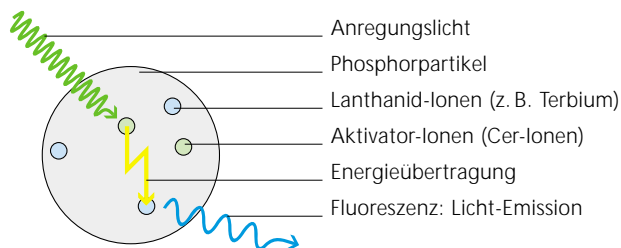
Fluoreszenz organischer Farbstoffe

Organische Fluoreszenzfarbstoffe sind aus mehreren aromatischen Ringen aufgebaut, wie etwa Fluorescein oder Rhodamin. Solche Molekülstrukturen lassen sich durch Licht einer bestimmten Wellenlänge anregen: Dabei werden Elektronen von einem stabilen Grundzustand auf ein instabiles Energieniveau gehoben – vergleichbar mit Wasser, das von einem niedrigeren in ein höheres Staubecken gepumpt wird. Fallen die Elektronen zurück, wird die vorher „gespeicherte“ Energie in Form von Licht frei – so wie das Wasser beim Hinunterstürzen eine Turbine antreiben und Strom erzeugen kann. Wie oft sich diese Zyklen aus Anregung und Emission wiederholen lassen, hängt vom jeweiligen Farbstoff ab. Wird das Molekül zerstört oder das Elektron in einen stabilen Zwischenzustand eingefangen, kann der Kreislauf unterbrochen werden, so dass selbst die besten organischen Farbstoffe nach relativ kurzer Zeit verblassen.

nen der Unterschied zwischen Anregungs- und Emissionslicht sehr klein, was zu unerwünschten Überlappungen bei der gleichzeitigen Verwendung mehrerer Farbstoffe führt: Das Emissionslicht des einen Farbstoffs liegt bei der gleichen Wellenlänge wie das Anregungslicht eines anderen Farbstoffs – ein Problem, das die Auswertung, wegen der schlechten Unterscheidung

Fluoreszenz von Nanophosphoren

In die Molekülgitter von Phosphoren sind einzelne Lanthanid-Ionen – wie Europium oder Terbium eingebettet. Das Kristallgitter oder manchmal auch speziell eingesetzte „Aktivator-Ionen“ nehmen das Anregungslicht auf und übertragen die Energie auf die „Lanthanid-Ionen“ – die eigentlichen Fluoreszenzgeber. Die Emission hängt von den verwendeten Lanthanid-Ionen ab: Terbium etwa leuchtet gelbgrün, Europium rot. Wie am Beispiel der „Mikroteilchen“ in den Leuchtstofflampen deutlich wird, kann der Zyklus von Anregung und Emission unendlich oft ablaufen, so dass der Farbstoff nicht ausbleicht.



Nanopartikel < Viren

Forscherglück: Dr. Karlheinz Hildenbrand (l.) und Helmut Krülls zeigen die erfolgreiche Einhüllung der Phosphore mittels Gelelektrophorese.

von Anregungs- und Emissionslicht, oft unmöglich macht.

Daher forschen Wissenschaftler weltweit seit rund zehn Jahren an anorganischen, fluoreszierenden Nanoteilchen als Alternativen. Zunächst hatten sie sich auf Halbleitermaterialien konzentriert, die kleiner als zehn Nanometer waren. Sie brachten damit einen Stein ins Rollen, der die Nachweismethoden in der medizinischen Diagnostik revolutionieren könnte.

„Halbleiter-Nanoteilchen in diesen winzigen Dimensionen haben die Eigenschaft, dass die Wellenlänge des von ihnen abgestrahlten Fluoreszenzlichts nicht nur vom Material, sondern auch von der Größe der Partikel abhängt“, erläutert Werner Hoheisel. Da sie aber alle bei einer einzigen Wellenlänge im UV-Bereich angeregt werden können, ist man so in der Lage, verschiedene



Antikörper oder Erbmaterial gleichzeitig in einer Probe nachzuweisen, ohne Probleme mit Überlappungen von Anregungs- und Emissionslicht zu bekommen. „Diese Multiplexfähigkeit würde diagnostische Tests schneller und preiswerter machen und zusätzlich wäre weniger Probenmaterial nötig“, erklärt Werner Hoheisel.

Lanthanid-Ionen bestimmen die Wellenlänge der Fluoreszenz

Da die Synthese der Halbleiter-Nanoteilchen, auch Quantum Dots genannt, relativ aufwändig ist und die darin oft enthaltenen Schwermetalle wenig umweltfreundlich sind, setzten die Bayer-Forscher auf eine neue Materialklasse: die Nanophosphore. Phosphore sind chemische Verbindungen beispielsweise aus Silikaten, Oxiden, Sulfaten oder Phosphaten, in deren Molekülgitter

einzelne Lanthanid-Ionen eingebaut sind. „Die Nanophosphore haben ein hohes Potenzial, sie haben viele Vorteile der Quantum Dots – aber weniger Nachteile“, sagt Hoheisel – und er muss es wissen: Bevor er zu Bayer kam, arbeitete er an der University of California in Berkeley als Postdoc an der Entwicklung der Quantum Dots mit. Auch die Nanophosphore bleichen kaum aus und können ebenfalls im Multiplex-Verfahren verwendet werden. Und gegenüber Quantum Dots haben sie den großen Vorteil, dass die Wellenlänge ihres Emissionslichts nicht von der Teilchengröße abhängig ist, sondern von der Art der verwendeten Lanthanid-Ionen. Deshalb muss ihre Teilchengröße, die auch im Bereich von unter zehn Nanometern liegt, nicht so genau kontrolliert werden – der Herstellungsprozess ist dadurch einfach und kostengünstiger. Außerdem gelten

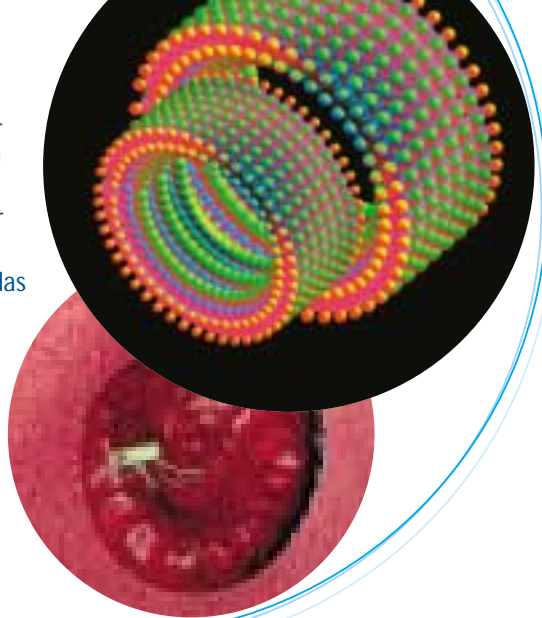
Winzige Detektive

Der Durchmesser der Nanophosphore ist um den Faktor 100 kleiner als der ihrer „Kollegen“ in den Leuchtstoffröhren. Deshalb eignen sie sich viel besser für die Detektion von biologischen Strukturen.

	Abmessungen (Durchmesser) in Nanometer (nm)
DNA	2,5
Protein	5
Antikörper	10
Lampenphosphor	1.000
Nanophosphor	10

Nanogetriebe

In Zukunft könnten Nano-Maschinen, mit Getrieben (oben) aus einzelnen Molekülen, Ärzte bei ihrer Behandlung unterstützen. Denkbar ist damit sogar das Aussondern einzelner kranker Blutkörperchen aus der Blutbahn (unten).



die meisten Ionen der Lanthaniden – auch seltene Erden genannt – als weniger bedenklich für die Umwelt, was die Herstellung und Entsorgung erleichtert.

„Darüber hinaus verspricht der neue Farbstoff einen weiteren Vorteil, der letztlich die Detektion verbessert“, sagt Hoheisel. Viele biologische Bestandteile von Zellen zeigen eine schwache Eigenfluoreszenz – sie leuchten, auch ohne Markierung. Dieser Effekt, auch Hintergrundleuchten genannt, der die Wahrnehmung des Signals – etwa das positive Ergebnis eines Tests in der Krebsdiagnostik – erschwert, lässt sich mit Nanophosphoren umgehen. Denn die Lebensdauer der Fluoreszenz, also der Zeitraum zwischen Anregung und Emission, ist bei vielen Nanophosphor-Typen auf mehrere Millisekunden ausgedehnt. Wird dann mit einem kurzen Lichtpuls angeregt, ist das Hintergrundleuchten bereits verschwunden, bevor das Testergebnis erscheint. Dadurch erhöht sich die Empfindlichkeit des Fluoreszenzmarkers für die verschiedenen Einsatzgebiete entscheidend. Ein weiterer und für Anwendungen in der medizinischen Diagnostik wichtiger Vorteil des Nanophosphor-Systems ist dessen Fähigkeit, die Fluoreszenzenergie auf einen eng benachbarten Farbstoff zu übertragen. Dadurch können unter anderem biochemische Reaktionen wie die Kopplung zwischen Antikörpern, ohne einen weiteren Arbeitsschritt nachgewiesen werden. Das bedeutet: Die in

einer Patientenprobe gesuchten Antikörper können bereits direkt nach dessen Zugabe zu der Testlösung erkannt werden.

Auch den nächsten Entwicklungsschritt hat das interdisziplinär arbeitende Forscherteam aus Physikern, Chemikern und Biologen bereits gestartet: die Ankopplung von Biomolekülen. Denn bevor Nanophosphore für das Aufspüren von bestimmten Abschnitten der DNA – beispielsweise in zukünftigen Krebstests – eingesetzt werden können, müssen sie ihrerseits an geeignete DNA-Segmente angehängt werden. „Das gehört zu den schwierigsten Aufgaben im Projekt. Die stabile Ankopplung von kleinen organischen Molekülen oder größeren Biomolekülen an singuläre, anorganische Nanoteilchen ist immer eine große Herausforderung. Denn die Partikel müssen mühsam an die Eigenschaften der organischen Moleküle angepasst werden, ohne sich dabei vorher selbst zusammenzuballen. Wenn uns das gelingt“, ist Hoheisel überzeugt, „bieten die Nanophosphore eine sehr gute technologische Basis, um auch den anspruchsvollen zukünftigen Herausforderungen der medizinischen Diagnostik gerecht zu werden“.

[www.schule-bw.de/unterricht/
faecher/biologie/
unterrichtsmaterialien/dna](http://www.schule-bw.de/unterricht/faecher/biologie/unterrichtsmaterialien/dna)

Auf den Seiten des Bildungsservers Baden-Württemberg gibt es weitere Informationen zur DNA-Analyse.

Die Glattmacher

Nanopartikel leisten auch bei der Herstellung von Speicherchips unentbehrliche Hilfe. Bei der Produktion der hochsensiblen Bauteile kommt es vor allem auf eine absolut glatte Oberfläche an. Denn moderne Speicherchips bestehen aus bis zu 20 Schichten, in denen sich Leitungsbahnen und Isolierschichten abwechseln. Jede der Schichten wird einzeln aufgetragen und bearbeitet. Weil sich dabei Unebenheiten schnell summieren und Kurzschlüsse in den Schaltkreisen verursachen können, muss jede einzelne Schicht möglichst glatt poliert werden, bevor die nächste aufgetragen wird. Und glatt heißt für Dr. Arno Nennemann von Bayer Technology Services in Leverkusen, „wenn Unebenheiten von weniger als einem millionstel Millimeter abgeschliffen sind“. Er und sein Team entwickelten deshalb gemeinsam mit Forschern der Bayer-Tochter H. C. Starck feine Polierpasten mit Nanoteilchen: winzigen Partikeln aus Siliziumdioxid in einer Größe von 5 bis 50 Nanometern. Ihre Härte können die Forscher durch Zusatz einzelner Moleküle, beispielsweise Aluminiumoxid, oder durch die Beschichtung der Partikeloberfläche mit organischen Verbindungen variieren. Sowohl die Größe als auch die Härte der Teilchen bestimmen die Abtragsrate und die Rauigkeit der polierten Schicht.



Feinschliff: miniaturisierte Polierzelle zur Polierung der Wafer-Oberfläche.