(19) Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 197 42 156 B4** 2005.11.24

(12) **Patentschrift**

(21) Aktenzeichen: **197 42 156.3**
(22) Anmeldetag: **24.09.1997**
(43) Offenlegungstag: **02.04.1998**
(45) Veröffentlichungstag der Patenterteilung: **24.11.2005**

(51) Int Cl.[7]: **C09K 3/00**
C07K 17/00, C09B 67/02, C09K 11/06, C12N 11/08, C12N 11/14, B05D 1/18, B05D 1/36, C08J 5/18
// C09C 3/10,G09F 13/20,G01N 21/33

Innerhalb von drei Monaten nach Veröffentlichung der Patenterteilung kann nach § 59 Patentgesetz gegen das Patent Einspruch erhoben werden. Der Einspruch ist schriftlich zu erklären und zu begründen. Innerhalb der Einspruchsfrist ist eine Einspruchsgebühr in Höhe von 200 Euro zu entrichten(§ 6 Patentkostengesetz in Verbindung mit der Anlage zu § 2 Abs. 2 Patentkostengesetz).

(30) Unionspriorität:
280329/1996 30.09.1996 JP

(73) Patentinhaber:
Japan Science and Technology Agency, Kawaguchi, Saitama, JP

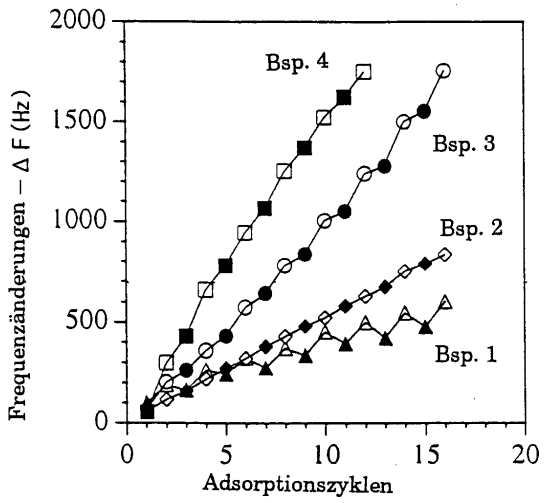
(74) Vertreter:
Grosse, Bockhorni, Schumacher, 81476 München

(72) Erfinder:
Onda, Mitsuhiko, Kurume, Fukuoka, JP; Lvov, Yuri, Kurume, Fukuoka, JP; Ariga, Katsuhiko, Kurume, Fukuoka, JP; Kunitake, Toyoki, Kasuya, Fukuoka, JP

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht gezogene Druckschriften:
JP 08-2 45 815 A
JP 04-1 01 837 A

(54) Bezeichnung: **Funktionelle dünne Filme und ein Verfahren zu deren Herstellung**

(57) Hauptanspruch: Verfahren zur Herstellung eines funktionellen, dünnen Films, umfassend das Eintauchen eines festen Trägers mit einer elektrischen Ladung in eine gemischte Lösung aus Polymerionen und funktionellen Molekülen mit einer elektrischen Nettoladung, die entgegengesetzt zu derjenigen des festen Trägers ist, gefolgt von dem Eintauchen des festen Trägers in eine Polymerionenlösung mit einer elektrischen Nettoladung, die entgegengesetzt zu derjenigen der gemischten Lösung aus Polymerionen und funktionellen Molekülen ist, oder wechselweises Eintauchen eines festen Trägers mit einer elektrischen Ladung in eine Polymerionenlösung, die eine elektrische Nettoladung aufweist, die entgegengesetzt zu derjenigen des festen Trägers ist, gefolgt von dem Eintauchen des festen Trägers in eine gemischte Lösung aus Polymerionen und funktionellen Molekülen mit einer elektrischen Nettoladung, die entgegengesetzt zu derjenigen der Polymerionenlösung ist, und Wiederholen dieser Eintauchschritte des festes Trägers in die Polymerionenlösung und die gemischte Lösung aus Polymerionen und funktionellen Molekülen, um einen gewünschten dünnen Mehrschichtenfilm zu bilden.



Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft funktionelle dünne Filme und ein Verfahren zu deren Herstellung, insbesondere die Herstellung eines neuen, ultradünnen Films, d.h. eines dünnen Films, der durch die Verwendung des wechselweisen schichtweisen Aufbringungsverfahrens in einer molekularen Größenordnung geregelt ist.

[0002] Die meisten biologischen Reaktionen laufen mittels sehr wirksamer und selektiver physikalischer und chemischer Verfahren ab, bei denen Proteine wie Enzyme oder funktionelle Pigmentmoleküle allein oder auf zusammenwirkende oder sequentielle Weise wirken. Um solche Funktionen für die Entwicklung neuer Molekulareinrichtungen wie Enzymreaktoren, Biosensoren oder Leuchtelementen künstlich nachzuahmen, ist es notwendig, eine Struktur oder Anordnung aufzubauen, bei der funktionelle Moleküle in einer gewünschten Reihenfolge schichtweise angeordnet werden. Im allgemeinen können funktionelle Moleküle auf einen festen Träger durch eins der folgenden Verfahren schichtweise aufgetragen werden: (i) das LB-Verfahren, bei dem ein auf der Oberfläche einer Flüssigkeit entwickelter, dünner Film auf einen Träger übertragen wird, (ii) das Monoschicht-Adsorptionsverfahren, durch das funktionelle Moleküle direkt auf einem festen Träger fixiert werden und (iii) das wechselweise schichtweise Aufbringungsverfahren zur Fixierung funktioneller Moleküle durch die Adsorption wechselweise mit anderen Molekularkomponenten.

[0003] Das LB-Verfahren ist als Verfahren zur Herstellung eines dünnen Films bekannt, bei dem die Molekularschichten in einer gewünschten Reihenfolge mit der Genauigkeit molekularer Größenordnung angeordnet werden. Das Verfahren umfaßt das Lösen einer amphiphilen Substanz wie eines Lipids in einem organischen Lösungsmittel, das Ausbreiten einer Monoschicht auf einer wässerigen Oberfläche und das Übertragen der Monoschicht auf ein festes Substrat, wodurch ein dünner Film mit einer gewünschten Dicke durch Steuerung der Reihenfolge der Schichten ausgebildet wird. Dieses Verfahren unterliegt einer Einschränkung, da es nur auf wasserunlösliche Substanzen mit Eigenschaften anwendbar ist, die denjenigen der oberflächenaktiven Mittel ähnlich sind, da die jeweilige Substanz auf einer wässerigen Oberfläche als Monoschicht entwickelt werden muß. Außerdem hat das LB-Verfahren den Nachteil, daß es eine schlechte Herstellbarkeit aufweist und eine Vorrichtung erfordert, die teuer und nicht leicht zu handhaben ist.

[0004] Das Monoschicht-Adsorptionsverfahren soll in einer Lösung gelöste Moleküle auf einem festen Träger in einer Monoschicht fixieren, wobei eine starke Wechselwirkung wie diejenige zwischen Silanol und Glas oder Thiol und Gold ausgenutzt wird. Dieses Verfahren ist vorteilhaft, da eine wasserlösliche Substanz verwendet werden kann. Es hat zusätzliche Vorteile, da der sich ergebende Film gegenüber Wirkungen von außen aufgrund der starken Wechselwirkung zwischen dem festen Träger und der Monoschicht widerstandsfähig ist und da die Fixierung ungeachtet der Form des festen Trägers durchgeführt werden kann. Das Verfahren hat jedoch den gravierenden Nachteil, daß chemische Reaktionen mit spezifischen funktionellen Gruppen für die Herstellung einer Mehrschichtenstruktur unerläßlich sind und daß so die verwendbaren Substanzen auf diejenigen beschränkt sind, die die spezifischen funktionellen Gruppen aufweisen, die mit dem Trägermaterial in Wechselwirkung stehen.

[0005] Das wechselweise schichtweise Aufbringungsverfahren dient zur Herstellung eines dünnen Films durch die wechselweise Adsorption von entgegengesetzt geladenen Substanzen, die in Kombination unter organischen Polymerionen, anorganischen Polymerionen, Proteinen und dergleichen ausgewählt werden können. Das Prinzip dieses schichtweisen Aufbringungsverfahrens ist folgendes: Falls ein fester Träger in eine Lösung von Polymerionen eingetaucht wird, dessen elektrische Oberflächenladung entgegengesetzt zu derjenigen der Polymerionen ist, werden die Polymerionen auf den Träger aufgrund der elektrostatischen Wechselwirkung adsorbiert. Dies führt zu der Neutralisierung der Oberflächenladung des Trägers durch die Polymerionen und dann zu der Erzeugung der neuen elektrischen Ladung aufgrund der Überadsorption der Polymerionen. So wird, falls die sich ergebende Anordnung in einer Lösung einer Substanz mit einer elektrischen Ladung eingetaucht wird, die derjenigen der Polymerionen entgegengesetzt ist, beispielsweise in eine wässerige Lösung eines Proteins, aufgrund der Ladungsneutralisierung und der Überadsorption eine neue elektrische Ladung auf der Oberfläche erzeugt. Die Wiederholung dieses Verfahrens ermöglicht die wechselweise Schichtenbildung solcher Substanzen wie Polymerionen und Proteine in einer gewünschten Reihenfolge und im wesentlichen in einer unbestimmten Weise. Das Ausmaß der Überadsorption bei jedem Schritt wird durch die Ladungssättigung begrenzt und so wird eine begrenzte Menge der Polymerionen an der Oberfläche bei jedem Schritt fixiert. Dieses Verfahren wird vorteilhafterweise auf einfache Weise ohne den Bedarf an komplizierten Vorrichtungen durchgeführt. Das Verfahren ist auch von Vorteil, da es bei der Fixierung von leicht denaturierbaren Molekülen wie Proteinen brauchbar ist, weil eine Lösung einer solchen Substanz direkt verwendet werden kann. Die wechselweise schichtweisen Aufbringungsverfahren ist jedoch nicht auf die Herstellung eines

ultradünnen Films anwendbar, der aus nichtflexiblen (starren), funktionellen Molekülen besteht, wobei ein nichtflexibles oder starres, funktionelles Molekül als funktionelles Molekül definiert werden kann, das nicht imstande ist, seine Konfiguration (besondere Anordnungen von Atomen in dem Molekül) in Übereinstimmung mit der fixierten elektrischen Ladung der Oberfläche, auf die das Molekül adsorbiert werden soll, zu ändern. Dieses Verfahren ist beispielsweise nicht immer bei der Herstellung eines ultradünnen Films durch schichtweise Anordnung funktioneller Moleküle mit einem niedrigen Molekulargewicht brauchbar, da das Verfahren auf der Stabilisierung aufgrund von Mehrstellenbindungen beruht. Obgleich einige Fälle zu finden sind, bei denen das wechselweise schichtweise Aufbringungsverfahren bei bestimmten Typen von Farbstoffen oder bolaamphiphilen Lipiden angewandt wird, müssen für eine stabile schichtweise Anordnung solche Substanzen mit einem niedrigen Molekulargewicht imstande sein, sich miteinander zu verbinden, um sich auf eine den Polymerionen ähnliche Weise zu verhalten.

Aufgabenstellung

[0006] So kann das wechselweise schichtweise Aufbringungsverfahren nicht immer auf eine Vielzahl funktioneller Moleküle niedrigen Molekulargewichts angewandt werden. Des weiteren kann es, selbst wenn Proteine als funktionelle Moleküle verwendet werden, insbesondere bei der schichtweisen Anordnung von Enzymen wie Glucoseoxidase, Fälle geben, bei denen aufgrund der Verbindung solcher Moleküle miteinander in einer wässerigen Lösung keine Monoschicht gebildet wird. Deshalb ist eine Verbesserung bei dem wechselweisen schichtweisen Aufbringungsverfahren notwendig, um es für einen größeren Bereich funktioneller Moleküle durch Ausschaltung der vorstehend angegebenen Probleme, wie der Verbindung der Moleküle, anwendbar zu machen.

Stand der Technik

[0007] Die Druckschrift JP 08245815 A offenbart ein herkömmliches Herstellungsverfahren für einen dünnen Proteinfilm, wobei ein Substrat mit fester Ladung abwechselnd in zwei Lösungen eingebracht wird, wobei es sich bei der einen Lösung um eine Proteinlösung und bei der anderen Lösung um eine Lösung von organischen Polymerionen handelt, die eine Ladung entgegengesetzt zu derjenigen des Proteins aufweist. Auf diese Weise wird ein Dünnfilm, bestehend aus Schichten aus organischem Polymerionen und Schichten aus Proteinen erzeugt.

[0008] Dokument JP 04101837 A offenbart ebenfalls ein Herstellungsverfahren für einen Proteinfilm, wobei auf eine Substratplatte mittels Adsorption abwechselnd eine Schicht aus Polymermaterial und ebenfalls eine Proteinschicht aufgebracht wird.

[0009] Die vorliegende Erfindung beruht auf der Feststellung, daß die vorstehend erwähnten Probleme mit Bezug auf das wechselweise schichtweise Aufbringungsverfahren durch das vorherige Mischen (Vormischen) funktioneller Moleküle mit Polymerionen in einer Lösung und dann dem Durchführen der wechselweisen Schichtenbildung unter Verwendung der sich ergebenden Lösung gelöst werden kann.

[0010] Die vorliegende Erfindung schafft so ein Verfahren zur Herstellung eines funktionellen, dünnen Films, welches umfaßt das Eintauchen eines festen Trägers mit einer elektrischen Ladung in eine (erste) gemischte Lösung aus Polymerionen und funktionellen Molekülen mit einer elektrischen Nettoladung, die entgegengesetzt zu derjenigen des festen Trägers ist, gefolgt von dem Eintauchen des festen Trägers in eine (erste) Polymerionenlösung mit einer elektrischen Nettoladung, die entgegengesetzt derjenigen der (ersten) gemischten Lösung aus Polymerionen und funktionellen Molekülen ist oder alternativ das Eintauchen eines festen Trägers mit einer elektrischen Ladung in eine (zweite) Polymerionenlösung mit einer elektrischen Nettoladung, die entgegengesetzt derjenigen des festen Trägers ist, gefolgt von dem Eintauchen des festen Trägers in eine (zweite) gemischte Lösung aus Polymerionen und funktionellen Molekülen, die eine elektrischen Nettoladung hat, die derjenigen der (zweiten) Polymerionenlösung entgegengesetzt ist, und Wiederholen dieser Eintauchschritte des festen Trägers in der Ionenlösung mit beigemischtem Polymer und der gemischte Lösung aus Polymerionen und funktionellen Molekülen zur Bildung des gewünschten dünnen Mehrschichtenfilms.

[0011] Bei einem weiteren Aspekt der vorliegenden Erfindung wird ein neuer funktioneller dünner Film geschaffen, der mehrere Schichten von nichtflexiblen, funktionellen Molekülen und mehrere Schichten von Polymerionen enthält, die an einem festen Träger fixiert sind, wobei der Film nach den erfindungsgemäßen Verfahren hergestellt ist und wobei ein nicht flexibles, funktionelles Molekül ein funktionelles Molekül ist, das nicht imstande ist, seine Konfiguration in Übereinstimmung mit einer fixierten elektrischen Ladung einer Oberfläche, auf die das Molekül adsorbiert werden soll, zu ändern. Bis jetzt war es nicht möglich, solche dünnen Filme auf

irgendeine Weise herzustellen

[0012] In den Zeichnungen zeigen:

[0013] **Fig.** 1 QCM-Frequenzänderungen, die bei dem wechselweisen schichtweisen Anordnen in den Beispielen 1 bis 4 beobachtet werden,

[0014] **Fig.** 2 QCM-Frequenzänderungen, die bei dem wechselweisen schichtweisen Anordnen in den Beispielen 3 und 4 beobachtet werden,

[0015] **Fig.** 3 die UV-Spektren, die in den Beispielen 8 bis 10 beobachtet werden,

[0016] **Fig.** 4 QCM-Frequenzänderungen, die bei dem wechselweisen schichtweisen Anordnen in den Beispielen 35 und 36 beobachtet werden,

[0017] **Fig.** 5 eine Erhöhung der UV-Extinktion bei 665 nm, die in Beispiel 37 beobachtet wird,

[0018] **Fig.** 6 QCM-Frequenzänderungen, die bei dem wechselweisen schichtweisen Anordnen in den Beispielen 38 und 39 beobachtet werden,

[0019] **Fig.** 7 die UV-Spektren, die in den Beispielen 40 und 41 beobachtet werden, und

[0020] **Fig.** 8 QCM-Frequenzänderungen, die bei dem wechselweisen schichtweisen Anordnen in Beispiel 42 beobachtet werden.

[0021] Erfindungsgemäß wird ein ultradünner Film mit einer Dicke in einer molekularen Größenordnung aus einer Vielzahl von Molekülen geschaffen, die in einem Bereich von Molekülen mit niedrigen bis Molekülen mit hohem Molekulargewicht liegen durch das schichtenweise Aufbringen solcher Moleküle in der gewünschten Anzahl und in der gewünschten Reihenfolge.

[0022] Das herkömmliche Verfahren zur wechselweisen schichtweisen Aufbringung beruht auf dem vorstehend erwähnten Prinzip. Bei der vorliegenden Erfindung ermöglicht es die Wahl der gemischten Lösung aus Polymerionen und funktionellen Molekülen statt einer einfachen Polymerionenlösung, nichtflexible oder starre funktionelle Moleküle in irgendeiner gewünschten Anzahl und in irgendeiner gewünschten Reihenfolge der Schichten schichtweise aufzubringen, um einen ultradünnen Film einer molekularen Größenordnung zu bilden, während es schwierig gewesen ist, solche Moleküle bei den herkömmlichen Verfahren schichtweise anzuordnen, da diese für die Verbindung miteinander empfänglich sind, insbesondere im Fall von Proteinen.

[0023] Wie aus dem vorstehend angegebenen Prinzip ersichtlich, können erfindungsgemäß die gemischte Lösungen aus Polymerionen und funktionellen Molekülen direkt bei der Herstellung von Filmen verwendet werden, und folglich wird die Zersetzung oder Denaturierung solcher funktioneller Moleküle verhindert. So schafft das erfindungsgemäße Verfahren zum Fixieren funktioneller Moleküle eine bemerkenswerte Technik zum Aufbau neuer funktioneller Materialien in starkem Gegensatz zu den bisher vorgeschlagenen Verfahren zur Fixierung funktioneller Moleküle, bei denen chemische Modifikationen der Moleküle erforderlich sind oder die Denaturierung der Moleküle auftritt und die intrinsischen Funktionen solcher Moleküle verschlechtert.

[0024] Das erfindungsgemäße Verfahren kann auf eine große Vielzahl von funktionellen Molekülen angewandt werden, da die Moleküle nur mit Polymerionen gemischt werden müssen, um gemischte Lösungen zu bilden, und nicht mit einer spezifischen funktionellen Gruppe modifiziert werden müssen, um für die schichtweise Aufbringung spezifische Eigenschaften zu entwickeln. Selbst Materialien, die im allgemeinen schwierig zu isolieren sind, können beispielsweise einfach durch Mischen mit Polymerionen in Lösungen schichtweise aufgebaut werden. Des weiteren können seltene Materialien, die im allgemeinen in einer extrem kleinen Menge vorkommen, in der Form gemischter Lösungen mit Polymerionen verwendet werden.

[0025] Die vorliegende Erfindung ist auch vorteilhaft, da verschiedene Typen funktioneller Moleküle in Kombination verwendet und in irgendeiner gewünschten Reihenfolge fixiert werden können, um äußerst brauchbare Verbundmaterialien mit Mehrfachfunktionen aufzubauen.

[0026] Erfindungsgemäß werden im allgemeinen flexible, organische Polymerionen als Matrizen für die Fixierung verwendet, und so wird eine Massendiffusion durch die dünnen Filme im Vergleich dazu erleichtert, wenn

starre Komponenten wie Lipide als Matrizen verwendet werden. Es ist jedoch zu beachten, daß erfindungsgemäß auch starre, organische oder anorganische Polymerionen als Fixierungsmatrizen verwendet werden können.

[0027] Das erfindungsgemäße Verfahren zur Herstellung dünner Filme kann auf eine extrem leichte Weise in einer kurzen Zeitspanne (durchgeführt werden, indem einfach feste Träger in die gemischte Lösung aus Polymerionen und funktionellen Molekülen ohne den Bedarf an komplizierten Vorrichtungen eingetaucht werden. So können alle Arten fester Materialien als Träger ausgewählt werden, um Systeme zu erzeugen, die aufgrund der Träger mit zusätzlichen Funktionen ausgestattet sind.

[0028] Die Erfindung wird jetzt spezifischer beschrieben.

[0029] Bei der vorliegenden Erfindung zu verwendende Polymerionen können als organische Polymere mit funktionellen Gruppen mit einer elektrischen Ladung auf ihren Molekülgerüsten oder -zweigen oder anorganische Polymere mit einer elektrischen Ladung beschrieben werden. Brauchbare Polyanionen (anionische Polymerionen) sind im allgemeinen solche, die solche funktionellen Gruppen wie Sulfonsäure, Schwefelsäure und Carbonsäure aufweisen, die negativ geladen sind und Poly(styrolsulfonat) (PSS), Poly(vinylsulfat) (PVS), Dextransulfat, Chondroitinsulfat, Poly(acrylsäure) (PAA), Poly(methacrylsäure) (PMA), Poly(maleinsäure), Poly(fumarsäure) und Montmorillonit (Mont). Brauchbare Polykationen (kationische Polymerionen) sind solche, die solche funktionellen Gruppen wie eine quaternäre Ammoniumgruppe und Aminogruppe aufweisen, die positiv geladen sind, und umfassen Poly(ethylenimin) (PEI), Poly(allylaminhydrochlorid) (PAH), Poly(diallyldimethylammoniumchlorid) (PPDDA), Poly(vinylpyridin) (PVP) und Poly(lysin). Diese Polymerionen sind alle in Wasser oder einer Mischung von Wasser und organischem Lösungsmittel löslich. Elektrisch leitfähige Polymere, funktionelle Polymerionen wie diejenigen von Poly(anilin-N-propansulfonsäure) (PAN) und Biopolymere wie Desoxyribonucleinsäure (RNA) und Polysaccharid mit einer elektrischen Ladung (beispielsweise Pectin) sind auch brauchbar. Starre, organische Polymerionen wie diejenigen, die von Polythiophen, Polyanilin und Poly(phenylenvinylen) abgeleitet sind, können auch erfindungsgemäß verwendet werden.

[0030] Alle Arten von funktionellen Molekülen sind bei der vorliegenden Erfindung verwendbar so lange solche Moleküle in einer Lösung zusammen mit den vorstehend beispielhaft angegebenen Polymerionen löslich sind.

[0031] Nicht nur solche funktionellen Moleküle wie sie herkömmlicherweise bei dem wechselweisen schichtweisen Aufbringungsverfahren verwendet werden, sondern auch verschiedene Arten von nichtflexiblen, funktionellen Molekülen, deren schichtweises Aufbringen bisher unmöglich war, können bei der vorliegenden Erfindung verwendet werden, wodurch der Aufbau einer Vielzahl von neuen funktionellen dünnen Filmen ermöglicht wird.

[0032] Beispiele von geeigneten funktionellen Molekülen umfassen Proteine wie Glucoseoxidase (GOD; Molekulargewicht 18600, isoelektrischer Punkt 4,2), Peroxidase (POD; Molekulargewicht 42000, isoelektrischer Punkt 7,2), Glucoamylase (GA; Molekulargewicht 100.000, isoelektrischer Punkt 4,2), Alkoholdehydrogenase (ADH; Molekulargewicht 100,000, isoelektrischer Punkt 9), Diaphorase (DA, Molekulargewicht 700,000, isoelektrischer Punkt 4), Cytochrom (Cyt; Molekulargewicht 12400, isoelektrischer Punkt 10,1), Lysozym (lys; Molekulargewicht 14000, isoelektrischer Punkt 11), Histon f3 (His; Molekulargewicht 15300, isoelektrischer Punkt 11); Myoglobin (Mb, Molekulargewicht 17800; isoelektrischer 7,0) und Hämoglobin (Hb, Molekulargewicht 64000, isoelektrischer Punkt 6,8), die für die Anwendung bei katalytischen Elementen und Sensoren geeignet sind. Brauchbare funktionelle Moleküle sind auch funktionelle Pigmente oder Farbstoffe wie Beizengelb 10 (MY 10), Beizenblau 29 (MB 29), Flavinadenindinucleotid (FAD), Congorot (CR), Tetraphenylporphintetrasulfonsäure (TPPS), Säurerot 27 (AR 27), Säurerot 26 (AR 26), Säurerot 52 (AR 52), Bismarckbraun (BB) Indigokarmin (IC) und Ponceau S (PS), die für die Anwendung bei Elektroluminiszenzelementen und anderen Anwendungen brauchbar sein können. Andere für die vorliegende Erfindung geeignete, funktionelle Moleküle reichen von Biopolymeren wie verschiedenen Rezeptorproteinen zu kleinen Molekülen.

[0033] Alle Arten von Materialien können als feste Träger bei der vorliegenden Erfindung verwendet werden, so lange solche Materialien eine elektrische Ladung auf ihrer Oberfläche besitzen (beispielsweise Silber mit einer anionischen Oberfläche, Glas oder Quarz mit einer anionischen Oberfläche und Polymerfilme mit einer Oberflächenladung) oder imstande sind, mit einer elektrischen Ladung versehen zu werden wie Gold (das aufgrund der Absorption einer Substanz wie Mercaptopropionsäure mit einer Oberflächenladung versehen werden kann) und eine Vielzahl von Elektroden. Die erfindungsgemäße Fixierung oder Selbstanordnung beruht auf dem einfachen Adsorptionsmechanismus. Deshalb ist es nicht unerläßlich, daß die Träger eine geglättete

Oberfläche aufweisen, und eine Vielzahl von Materialien kann dafür ausgewählt werden. Poröse feste Materialien wie Filter, pulverförmige oder teilchenförmige Materialien wie Kieselgel und harzartige Materialien in der Form von Perlen sowie feste Träger mit glatter Oberfläche können beispielsweise verwendet werden.

[0034] Während sowohl die gemischte Lösung aus Polymerionen und funktionellen Molekülen als auch die Polymerionenlösung, die bei der vorliegenden Erfindung zu verwenden sind, im Grunde wässerige Lösungen sind, können sie mit Lösungen mit organischen Lösungsmitteln in Abhängigkeit von der Löslichkeit der Polymerionen und der funktionellen Moleküle gemischt werden. Die Konzentrationen der Lösungen werden durch die Löslichkeit der funktionellen Moleküle und der Polymerionen bestimmt, wobei keine strikte Konzentrationsanpassung notwendig ist, da die Absorptionsschritte auf der Neutralisierung und erneuten Sättigung der Oberflächenladung beruhen. Während die Konzentrationen bei 5 bis 10 mg/ml für ein funktionelles Molekül und bei 1 bis 3 mg/ml für ein Polymerion liegen, sind sie nicht auf diese Bereiche beschränkt. Falls erforderlich, kann ein Puffermedium oder eine chemische Substanz wie HCl zugegeben werden, um den pH-Wert der Lösungen zu regeln und um die Polymerionen ausreichend zu laden.

[0035] Das erfindungsgemäße Verfahren zur Herstellung eines dünnen Films wird im allgemeinen mit dem abwechselnden Eintauchen eines festen Trägers in zwei unterschiedliche Arten von organischen Polymerionenlösungen begonnen, wobei die eine polykationische Lösung und die andere eine polyanionische Lösung ist, um Schichten der flexiblen Polymerionen auf dem Träger zu bilden, wobei die äußerste eine organische Polymerionenschicht mit einer elektrischen Ladung ist, die der einer gemischten Lösung aus funktionellen Molekülen und Polymerionen entgegengesetzt ist.

[0036] Der so vorab beschichtete Träger wird dann (i) in die gemischte Lösung aus Polymerionen und funktionellen Molekülen getaucht, gefolgt von (ii) Spülen, (iii) Eintauchen in eine Polymerionenlösung oder in die gemischte Lösung auf Polymerionen und funktionellen Molekülen und (iv) Spülen. Die Schritte (i) bis (iv) werden so oft wie gewünscht wiederholt, um einen ultradünnen Mehrschichtenfilm, der die funktionellen Moleküle enthält, zu erzeugen.

[0037] Bei allen Schritte, muß Sorge getragen werden, daß sichergestellt wird, daß die elektrischen Nettoladungen der Lösungen, die für benachbarte oder angrenzende Schichten verwendet werden, entgegengesetzt zu einander sind. Insbesondere sind die in der gemischten Lösung aus Polymerionen und funktionellen Molekülen verwendeten Polymerionen und die in der Polymerionenlösung verwendeten Polymerionen unterschiedliche Polymerionen mit entgegengesetzten elektrischen Ladungen. Dies führt zu dem Aufbau eines dünnen Mehrschichtenfilms mit Selbstanordnung, bei dem die funktionelle Molekülschicht im wesentlichen zwischen den beiden unterschiedlichen Arten von Polymerionen mit entgegengesetzten elektrischen Ladungen sandwichartig angeordnet ist.

[0038] Die bei der gemischten Lösung aus Polymerionen und funktionellen Molekülen verwendeten Polymerionen und die bei der Polymerionenlösung verwendeten Polymerionen können solche mit der gleichen elektrischen Ladung sein – nicht nur die gleichen Polymerionen mit der gleichen elektrischen Ladung, sondern auch unterschiedliche Polymerionen mit der gleichen elektrischen Ladung. Negativ geladene, funktionelle Moleküle werden beispielsweise mit positiv geladenen Polymerionen zur Herstellung einer gemischten Lösung aus Polymerionen und funktionellen Molekülen gemischt (vorgemischt), bei der die Konzentration der Polymerionen relativ gering ist, so daß die sich ergebende, gemischte Lösung eine negative, elektrische Nettoladung aufweist, während eine Polymerionenlösung mit einer positiven Nettoladung aus den gleichen Polymerionen hergestellt wird, die bei der gemischten Lösung aus Polymerionen und funktionellen Molekülen verwendet wird. So führt das wechselweise Eintauchen eines festen Trägers in eine solche gemischte Lösung aus Polymerionen und funktionellen Molekülen und eine Polymerionenlösung zu dem Aufbau eines funktionellen, dünnen Films, der aus Mehrfachschichten der funktionellen Moleküle und Polymerionen besteht.

[0039] Die Bildung des erfindungsgemäßen funktionellen, dünnen Films kann leicht durch geeignete analytische Mittel bestätigt werden, unter denen ein Quarzoszillator besonders bevorzugt ist. Der Quarzoszillator, der als Quarzkristall-Mikrowaage (QCM) bekannt ist, ist eine Vorrichtung, die aufgrund einer Anderung ihrer Frequenz die Bestimmung der Masse oder des Gewichts einer darauf adsorbierten Substanz mit einer Genauigkeit von 10–9 g ermöglicht. Das Vorhandensein oder der Einschluß von funktionellen Molekülen in den dünnen Filmen kann durch spektroskopische Verfahren, beispielsweise durch spektrale UV-Messungen bestätigt werden.

[0040] Die erfindungsgemäßen dünnen Filme können in einem Reaktionssystem ohne den Bedarf an komplizierten Geräten verwendet werden. Wenn ein erfindungsgemäßer dünner Film beispielsweise als enzymati-

sches Element in einem flüssigen Reaktionssystem verwendet werden soll, wird der feste Träger mit darauf fixierten, funktionellen Schichten einfach in eine Lösung eingeführt, die das Substrat für die enzymatische Reaktion enthält.

[0041] Die vorliegende Erfindung wird nachstehend detaillierter mit Hilfe von Beispielen beschrieben, die die Erfindung in keiner Weise eingrenzen.

Ausführungsbeispiel

Beispiele 1–4: Schichtweise Aufbringung und Fixierung des MY10 Farbstoffs

[0042] Die Beispiele 1 bis 4 zeigen, wie die vorliegende Erfindung das Verfahren zum wechselweisen schichtweisen Aufbringen für den Aufbau funktioneller, dünner Filme verbessert. Bei diesen Beispielen wurde MY10 Farbstoff auf eine Quarzkristall-Mikrowaage mit einer Silberelektrodenbeschichtung darauf als festen Träger zur Bildung eines ultradünnen Films fixiert oder angeordnet. Die Oberfläche der Silberelektrode (Oberflächenbereich: 0,2 cm^2) war aufgrund von Teiloxidation negativ geladen. Auf den mit der Silberelektrode beschichteten Quarzkristall wurden wechselweise mehrere Schichten von Polykationen und Polyanionen als Vorläuferbeschichtung fixiert, auf der MY10 aus einer gemischten Lösung aus Polymerionen und MY10 erfindungsgemäß adsorbiert wurde. Für Vergleichszwecke wurden auch ein wechselweises schichtweises Aufbringen von MY10 und PDDA-Polykationen (Beispiel 1) und auch ein wechselweises schichtweises Aufbringen von PSS-Polyanionen und PDDA-Polykationen gemäß dem herkömmlichen Verfahren durchgeführt.

[0043] Fig. 1 zeigt die bei diesen Beispielen beobachten QCM-Frequenzänderungen. Wie aus dem Ergebnis von Beispiel 2 (Vergleichszwecke) ersichtlich erzeugte eine wechselweise Schichtenbildung von entgegengesetzt geladenen Polymerionen eine sich regelmäßig erhöhende Frequenzänderung, was auf ein regelmäßiges Wachstum des Films hinweist. Im Fall des Beispiels 1 (Vergleichszwecke), bei dem MY10, ein Molekül geringen Molekulargewichts, zusammen mit den Polymerionen verwendet wurde, wurden jedoch abwechselnde Erhöhungen und Verringerungen der Filmmasse beobachtet, was darauf hindeutet, daß der Aufbau eines ultradünnen Films, der aus MY10 besteht, mit dem herkömmlichen Verfahren des wechselweisen schichtweisen Aufbringens nicht durchführbar ist.

[0044] In dem erfindungsgemäßen Beispiel 3 wurden MY10 und PSS in einem Verhältnis von [MY10]/[PSS] = 1 mM/15 mM zur Bildung einer gemischten Lösung vorgemischt, gefolgt von dem wechselweisen schichtweisen Aufbringen durch wechselweises Eintauchen des mit dem Vorläufer beschichteten Trägers in die gemischte Lösung und eine PDDA-Lösung.

[0045] In dem erfindungsgemäßen Beispiel 4 wurden MY10 und PSS in einem Verhältnis von [MY10]/[PSS] = 10 mM/15 mM gemischt oder vorgemischt, um eine gemischte Lösung zu bilden, gefolgt von dem wechselweisen schichtweisen Aufbringen durch wechselweises Eintauchen des mit Vorläufer beschichteten Trägers in die gemischte Lösung und die PDDA-Lösung. Fig. 1 gibt auch die Frequenzänderungen für diese Adsorptionsverfahren an, die alle ein sehr regelmäßiges Wachstum des Films zeigen. Da die Filmwachstumsraten in Beispiel 3 und 4 deutlich höher waren als die in Beispiel 2, in dem PSS und PDDA verwendet wurden, ist es klar, daß MY10 in den Filmen von Beispiel 3 und 4 enthalten ist. Es wird auch beobachtet, daß die Filmwachstumsrate im Beispiel 4 höher war als im Beispiel 3, was darauf hindeutet, daß die Filmwachstumsrate desto höher ist, je höher der Anteil von MY10 in der gemischten Lösung ist. Dies bestätigt auch, daß die erhöhte Wachstumsrate des Films in Beispiel 3 und 4 auf der größeren Menge an MY10-Adsorption beruht. Diese Ergebnisse zeigen so, daß das Mischen von MY10-Farbstoff mit PSS vor dem Schritt der wechselweisen schrittweisen Anordnung das Wachstum der Filme mit regelmäßig geschichteten Strukturen ermöglicht, die nie durch das herkömmliche Verfahren der wechselweisen schichtweisen Aufbringung herstellbar waren.

Beispiele 5 und 6

Untersuchungen bezüglich der Ionenstärke und der Dielektrizitätskonstante

[0046] In Beispiel 5 wurde ein wechselweises schichtweises Anordnen durch abwechselndes Eintauchen des festen Trägers in eine wässerige MY10 Lösung und in eine wässerige PDDA-Lösung versucht, die beide 1M NaCl enthielten. In Beispiel 6 wurde auch das wechselweise schrittweise Anordnen durch das wechselweise Eintauchen des Trägers in eine wässerige MY10 Lösung und in eine wässerige PDDA-Lösung, die beide 50% Aceton enthielten, versucht. Fig. 2 zeigt die QCM-Frequenzänderungen für diese Beispiele, wobei eine abwechselnde Erhöhung und Verringerung der Filmmasse beobachtet wurde, was darauf hindeutet, das kein

wirksames Filmwachstum erzielt wurde. So wird bestätigt, daß die einfache Änderung der Ionenstärke oder der Dielektrizitätskonstante in der Lösung keine Verbesserung im Vergleich zu dem herkömmlichen Verfahren bringt.

Beispiel 7 bis 10: Bestätigung des Einschlusses von MY10

[0047] Diese Beispiele sollen bestätigen, daß die MY10-Moleküle tatsächlich in den Filmen einer geschichteten Struktur enthalten oder vorhanden sind, die durch das erfindungsgemäße Verfahren erhalten wurde. Wie bei dem vorstehend angegebenen Beispiel 4 wurde eine gemischte MY10/PSS-Lösung [MY10]/[PSS] 10 mM/15 mM für ein wechselweises schichtweises Anordnen durch wechselweises Eintauchen des festen Trägers in die gemischte Lösung und die PDDA Lösung hergestellt. Wechselweise geschichtete Filme, die sich in der Anzahl der Schichten unterschieden, wurden für die spektrale UV-Messung hergestellt. **Fig. 3** zeigt die Spektren der Filme mit 0, 1, 5 und 10 Schichten von MY10, die als Beispiel 7, 8, 9 bzw. 10 bezeichnet sind. Die Absorptionsspitzen werden bei etwa 350 nm in den Spektren der Filme mit der (den) Farbstoffschicht(en) wie erwartet beobachtet, was die Fixierung der MY10 Moleküle innerhalb der Filme angibt. Es wurde auch gefunden, daß die Spitzenintensität mit zunehmender Anzahl der Schichten zunimmt.

[0048] So bestätigen die Ergebnisse zusammen mit den in **Fig. 1** gezeigten QCM-Daten, daß das erfindungsgemäße Verfahren bei dem Wachstum der Filme wirksam ist.

Beispiele 11 bis 20: Schichtweise Aufbringung und Fixierung von verschiedenen Farbstoffmolekülen

[0049] Diese Beispiele zeigen die Anwendbarkeit der vorliegenden Erfindung auf eine Vielzahl von Farbstoffmolekülen. Unterschiedliche Typen von Farbstoffmolekülen wurden durch Verfahren der wechselweise schichtweisen Aufbringung schichtweise aufgebracht, um eine quantitative Untersuchung des Filmwachstums mittels der Quarzkristall-Mikrowaage durchzuführen. Die Ergebnisse sind als durchschnittliche Frequenzänderungen für die jeweiligen Farbstoffe wie in Tabelle 1 angegeben ausgedrückt.

[0050] Die Beispiele 11, 12, 16 und 18 sind Filme, bei denen PSS und PDDA, MY10 und PDDA, FAD und PDDA und MB29 und PDDA jeweils durch die herkömmliche Technik der wechselweisen schichtweisen Aufbringung schichtweise aufgebracht wurden. Außer bei Beispiel 11, bei dem zwei unterschiedliche Polymerionen für die wechselweise schichtweise Aufbringung verwendet wurden, wurde eine Verringerung oder nur eine geringe Erhöhung der Filmmasse bei jedem Schritt der Kationenadsorption und/oder Anionenadsorption beobachtet, was auf die Nichtverwendbarkeit der herkömmlichen wechselweisen Technik bei MY10, FAD oder MB29 hindeutet.

[0051] Im Gegensatz hierzu wurde im Fall der Beispiele 13 und 14, bei denen eine gemischte MY10/PSS-Lösung verwendet wurde, des Beispiels 17, bei dem eine gemischte FAD-PSS Lösung verwendet wurde, und des Beispiels 20, bei dem eine gemischte MB29/PDDA-Lösung erfindungsgemäß verwendet wurde, eine klare Erhöhung der Filmmasse bei jedem Schritt der Anionenadsorption und der Kationenadsorption beobachtet, was auf Filmwachstum hindeutet. Die Frequenzänderungen bei diesen Beispielen waren höher als diejenigen bei der wechselweisen schichtweisen Aufbringung von PSS und PDDA, was anzeigt, daß die Farbstoffmoleküle wirksam innerhalb der Filme fixiert waren.

[0052] Die Ergebnisse zeigen so, daß eine Vielzahl von Farbstoffmolekülen wie diejenigen, bei denen das schichtweise Aufbringen zur Bildung eines Films durch das herkömmliche Verfahren des schichtweisen Aufbringens schwierig gewesen ist, durch Vormischen solcher Farbstoffe mit Polymerionen gemäß der vorliegenden Erfindung erfolgreich schichtweise aufgebracht und angeordnet werden können.

[0053] Es mag Fälle geben, bei denen kein ausreichendes Filmwachstum erhalten wird wie in Beispiel 15 mit dem gemischten MY10/PDDA und in Beispiel 19 mit MB29/PSS. Dies deutet darauf hin, daß die jeweiligen Farbstoffe mit den entsprechenden, geeigneten, kompatiblen Polymerionen gemischt werden sollten.

Tabelle 1

	Anionen-komponente	Frequenz-änderung (Hz)	Kationen-komponente	Frequenz-änderung (Hz)
Beispiel 11	15 mM PSS	53	19 mM PDDA	50
Beispiel 12	1 mM MY10	105	1,9 mM PDDA	-48
Beispiel 13	1 mM MY10/15 mM PSS	163	19 mM PDDA	55
Beispiel 14	10 mM MY10/15 mM PSS	188	19 mM PDDA	133
Beispiel 15	15 mM PSS	24	10 mM MY10/19 mM PDDA	7
Beispiel 16	1 mM FAD	156	1,9 mM PDDA	-32
Beispiel 17	10 mM FAD/15 mM PSS	117	19 mM PDDA	29
Beispiel 18	1 mM MB29	-2	1,9 mM PDDA	10
Beispiel 19	10 mM MB29/15 mM PSS	24	19 mM PDDA	34
Beispiel 20	15 mM PSS	83	10 mM MB29/19 mM PDDA	75

Tabelle 2

	Anionen-komponente	Frequenz-änderung (Hz)	Kationen-komponente	Frequenz-änderung (Hz)
Beispiel 21	1 mg/ml GOD	2330	1 mg/ml PEI	52
Beispiel 22	0,5 mg/ml GOD	2125	1 mg/ml PEI	50
0Beispiel 23	0,005 mg/ml GOD	670	1 mg/ml PEI	44
Beispiel 24	0,5 mg/ml GOD/1 mg/ml PSS	482	1 mg/ml PEI	45
Beispiel 25	0,05 mg/ml GOD/1 mg/ml PSS	468	1 mg/ml PEI	33
Beispiel 26	1 mg/ml PSS	130	0,5 mg/ml GOD/1 mg/ml PEI	382
Beispiel 27	1 mg/ml PSS	149	0,05 mg/ml GOD/1 mg/ml PEI	185
Beispiel 28	1 mg/ml PSS	110	1 mg/ml PEI	40

Beispiele 21–28: Schichtweise Aufbringung und Fixierung der Proteine

[0054] Die Beispiele 21 bis 28 wurden durchgeführt, um die Anwendbarkeit der vorliegenden Erfindung zum Aufbau von Filmen, die aus Proteinen bestehen, zu untersuchen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengefaßt.

[0055] Die Beispiele 21 und 22 sind für Filme angegeben, die durch das herkömmliche Verfahren zum wech-

selweisen schichtweisen Aufbringen hergestellt werden, bei denen das GOD-Enyzm abwechselnd mit PEI schichtweise aufgebracht wurde. Bei diesen Beispielen wird eine sehr grobe Frequenzänderung bei jedem Adsorptionsschritt beobachtet, der einer gleichzeitigen schichtweisen Aufbringung von 3 bis 4 GOD-Schichten entspricht, was darauf hindeutet, daß GOD in der Form von mehrfach geschichteten und verbundenen Molekülen angeordnet wurde.

[0056] Im Gegensatz hierzu wurde bei den Beispielen 23 und 24, bei denen eine gemischte GOD/PSS-Lösung für das wechselweise schichtweise Aufbringen mit PEI verwendet wurde, und auch bei den Beispielen 25 und 26, bei denen eine gemischte GOD/PEI-Lösung für das wechselweise schichtweise Aufbringen mit PSS verwendet wurde, festgestellt, daß die sich aus der GOD-Adsorption ergebenden Frequenzänderungen relativ gering waren. Gleichzeitig sind solche Frequenzänderungen signifikant größer als diejenigen in Beispiel 27 und 28, bei denen das wechselweise schichtweise Aufbringen unter Verwendung von PSS und PEI durchgeführt wurde. So wurde bestätigt, daß in den Filmen der Beispiele 23 bis 26 GOD-Moleküle ohne das Auftreten der Verbindung von Molekülen durch Vormischen (Mischen) von GOD mit Polymerionen schichtweise aufgebracht und fixiert werden.

Beispiele 29–34: Enzymreaktion unter Verwendung der dünnen Filme

[0057] Die Beispiele 29 bis 34 sollen Enzymreaktionen veranschaulichen, die durch Eintauchen der in den vorstehend beschriebenen Beispielen 21 bis 27 erhaltenen Filme in eine wässerige Lösung durchgeführt wird, die Glucose, POD und DA67 (ein Redox-Enzym), enthält. Bei Fortschreiten der Reaktion wurde DA67 oxidiert, was zu einer erhöhten Absorption bei 665 nm führte. Diese spektrale Änderung im Verlauf der Zeit ist ein Anzeichen von Enzymaktivität. So wurden die relativen Enzymaktivitäten pro Einheitsgewicht des Enzyms für die jeweiligen Fälle bestimmt, bei denen die Enzymaktivität des Films von Beispiel 29 als Standard verwendet wurde. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 angegeben.

Tabelle 3

	Verwendeter Film	Relative Aktivität
Beispiel 29	Beispiel 21	1,000
Beispiel 30	Beispiel 22	0,998
Beispiel 31	Beispiel 23	0,995
Beispiel 32	Beispiel 24	1,958
Beispiel 33	Beispiel 25	7,407
Beispiel 34	Beispiel 26	7,284
Beispiel 35	Beispiel 27	67,44

[0058] Bei den Beispielen 29 und 30 wurden die Filme verwendet, die durch das herkömmliche Verfahren des wechselweisen schichtweisen Aufbringens hergestellt wurden, wobei der Film in Beispiel 30 aus einer Lösung mit einer geringeren GOD-Konzentration im Vergleich zu dem Film von Beispiel 29 hergestellt wurde. Es wurde keine Erhöhung der relativen Aktivität mit Bezug auf Beispiel 30 beobachtet. Es ist klar angegeben, daß die Verwendung einer gemischten Lösung zu einer Verbesserung der Enzymaktivität führt wie in Beispiel 23 und 24 ersichtlich ist, wobei gemischte GOD/PSS-Lösungen bei dem wechselweisen schichtweisen Anordnen mit PEI verwendet wurden, und auch in den Beispielen 25 und 26, bei denen gemischte GOD/PEI-Lösungen bei dem das wechselweise schichtweise Anordnen mit PSS verwendet wurden.

[0059] Es wurde auch gefunden, daß GOD in einer geringeren Konzentration, gemischt mit den Polymerionen, eine höhere Enzymaktivität erzeugte wie aus einem Vergleich der Beispiele 31 und 32 und dem von Beispiel 33 und 34 ersichtlich ist. Dies kann so verstanden werden, daß die Verbindung der GOD-Moleküle desto wirksamer unterdrückt wird, je geringer der GOD-Anteil in der Mischung ist, und die Diffusion des Substrats wird erleichtert, was zu der Verbesserung der Enzymaktivität führt. Es wurde weiterhin festgestellt, daß das Mischen des Enzyms mit entgegengesetzt geladenen Polymerionen in einer Lösung zu einer höheren relativen Aktivität führte, wie aus einem Vergleich von Beispiel 31 und 33 und auch dem von Beispiel 32 und 34 ersicht-

lich ist. So wurde gezeigt, daß das Mischen eines Enzyms mit einem Polymerion, was eine stärkere Wechselwirkung mit dem Enzym ausübt, aufgrund der Unterdrückung der Verbindung der Enzymmoleküle zu einer erhöhten Aktivität führt.

Beispiele 35–37

[0060] Das wechselweise schichtweise Anordnen auf Quarzkristall wurde durchgeführt durch wechselweises Eintauchen der vorab beschichteten Quarzkristall-Mikrowaage in eine gemischte GOD/PEI-Lösung ([GOD]): [PEI] = 0,5 mg/ml – 1 mg/ml und einer Mont-Lösung (0,3 mg/ml) für Beispiel 35 und wechselweise in eine GOD-Lösung (0,5 mg/ml) und eine Mont-Lösung (0,3 mg/ml) für Beispiel 36. Die sich ergebenden Frequenzänderungen sind in Fig. 4 gezeigt. In Beispiel 36 wird kein Filmwachstum beobachtet. Der Grund hierfür ist wahrscheinlich, daß sowohl GOD als auch Mont negativ geladen waren und keine Adsorption aufgrund der elektrostatischen Wechselwirkung auftrat. Im Gegensatz hierzu wurden in Beispiel 35 die entgegengesetzt geladenen Polymerionen und GOD-Moleküle vorgemischt, um eine gemischte Lösung mit einer positiven Nettoladung zu bilden, was die wechselweisen Adsorptionen mit dem negativ geladenen Mont ermöglichte.

[0061] Dieses Beispiel bestätigt auch, daß PEI, ein in der Mischung vorhandenes, flexibles Molekül, das wechselweise schichtweise Aufbringen von GOD mit Mont (starre oder nichtflexible Moleküle) gestattete. Es wurden auch Messungen der UV-Absorption bei 665 nm mit dem in Beispiel 35 verwendeten Film für Beispiel 37 durchgeführt. Fig. 5 zeigt, daß eine regelmäßige Erhöhung der UV-Absorption im Lauf der Zeit beobachtet wurde, was auf eine unveränderliche schichtweise Aufbringung oder Selbstanordnung der GOD-Moleküle hinweist. Die betreffenden Beispiele zeigen so, daß die vorliegende Erfindung das wechselweise schichtweise Anordnen von ähnlich geladenen Materialien sowie eine wechselweise schichtweise Anordnung des Hybridtyps eines organischen und eines anorganischen Materials ermöglicht hat.

Beispiele 38–41: Wechselweises schichtweises Anordnen von mehreren nichtflexiblen Materialien

[0062] In Beispiel 38 wurde eine GOD/PEI-Mischung (GOD: 0,5 mg/ml, PEI: 1 mg/ml) für das wechselweise schichtweise Anordnen mit Mont auf der vorab beschichteten Quarzkristall-Mikrowaage hergestellt. Die sich ergebenden Frequenzänderungen sind in Fig. 6 angegeben, aus denen ersichtlich ist, daß die abwechselnden GOD-Schichten und Mont-Schichten erfolgreich gebildet sind. Bis jetzt war es unmöglich, ein wechselweises schichtweises Anordnen mit GOD und Mont durchzuführen, da beide Substanzen starr oder nichtflexibel sind. Erfindungsgemäß gestattet, daß Vormischen von GOD mit PEI das wechselweise schichtweise Anordnen von zwei solchen starren Substanzen, wobei PEI wahrscheinlich als Klebemittel dient.

[0063] In Beispiel 39 werden GOD (0,5 mg/ml) und PEI (1 mg/ml) für ein wechselweises schichtweises Anordnen mit PSS auf der Quarzkristall-Mikrowaage vorgemischt. Die sich ergebenden Frequenzänderungen sind auch in Fig. 6 angegeben, aus denen ersichtlich ist, daß die wechselweisen GOD-Schichten und PSS-Schichten erfolgreich gebildet wurden. Es war bis jetzt nicht möglich, ein wechselweises schichtweises Anordnen mit GOD und PSS durchzuführen, da diese Substanzen ähnlich geladen sind. Das Vormischen von GOD mit PEI führt möglicherweise zu der Umwandlung der negativen Ladung von GOD in eine positive Nettoladung, wodurch das wechselweise schichtweise Anordnen mit PSS, einem Polyanion gestattet wird.

[0064] In Beispiel 40 und Beispiel 41 wurde die Enzymaktivität durch jeweiliges Eintauchen des in Beispiel 38 und Beispiel 39 erhaltenen Films in Lösungen, die Glucose, POD und DA67 enthielten, und Messen der Extinktion bei 665 nm bestimmt. Die Ergebnisse sind in Fig. 7 angegeben, aus der ersichtlich ist, daß die Extinktion im Verlauf der Zeit zunimmt, was zeigt, das die Enzymaktivität von GOD wirksam innerhalb der Filmanordnungen aufrechterhalten wird.

Beispiel 42: Wechselweise schichtweise Anordnung, bestehend aus unterschiedlichen Polymerionen mit ähnlichen Ladungen

[0065] In Beispiel 42 wurde eine gemischte GOD/PEI-Lösung (GOD: 0,5 mg/ml, PEI: 0,01 mg/ml) für ein wechselweises schichtweises Anordnen mit PEI auf einer Quarzkristall-Mikrowaage hergestellt. Die sich ergebenden Frequenzänderungen sind in Fig. 8 angegeben, aus der ersichtlich ist, daß die wechselweisen GOD-Schichten und PEI-Schichten erfolgreich gebildet wurden. Bei diesem Beispiel waren die elektrischen Ladungen der gemischten Lösung durch das negativ geladene GOD dominiert, da die PEI-Konzentration relativ niedrig eingestellt war, wodurch die wechselweise schichtweise Anordnung mit dem positiv geladenen PEI ermöglicht wurde. Das erfindungsgemäße Vormischen ermöglicht es so, eine Lösung eines funktionellen Moleküls mit einer gewünschten, entweder positiven oder negativen, elektrischen Nettoladung durch Einstellen

der Konzentration des funktionellen Moleküls mit Bezug auf diejenige eines organischen Polymerions in der Lösung zu erhalten. Dies führt zu der vielseitigen Auswahl einer Substanz oder eines Materials, mit dem das funktionelle Molekül für eine wechselweise schichtweise Anordnung verwendet wird.

[0066] Wie vorstehend detailliert angegeben, werden erfindungsgemäß funktionelle Moleküle mit Polymerionen in einer Lösung für ein wechselweises schichtweises Anordnungsverfahren vorgemischt oder gemischt, wodurch funktionelle Filme erfolgreich aufgebaut werden, die aus einer Vielzahl von nichtflexiblen, funktionellen Molekülen bestehen, wie denjenigen, deren Anordnen durch das herkömmliche wechselweise schichtweise Aufbringungsverfahren schwierig war. Beispielsweise kann ein Film, der aus Schichten von Farbstoffmolekülen mit einem niedrigen Molekulargewicht besteht, ausgebildet werden. Es ist auch möglich, aus einer Enzym-/Polymerionenmischung eine geschichtete Struktur aufzubauen, bei der die Verbindung der Enzymmoleküle unterdrückt ist, damit sie eine erhöhte Enzymaktivität aufweist. Des weiteren ermöglicht es das Vormischen mit Polymerionen, die elektrische Nettoladung der funktionellen Moleküle umzuwandeln, wodurch eine wechselweise schichtweise Anordnung mit einer Substanz ermöglicht wird, die die gleiche elektrische Ladung wie die funktionellen Moleküle aufweist, wobei ein solches schichtweises Ausbringen mit dem herkömmlichen Verfahren intrinsisch unmöglich ist. Außerdem kann erfindungsgemäß eine wechselweise schichtweise Anordnung erhalten werden, die aus zwei oder mehr unterschiedlichen Arten von starren Molekülen in einem Film bestehen, durch Vormischen mit flexiblen Polymerionen, wobei es unmöglich war, eine solche Anordnung mit dem herkömmlichen Verfahren zu erhalten. Die erfindungsgemäßen Filme bestehen aus einer schichtweisen Struktur einer Vielzahl von funktionellen Molekülen, die von Molekülen mit niedrigem Molekulargewicht bis zu Polymermolekülen reichen, wobei gute Chancen zur Entwicklung solcher Vorrichtungen wie Molekularvorrichtungen und künstliche Reaktoren der neuen Generation geschaffen werden.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung eines funktionellen, dünnen Films, umfassend das Eintauchen eines festen Trägers mit einer elektrischen Ladung in eine gemischte Lösung aus Polymerionen und funktionellen Molekülen mit einer elektrischen Nettoladung, die entgegengesetzt zu derjenigen des festen Trägers ist, gefolgt von dem Eintauchen des festen Trägers in eine Polymerionenlösung mit einer elektrischen Nettoladung, die entgegengesetzt zu derjenigen der gemischten Lösung aus Polymerionen und funktionellen Molekülen ist, oder wechselweises Eintauchen eines festen Trägers mit einer elektrischen Ladung in eine Polymerionenlösung, die eine elektrische Nettoladung aufweist, die entgegengesetzt zu derjenigen des festen Trägers ist, gefolgt von dem Eintauchen des festen Trägers in eine gemischte Lösung aus Polymerionen und funktionellen Molekülen mit einer elektrischen Nettoladung, die entgegengesetzt zu derjenigen der Polymerionenlösung ist, und Wiederholen dieser Eintauchschritte des festes Trägers in die Polymerionenlösung und die gemischte Lösung aus Polymerionen und funktionellen Molekülen, um einen gewünschten dünnen Mehrschichtenfilm zu bilden.

2. Verfahren nach Anspruch 1, worin die bei der gemischten Lösung aus Polymerionen und funktionellen Molekülen verwendeten Polymerionen und die bei der Polymerionenlösung verwendeten Polymerionen unterschiedliche Polymerionen mit entgegengesetzter elektrischer Ladung sind.

3. Verfahren nach Anspruch 1, worin die bei der gemischten Lösung aus Polymerionen und funktionellen Molekülen verwendeten Polymerionen und die bei der Polymerionenlösung verwendeten Polymerionen solche sind, die die gleiche elektrische Ladung haben.

4. Funktioneller dünner Film, der mehrere Schichten von nichtflexiblen, funktionellen Molekülen und mehrere Schichten von Polymerionen umfasst, die an einem festen Träger fixiert sind, wobei ein nichtflexibles Molekül ein solches ist, dessen Atome sich nicht in Übereinstimmung mit den fixierten elektrischen Ladungen einer Oberfläche anordnen können, die mit dem Molekül zu beschichten ist, hergestellt nach dem Verfahren gemäß Anspruch 1.

5. Funktioneller dünner Film nach Anspruch 4, worin die funktionellen Moleküle Proteine sind.

6. Funktioneller dünner Film nach Anspruch 4, worin die funktionellen Moleküle Pigmente oder Farbstoffe sind.

7. Funktioneller dünner Film nach einem der Ansprüche 4 bis 6, worin die Polymerionen organische Polymerionen sind.

8. Funktioneller dünner Film nach einem der Ansprüche 4 bis 6, worin die Polymerionen anorganische Po-

lymerionen sind.

9. Funktioneller dünner Film nach Anspruch 4, worin zwei unterschiedliche Polymerionen mit entgegengesetzter elektrischer Ladung als Polymerionen verwendet worden sind.

Es folgen 5 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

FIG. 1

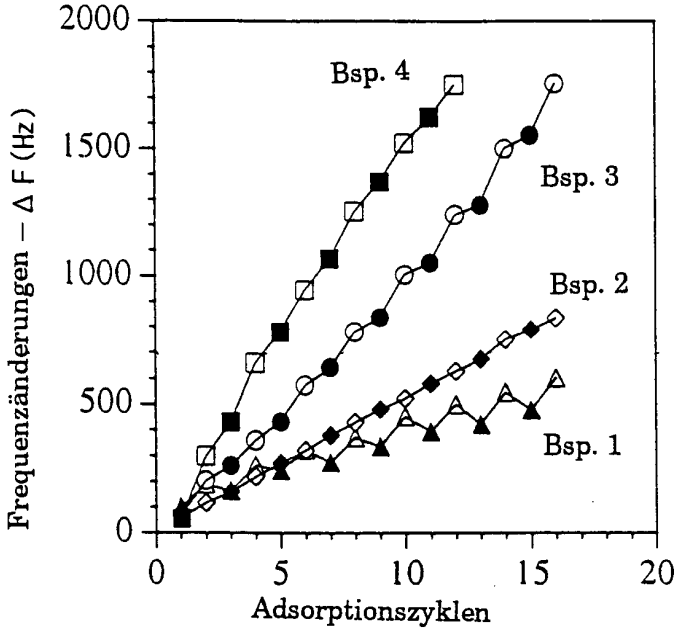


FIG. 2

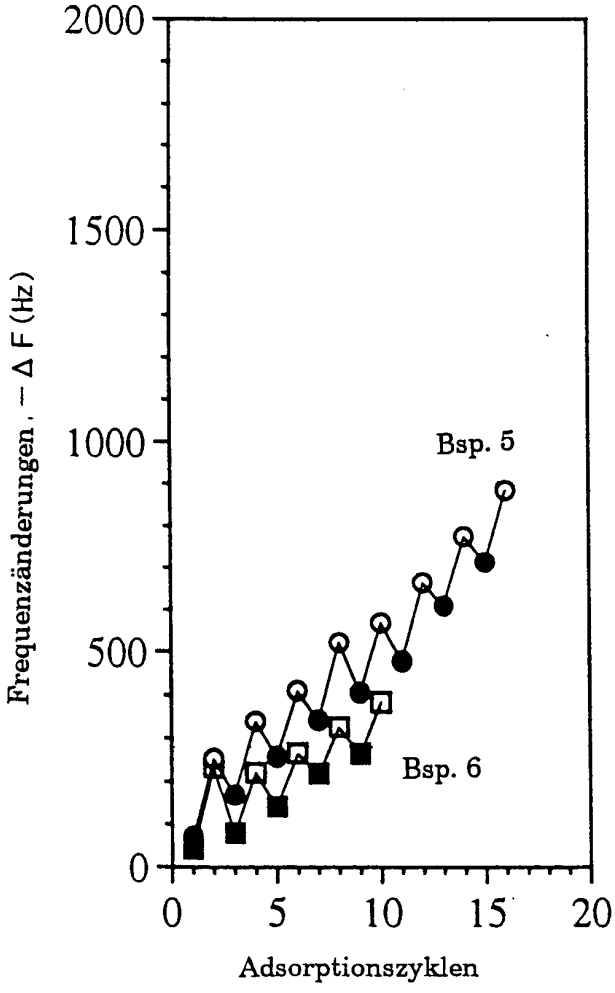


FIG. 3

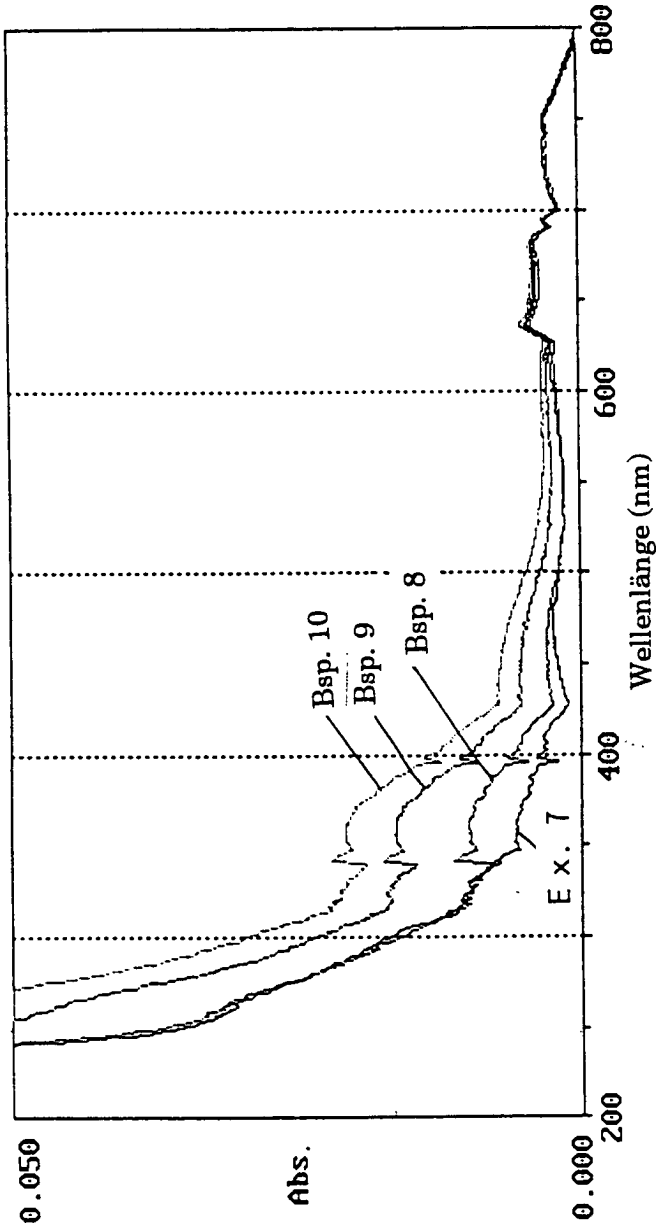

0.050
Abs.
0.000
200
400
600
800
Wellenlänge (nm)
Bsp. 10
Bsp. 9
Bsp. 8
Ex. 7

FIG. 4

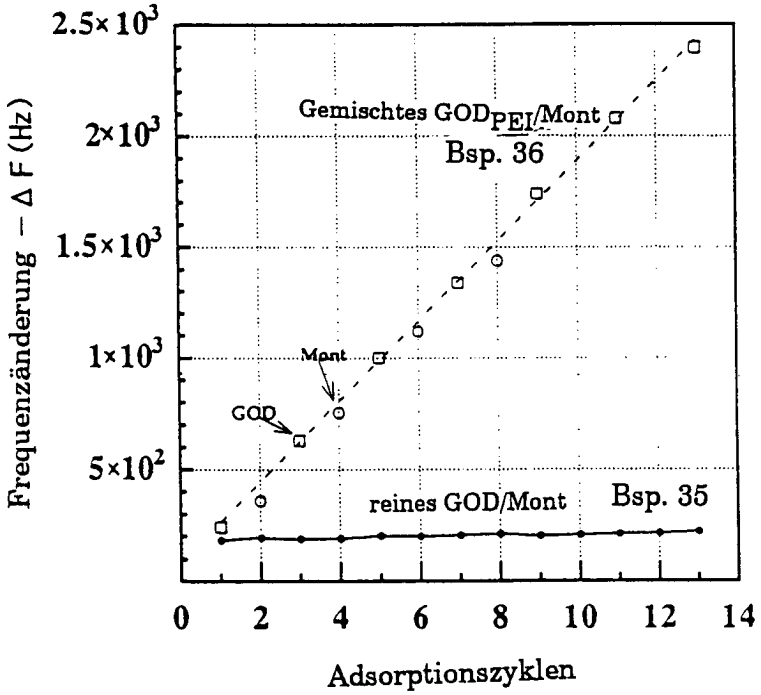

2.5×10³
2×10³
1.5×10³
1×10³
5×10²
Frequenzänderung – Δ F (Hz)
Gemischtes GOD$_{PEI}$/Mont
Bsp. 36
Mont
GOD
reines GOD/Mont
Bsp. 35
0
2
4
6
8
10
12
14
Adsorptionszyklen

FIG. 5

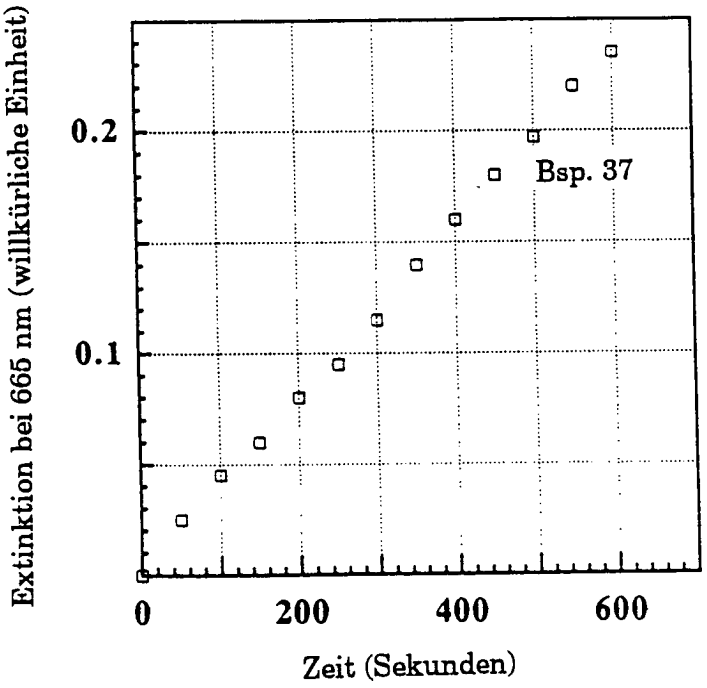

Extinktion bei 665 nm (willkürliche Einheit)
0.2
0.1
Bsp. 37
0
200
400
600
Zeit (Sekunden)

FIG. 6

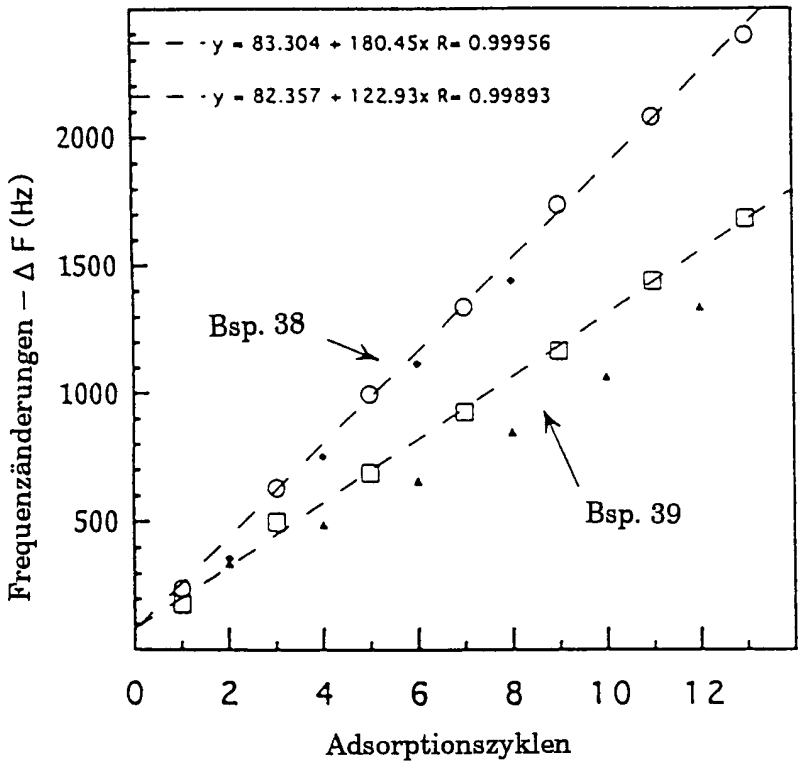

y = 83.304 + 180.45x R= 0.99956
y = 82.357 + 122.93x R= 0.99893
Frequenzänderungen – Δ F (Hz)
2000
1500
1000
500
Bsp. 38
Bsp. 39
0
2
4
6
8
10
12
Adsorptionszyklen

FIG. 7

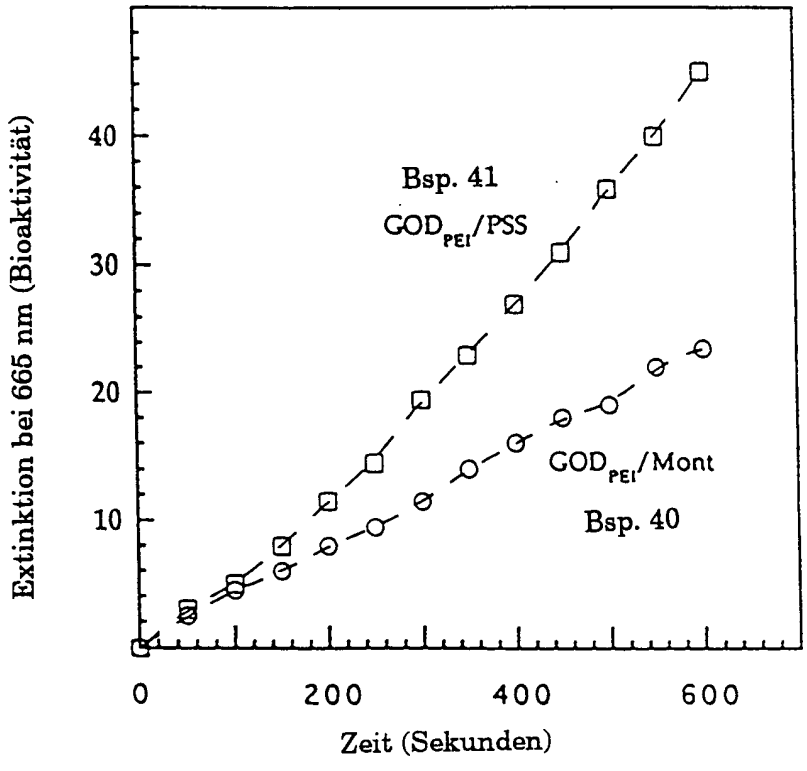
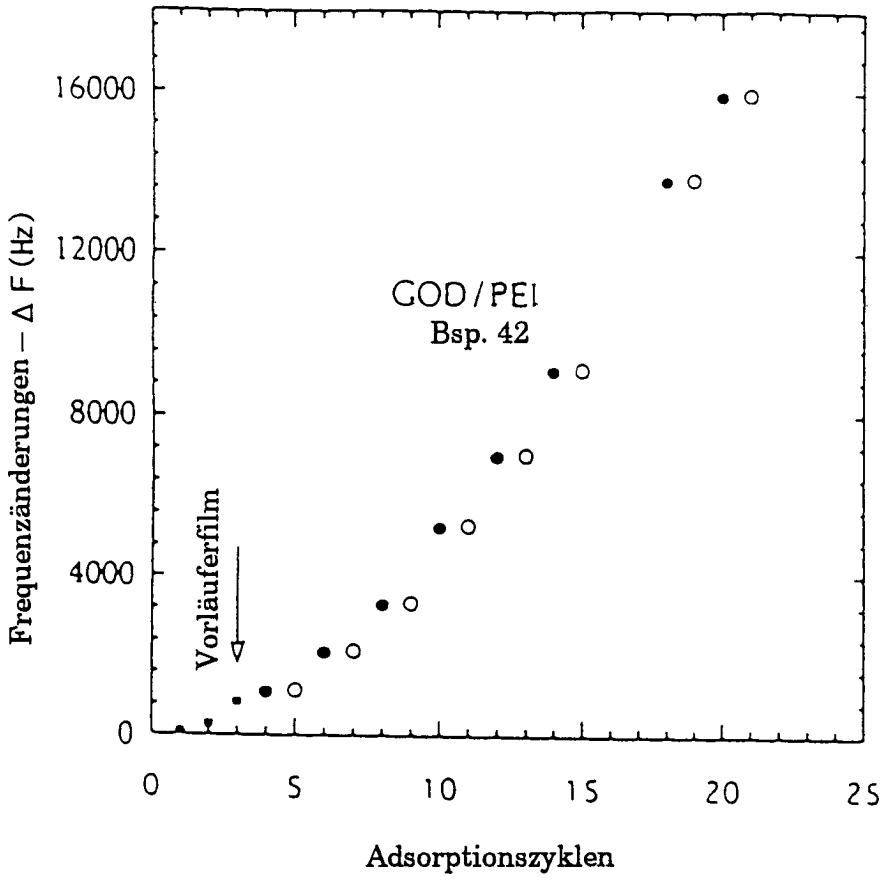

Extinktion bei 665 nm (Bioaktivität)
40
30
20
10
Bsp. 41
GOD$_{PEI}$/PSS
GOD$_{PEI}$/Mont
Bsp. 40
0
200
400
600
Zeit (Sekunden)

FIG. 8


16000
12000
8000
4000
0
Frequenzänderungen – Δ F (Hz)
GOD / PEI
Bsp. 42
Vorläuferfilm
0
5
10
15
20
25
Adsorptionszyklen