

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Zielsetzung	1
2. Theoretische Grundlagen	5
2.1 Kontaktierung von Proteinen mit Nanoelektroden	5
2.2 Cytochrom c als Modellprotein für Redoxvorgänge	12
2.3 Immobilisierungsstrategien für Proteine.....	17
2.3.1 Immobilisierung durch Physisorption	17
2.3.2 Kovalente Immobilisierungsstrategien	19
2.3.3 Immobilisierung mittels Bioaffinität.....	24
2.4 Ladungstransfer durch organische Moleküle.....	28
3. Material und Methoden	31
3.1 Geräte	31
3.2 Chemikalien.....	33
3.3 Puffer und Medien	36
3.4 Expressionssystem	37
3.4.1 Expressionsvektor.....	37
3.4.2 Bakterienstämme	39
3.5 Mikrobiologische und molekularbiologische Methoden.....	40
3.5.1 Kultivierung von Bakterien	40
3.5.2 Rekombinante DNA-Techniken	40
3.5.3 Protein Aufreinigung	48
3.6 Chemische und biochemische Präparationen.....	54
3.6.1 Verwendete Elektroden.....	54
3.6.2 Beschichtung mit selbstorganisierenden Monolagen.....	56
3.6.3 Immobilisierungsmethoden	57

3.7	Physikalische Analysemethoden	60
3.7.1	Optische Methoden	60
3.7.2	Zyklovoltammetrie	63
3.7.3	Rasterelektronenmikroskopie	68
3.7.4	Rasterkraftmikroskopie	68
3.7.5	Elektrische Charakterisierung von Tunnelströmen an Crossbars	69
4.	Herstellung genetisch modifizierter Cytochrom c Konstrukte	71
4.1	Auswahl der Immobilisierungs Tags	72
4.1.1	Histidin Tag	72
4.1.2	Cystein Tag	74
4.2	Klonierung der Immobilisierungstags	77
4.2.1	PCR Amplifikation	77
4.2.2	Ligation	80
4.2.3	Transformation und Selektion	80
4.3	Proteinexpression	81
4.4	Proteinaufreinigung	82
4.5	Untersuchung auf Funktionalität	86
5.	Ergebnisse und Diskussion	93
5.1	Redoxverhalten von Cytochrom c auf makroskopischen Elektroden	93
5.1.1	Elektrostatische Immobilisierung auf selbstorganisierenden Monolagen ..	94
5.1.2	Kovalente Immobilisierung	117
5.1.3	Microperoxidase-11	123
5.2	Redoxverhalten von Cytochrom c auf nanostrukturierten Au Elektroden ..	127
5.2.1	Oberflächencharakterisierung von Au Nanopillar Elektroden	129
5.2.2	Redoxverhalten von Cytochrom c auf Au Nanopillar Elektroden	137

5.3 Bifunktionale Immobilisierung von rekombinantem Cytochrom c auf Elektrodenoberflächen.....	143
5.3.1 Oberflächenimmobilisierung	143
5.3.2 Redoxverhalten auf Au Elektroden	154
5.3.3 Elektroenzymatische Reaktion mit Cytochrome c Reduktase / Oxidase	172
5.3.4 Immobilisierung von Cyt c zwischen Crossbarelektroden.....	179
 6. Zusammenfassung und Ausblick.....	 185
 7. Literaturverzeichnis.....	 193
 Anhang	 211
 Abkürzungsverzeichnis	 217
 Danksagung	 221
 Lebenslauf und eigene Veröffentlichungen.....	 223