



This is the peer reviewed version of the following article:

Wu, Y., Jelezko, F., Plenio, M. B., & Weil, T. (2016). Diamant-Quantensensoren in der Biologie. *Angewandte Chemie*, 128(23), 6696-6709.
doi:10.1002/ange.201506556.

, which has been published in final form at: [10.1002/ange.201506556](https://doi.org/10.1002/ange.201506556)

Diamant-Quantensensoren in der Biologie

YuzhouWu, FedorJelezko, Martin B Plenio undTanja Weil

Diamant-Quantensensoren in der Biologie

Yuzhou Wu*^[a], Fedor Jelezko*^[b], Martin B Plenio*^[c] und Tanja Weil*^[a]

Abstract: Die gegenwärtig verfügbaren Techniken der molekularen Bildgebung, die atomare Auflösung erzielen, benötigen "extreme" Arbeitsbedingungen wie niedrige Temperaturen, Vakuum sowie große Probenvolumina. Quantensensoren, die auf der spinabhängigen Photolumineszenz von Stickstoff-Fehlstellen (NV)-Zentren basieren, eröffnen ein großes Potential für die Detektion einzelner Moleküle mit atomarer Auflösung bei Raumtemperatur. In Diamant-Nanopartikeln können NV-Zentren gezielt implantiert werden, so dass einzigartige Nanosensoren entstehen, die in lebende biologische Systeme eindringen können. Aus diesen Gründen könnte die Diamant-Sensorik einen noch nie dagewesenen Einblick in die Struktur und Funktion von einzelnen Biomolekülen unter physiologischen Bedingungen liefern, so dass sich biologische Prozesse bis auf das Quantenniveau und mit atomarer Auflösung beobachten ließen. Die theoretischen Grundlagen der Diamant-Quantensensoren und die aktuellen Entwicklungen von ihrer Herstellung bis zu den verschiedenen Sensor-Techniken werden in diesem Übersichtsartikel diskutiert.

1. Einleitung

Die molekulare Bildgebung und Strukturaufklärung mittels Röntgenstrukturanalyse, Kernresonanzspektroskopie, Elektronenmikroskopie und Rastertunnelmikroskopie nimmt eine zentrale Rolle für den wissenschaftlichen Fortschritt in verschiedensten Disziplinen ein. Die meisten gegenwärtig verfügbaren Techniken, die in der Lage sind, eine atomare Auflösung zu erzielen, erfordern tiefe Temperaturen, Vakuum, die Verfügbarkeit von Kristallen oder große Probenvolumina. Diese speziellen Anforderungen begrenzen die potentiellen

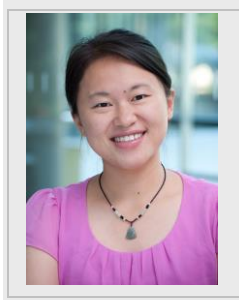
Anwendungen insbesondere auf dem Gebiet der Lebenswissenschaften, in denen die optische Einzelmolekül-Spektroskopie und die Rasterkraftmikroskopie im Prinzip die einzigen Methoden sind, die Einblicke in die molekulare Struktur erlauben. Trotzdem reicht die Auflösung dieser Methoden nicht aus, um einzelne Atome zu erkennen.

Quanten-Sensoren basierend auf der vom Spin abhängigen Photolumineszenz einzelner Stickstoff-Fehlstellen (NV) in Diamant eröffnen ein hier außerordentliches Potential für die atomare Bildgebung^[1]. Der gegenwärtige Fortschritt auf dem Gebiet der Diamant-Quantensensorik verspricht wie keine andere Technik, das lange gehegte Ziel der Einzelmoleküldetektion mit atomarer Auflösung bei Raumtemperatur zu erreichen^[1-2]. Es besteht die begründete Hoffnung, dass die Diamant-Quantensensorik zukünftig wichtige Erkenntnisse für das Verständnis von Biomolekülen in ihrer natürlichen, z.B. zellulären Umgebung sowie von grundlegenden biologischen Phänomenen liefern wird.

Dieser Minireview beschreibt das neue und sich schnell entwickelnde Gebiet der nanoskaligen Quantensensorik basierend auf NV-Zentren in Diamant und beleuchtet die potentiellen Anwendungen der molekularen Bildgebung mit höchster Auflösung in „lebenden“ biologischen Systemen. Im Folgenden werden die theoretischen Grundlagen und die bislang am weitesten entwickelten Techniken der Diamant-Quantensensorik eingeführt. Ein besonderes Augenmerk wird hierbei auf die chemische Herstellung von qualitativ hochwertigen Diamant-Quantensensoren und der Funktionalisierung der Diamant-Oberflächen gelegt, die letztendlich eine Sensorik in einer lebenden biologischen Umgebung erst ermöglichen. Es wird insbesondere auf das große Potential und die weitreichenden Herausforderungen der Biosensorik unter physiologischen Bedingungen eingegangen.

-
- [a] Dr. Y. Wu*, Prof. Dr. T. Weil*
Institut für Organische Chemie III
Universität Ulm
Albert-Einstein-Allee 11, 89081 Ulm, Deutschland
E-mail: Yuzhou.Wu@uni-ulm.de, Tanja.Weil@uni-ulm.de
- [b] Prof. Dr. F. Jelezko*
Institut für Quantenoptik
Universität Ulm
Albert-Einstein-Allee 11, D-89081 Ulm, Deutschland
E-mail: fedor.jelezko@uni-ulm.de
- [c] Prof. Dr. M.B. Plenio*
Institut für Theoretische Physik
Albert-Einstein-Allee 11, 89069 Ulm, Deutschland
E-mail: martin.plenio@uni-ulm.de
-

Yuzhou Wu ist Gruppenleiterin am Institut für Organische Chemie III an der Universität Ulm. Ihre Forschungsinteressen liegen auf dem Gebiet der Bio-Nanotechnologie, der Herstellung von präzisen Nanoarchitekturen und der Biofunktionalisierung von Nanomaterialien für die Biomedizin und Bildgebung. Für ihre Forschung hat Frau Wu zahlreiche Preise erhalten, wie den Promotionspreis und den Forschungsbonus der Universität Ulm.



Fedor Jelezko ist Direktor am Institut für Quantenoptik und Mitglied des Zentrums für Integrierte Quantenwissenschaften und Quantentechnologien (IQST) an der Universität Ulm. Seine Forschungsinteressen liegen an der Grenze der fundamentalen Quantenphysik und der Anwendung von Quantentechnologien für die Informationsverarbeitung Kommunikation, Sensorik und Bildgebung. Er hat mehrere Auszeichnungen erhalten, insbesondere den Walter-Schottky-Preis der Deutschen Physikalischen Gesellschaft und die Mitgliedschaft in Heidelberger Akademie der Wissenschaften.



Martin B Plenio ist Direktor am Institut für Theoretische Physik an der Universität Ulm. Sein breites Forschungsspektrum umfasst die Quanteninformationswissenschaften, die Erforschung von Quanteneffekten in biologischen Systemen, die Quantenoptik und Quantentechnologien. Er erhielt zahlreiche Auszeichnungen wie eine Alexander von Humboldt-Professur, die Maxwell-Medaille und Preis, die Born-Medaille und Preis des Institutes für Physik und der Deutschen Physikalischen Gesellschaft sowie ein Synergy Grant des Europäischen Forschungsrats.



Tanja Weil ist Direktorin des Instituts für Organische Chemie III an der Universität Ulm. Ihre Forschungsinteressen liegen auf dem Gebiet der Herstellung von präzisen makromolekularen Architekturen und Biohybrid-Polymeren sowie deren Anwendungen auf den Gebieten der Biomedizin und Bildgebung. Ihr wurden die Otto-Hahn Medaille der Max-Planck Gesellschaft, der Wissenschaftspreis der Stadt Ulm sowie ein Synergy Grant des Europäischen Forschungsrats verliehen.



2. Theorie der Diamant-Quantensensorik

Ein "perfekter" Diamant-Kristall ist für sichtbares Licht aufgrund der großen optischen Bandlücke von 5.48 eV (dies entspricht einer Wellenlänge von ca. 226 nm) transparent. Äußerst selten findet man auch natürlich vorkommenden Diamant, der lebendige Farben aufweist. Die Herkunft dieser Farbe kann auf plastische Deformationen des Diamant-Gitters oder, viel wichtiger für unsere Zwecke, auf Substitutions- und Fehlstellendefekten in der Gitterstruktur zurückgeführt werden, die in der Lage sind, sichtbares Licht zu absorbieren und zu emittieren. Hunderte solcher lumineszenter Defekte sind bislang bekannt^[3] und wurden bereits ausführlich analysiert, um deren grundlegende optische und elektronische Spineigenschaften zu bestimmen und in einigen Fällen ihre chemische Zusammensetzung aufzuklären^[4]. Verunreinigungsdefekte basieren auf einer breiten Anzahl von Elementen wie beispielsweise Bor, Nickel, Silizium und, am häufigsten in Diamant vorkommend, Stickstoff, dessen Farbzentren von besonderer Bedeutung für die Anwendungen in der biologischen Diamant-Sensorik sind.

2.1. Stickstoff-Fehlstellenzentren und andere Farbzentren in Diamant.

Das NV-Zentrum^[5] ist ein Punktdefekt in der Diamantgitterstruktur, der aus einem Substitutionsstickstoffatom besteht, das sich direkt neben einer Gitterfahle befindet, und das entlang der [111]-Richtung im Kristall orientiert ist (vgl. Abbildung 1a). Es existiert in verschiedenen Ladungszuständen, z.B. einer neutralen Form, NV⁰, und dem negativ geladenen NV⁻. Während beide Formen in der Lage sind, mit sichtbarem Licht in Wechselwirkung zu treten, sind die optischen und elektronischen Eigenschaften des NV⁻-Defekts weit besser verstanden und erscheinen somit geeigneter für Anwendungen in der Sensorik und Quantentechnologie zu sein.

Das NV⁻-Zentrum weist eine scharfe optische Null-Phononenlinie bei 637 nm (1.945 eV) und breite Schwingungsseitenbanden auf. Unter Belichtung zeigt sich eine weitere, sehr schwache Null-Phononenlinie bei 1042 nm (1,190 eV), die auf eine elektronische Struktur, wie in Abbildung 1b dargestellt, hindeuten. Es ist bemerkenswert, dass das NV⁻ und andere Farbzentren auch bei starker und dauerhafter Laserbestrahlung nicht bleichen. Dies trifft auch auf NV⁻-Defekte zu, die sich in nanometergroßen Diamanten befinden und einer intensiven Bestrahlung ausgesetzt sind. Weiterhin verhalten sich Absorptions- und Emissionswellenlängen bis zu kleinsten Größen von kleiner als 10 nm^[6] (sogar 2 nm^[7] für den Silizium-Defekt) unabhängig von der Größe des Diamanten. Diese Eigenschaften alleine unterstreichen bereits das enorme Anwendungspotential von fluoreszenten Nanodiamanten (NDs) als attraktive Biomarker^[8]. Als eine weitere wichtige Eigenschaft von fluoreszenten NDs gilt, dass sowohl der Grundzustand als auch der angeregte Zustand des NV⁻-Zentrums zwischen den magnetischen $m_s=0$ und den $m_s=\pm 1$ Zuständen des elektronischen Spintripletts eine Nullfeld magnetische Resonanz bei 2.88 GHz bzw. 1.42 GHz aufweisen. Dieser Elektronenspin weist eine beeindruckend lange Kohärenzzeit (T_2) und

Relaxationszeit (T_1) auf, die in hochreinen Diamanten sogar bei Raumtemperatur noch Millisekunden betragen kann^[9]. Die gleichzeitige Verfügbarkeit von optischen und elektronischen Übergängen macht das NV⁻-Zentrum besonders interessant für eine Vielzahl von Anwendungen in der Sensorik. Ein wesentlicher Aspekt ist hierbei, dass sogar für einzelne NV⁻-Zentren der elektronische Spin-Zustand über die spinabhängige Photolumineszenz detektiert werden kann, da diese zwischen den $m_s=0$ und den $m_s=\pm 1$ -Zuständen unterscheidet^[10] und somit eine optisch detektierte magnetische Resonanz am Einzelmolekül (ODMR) realisiert^[11]. Das zugrunde liegende Prinzip der Diamant-Quantensensorik und die vielseitigen Anwendungen werden in den Kapiteln 4.1 - 4.3 ausführlicher behandelt. Interessanterweise ermöglicht dieselbe zugrunde liegende Physik durch optisches Pumpen innerhalb weniger Mikrosekunden selbst bei Raumtemperatur die Polarisation des Elektronenspin-Triplett in den $m_s=0$ -Zustand. Die daraus resultierende Hyperpolarisation des Elektronenspins kann auf Kernspins übertragen werden^[12], was zahlreiche Anwendungen in der Magnetresonanztomographie (MRT) eröffnet, die in Abschnitt 4.4 genauer diskutiert werden soll.

Trotz der aktuellen Fokussierung der Forschung auf das NV⁻-Zentrum, sind eine Vielzahl von weiteren Farbzentren bekannt, von denen einige eine ähnliche Kombination der optischen Übergänge, Magnetresonanz der elektronischen Spinzustände und spinabhängigen Fluoreszenz aufweisen. Seit kurzem findet auch die Silizium-Fehlstelle (SiV⁻) in dieser Hinsicht eine wachsende Aufmerksamkeit, da diese eine starke Null-Phononen-Linie bei 737 nm (1,68 eV) und ein elektronisches Spin-1/2-System aufweist, dessen Struktur bereits in einigen Aspekten aufgeklärt werden konnte^[13].

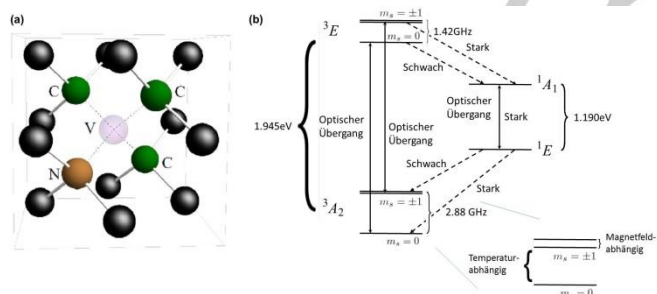


Abbildung 1. (a) Das NV-Zentrum in Diamant - ein Substitutions-Stickstoffatom benachbart zu einer Fehlstelle die durch ein fehlendes Kohlenstoffatom gebildet wird. (b) Die „dangling bonds“ bilden ein elektronisches Spin-1-System mit einem optischen Übergang bei 1,945 eV. Optische und Infrarot-Übergänge (durchgezogene Pfeile) und schwache, nichtstrahlende Übergänge (gestrichelte Linien) ermöglichen die Beobachtung der spinabhängigen Fluoreszenz und optischer Elektronenspinpolarisation.

3. Herstellung und Funktionalisierung von Diamant-Quantensensoren

Inzwischen stehen verschiedene Methoden zur Verfügung, um Diamantquantensensoren herzustellen. Sie können beispielsweise durch die Implantierung von Farbzentren sowohl in makroskopischen Diamanten als auch in Diamantnanopartikeln

erzeugt werden. Als „makroskopisch“ werden mikrometer- bis millimetergroße Diamantkristalle bezeichnet, die sich ideal dazu eignen, um *in vitro* Sensing-Arrays herzustellen. Ihre Herstellung ist weniger schwierig, da Farbzentren besonders stabil sind, wenn diese sich mehr als 2 nm unterhalb der Diamantoberfläche befinden. Im Vergleich dazu sind nanometergroße Diamanten (Nanodiamanten oder NDs) besonders interessant für die Biosensorik, da diese als Nanosensoren in Lösung in Zellen, Gewebe und lebende Organismen transportiert werden können. Allerdings ist es aufgrund des sehr hohen Oberflächen-zu-Volumen-Verhältnis eine wesentlich größere Herausforderung, qualitativ hochwertige NDs mit stabilen Farbzentren herzustellen. Die in NDs implantierte Farbzentren können leicht durch Oberflächenfunktionalitäten gestört werden, die allerdings erforderlich sind, um eine akzeptable kolloidale Stabilität, Biokompatibilität und Biofunktionalität zu erreichen. Dies ist insbesondere für biomedizinische Anwendungen essenziell. In diesem Kapitel werden verschiedene Methoden für die Herstellung von makroskopischen Diamanten und ND-Partikeln mit Farbzentren kurz umrissen und miteinander verglichen. Insbesondere werden wir auf die Herausforderungen eingehen, qualitativ hochwertige NDs herzustellen, und diese für *in vivo* Anwendungen zu funktionalisieren.

3.1. Herstellung von makroskopischen Diamanten für die Diamantquantensensorik

Makroskopische Diamantkristalle können über zahlreiche synthetische Methoden hergestellt werden, wie beispielsweise über das Hochdruck-Hochtemperatur (HPHT)-Wachstum und das Verfahren der chemischen Gasabscheidung (CVD) (Abbildung 2). Das HPHT-Wachstum ist die Hauptherstellungsmethode für synthetische Diamanten und ermöglicht ein hohes Maß an Kontrolle über die Qualität und Geometrie der hergestellten Diamanten. Die meisten über diese Methode hergestellten Diamanten bestehen aus kleinen Körnern des Typs Ib (die Klassifikation von Diamanten mit isolierten Stickstoffverunreinigungen, die sich im Diamant verteilt befinden) mit Größen von einigen Mikrometern bis zu ca. ~10 μm ^[14]. Diese Diamanten enthalten oft bereits Substitutions-Stickstoffatome, die P1-Zentren genannt werden und vom Lösungsmittel, Metall und der Kohlenstoffquelle sowie von Gasrestmengen im HPHT-Reaktor stammen können. Um die Gitterfehlstellen zu produzieren, können diese Diamanten mit hochenergetischen Partikeln wie Elektronen, Protonen, Neutronen, Ionen oder Gammapartikeln bestrahlt werden. Bei Temperaturen von ungefähr 800°C erzeugen die Substitutionsstickstoffatome eine Verzerrung in dem Diamantgerüst und fangen so die sich bewegenden Fehlstellen unter Bildung der NV-Farbzentren ein^[15] (Abbildung 2c).



Abbildung 2. HPHT-Wachstum und CVD-Herstellung von Diamant und Bildung der NV-Zentren im Diamant.

Eine weitere gängige Methode des Wachstums von synthetischen Diamanten stellt die chemische Gasabscheidung dar (CVD)^[16]. Bei niedrigen Drücken (unterhalb des Atmosphärendrucks), wird eine Mischung aus kohlenstoffreichen Gasen (typischerweise in Zusammensetzungen von 1 zu 99, Methan zu Wasserstoff) mittels Plasma zwischen zwei Elektroden in Fragmente gebrochen, die dann auf einer Oberfläche in einem Diamantfilm wieder angeordnet werden (Abbildung 2b). Aus diesem Grund werden die CVD-Diamanten normalerweise als dünne Filme gewonnen. NV-Zentren können während des CVD-Prozesses erzeugt werden, indem der Diamantfilm in Gegenwart von einer Gasmischung bestehend aus 0-0.1% N₂, 0.7% CH₄, 99.2% H₂^[17] hergestellt wird. Die Konzentration der NV-Zentren variiert mit den gedopten Stickstoffmengen. Aus diesem Grund können sogar einzelne Defekte hergestellt werden, indem einzig der Stickstoffanteil optimiert wird.

3.2. Herstellung von Nanodiamantpartikeln für die Diamantquantensensorik

NDs können über verschiedene Methoden hergestellt werden, wie beispielsweise über die Detonation^[18], Laserablation^[19], Ionenbestrahlung^[20] und die Chlorinierung von Carbiden^[21]. Die meisten dieser Methoden führen lediglich zu polykristallinen NDs sowie ultrananokristallinen NDs (Abbildung 3), mit nur wenigen nanoskaligen kristallinen Domänen, die sich nicht für die Anwendungen in der Quantensensorik eignen. Ideale NDs für die Quantensensorik sollten sehr stabile Farbzentren in einem hoch kristallinen Diamantgerüst aufweisen, vorzugsweise mit einer kontrollierbaren Anzahl an Farbzentren auf einer räumlich genau festgelegten Position. Aus diesem Grund sind die NDs, die für die Entwicklung als Quantensensoren genutzt werden können, normalerweise monokristallin und werden mittels hochenergetischem Mahlen von HPHT-Diamant-Mikrokristallen^[6] und plasmaunterstützter chemischer Gasphasenabscheidung (CVD)^[22] gewonnen. Wie in Abschnitt 3.1 dargestellt, können über das HPHT-Wachstum Type Ib Diamanten mit wenigen Mikrometern Durchmesser (>20–50 µm) hergestellt werden. Über einen mechanischen Mahlschritt können aus diesen HPHT-Mikrodiamanten dekontaminierte NDs hergestellt werden, die

nach einer Aufreinigung mit Säuren (normalerweise werden hoch oxidative Säuren wie 1:1:1 Mischungen aus HClO₄, HNO₃ und H₂SO₄ verwendet) mit hohen Reinheiten vorliegen^[21b]. Durch eine Zentrifugationsaufreinigung können diese NDs dann in unterschiedliche Größen von wenigen Nanometern bis zu einigen zehn Nanometern voneinander getrennt werden. Aufgrund der Tatsache, dass die mittels HPHT-gewonnenen, synthetischen Diamanten bereits Stickstoffdefekte aufweisen (P1-Zentren), können diese für die Produktion von stabilen und hell fluoreszierenden NV-reichen NDs herangezogen werden. Um nun die NV-Zentren zu bilden, werden die gemahlene NDs in Graphit-Tabletten eingebettet, um eine bequeme Bestrahlung und ein Tempern ähnlich wie für makroskopische Diamanten zu ermöglichen. Anschließende Oxidationsverfahren, wie die Säurebehandlung oder thermische Oxidation, erlauben die Reinigung der NDs aus den Graphit-Tabletten, um die durch das Tempern hervorgerufenen Oberflächenkontamination zu entfernen und so die Helligkeit der NDs zu erhöhen. Die über diese Methode gewonnenen NV-Zentren verhalten sich normalerweise stabil nach der Implantation, allerdings stellt es derzeit eine große Herausforderung dar, ausschließlich fluoreszierende NDs zu gewinnen. Die alternative Strategie stellt eine Bestrahlung und das Tempern von HPHT-Mikrodiamanten dar, um diese dann anschließend in NDs zu mahlen^[6], ein Ansatz, der inzwischen weit verbreitet ist und sogar von mehreren Unternehmen kommerzialisiert wurde^[23]. Bei diesem Verfahren können einige NV-Zentren während des Mahlvorgangs zerstört werden, so dass extrem hohe Konzentrationen an NV-Zentren im mikrokristallinen Ausgangsmaterial vorhanden sein müssen, was ebenfalls wichtig ist. Die Produktion von monokristallinen NDs kann weiterhin über die CVD erzielt werden^[22], allerdings ist der Einbau von Stickstoffatomen in die kleinen Nanokristalle über diesen Ansatz sehr ineffizient^[24]. Im Vergleich dazu verhält sich die CVD-Methode vielversprechender für die Herstellung von NDs, die SiV-Zentren besitzen, da das Plasmaätzen des Siliziumsubstrats, auf dem die CVD-Diamanten gewachsen sind, bereits eine Siliziumquelle darstellt. Es können ferner andere Defekte bequem durch alternative Gase eingefügt werden, wie beispielsweise Bor-Defekte unter Verwendung des Trimethylboran^[25].

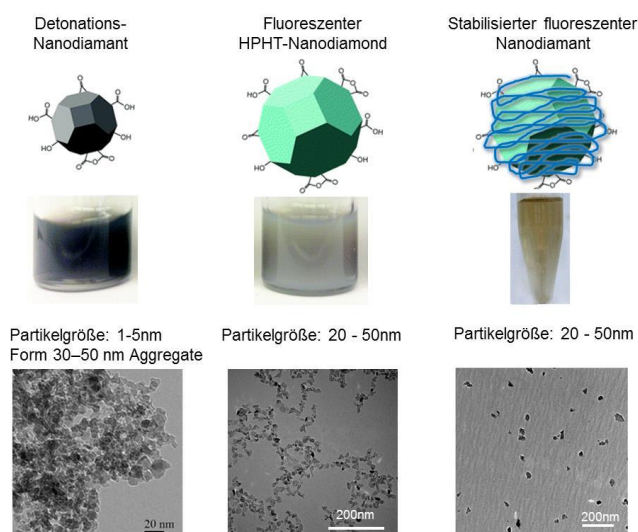


Abbildung 3. Vergleich von ultrananokristallinen Detonationsdiamanten, fluoreszierenden HPHT-NDs mit NV-Zentren und von fluoreszierenden NDs nach Oberflächenstabilisierung^[26].

Obwohl die derzeitigen Methoden einen Zugang zu NDs in verschiedenen Größen und Farbzentren bieten, stellt es immer noch eine Herausforderung dar, die hohen Anforderungen der Quantensensorik an diese Materialien zu erfüllen. Idealerweise sollten NDs für quantenmechanische Anwendungen eine kontrollierte Anzahl von NV-Zentren besitzen, und diese stabilen NV-Zentren sollten sich mindestens 2 nm unter der Diamantoberfläche befinden. Aus diesem Grund sollten die NDs eine regelmäßige Form mit einer nur geringen Größenverteilung besitzen. Wenn ein einzelnes NV-Zentrum als Spinsensor verwendet werden soll, dann muss der entsprechende Nanokristall eine kontrollierte Größe und Form mit einem präzise lokalisierten NV-Zentrum aufweisen. Aus diesem Grund werden neue Verfahren für eine kontrollierte Diamantsynthese dringend benötigt. Ein großes Potential bietet hierbei das HPHT-Wachstum von kleinsten Diamantkristallen, um so direkt NDs mit einer regelmäßigen Gestalt zu gewinnen. Wenn man das HPHT-Wachstum im Prinzip von einem stickstoffhaltigen, molekularen Keim kontrollieren könnte, dann könnte es gelingen, NDs mit nur einem NV-Zentrum in der Mitte zu produzieren, die sich für die Quantensensorik ideal eignen würden.

3.3 Funktionalisierung von ND-Sensoren für biologische Anwendungen.

Nach der Herstellung von qualitativ hochwertigen NDs mit NV-Zentren werden insbesondere für Anwendungen in der Biosensorik weitere Oberflächenfunktionen benötigt, die die kolloidale Stabilität in einer biologischen Umgebung verbessern. Aufgrund der hohen relativen Oberfläche und der elektrostatischen Wechselwirkungen durch das Vorhandensein zahlreicher Carbonsäuregruppen, können die jeweiligen Biomoleküle einfach auf der ND-Oberfläche unspezifisch adsorbiert werden.^[27] In frühen Versuchen ermöglichte dieser

Ansatz die Detektion von einigen Biomolekülen: Die Adsorption des Eisenspeicherproteins Ferritin auf der Oberfläche der NDs ermöglichte die nicht-invasive Detektion von Eisenatomen im Apoferritinkäfig^[27b]. Zusätzlich konnten verschiedene funktionelle Gruppen auf die Oberfläche von NDs gebunden werden, die wie bereits beschrieben^[8c, 28] eine kovalente Anbindung von Biomolekülen ermöglichen (Abbildung 4). Eine derartige Oberflächenmodifikation ist derzeit die einzige Methode, um NDs mit biologischen Funktionalitäten auszustatten und sie wurde bereits erfolgreich angewendet, um Antikörper^[29], DNA^[29], Enzyme^[30] oder weitere funktionale Proteine^[31] anzubinden. Allerdings neigen die rohen, aus der direkten Synthese stammenden NDs leicht dazu, Aggregate auszubilden, was z.T. auf ihr hohes Oberflächen- zu Volumen-Verhältnis zurückzuführen ist. Die Aggregationsneigung ist in biologischen Medien besonders ausgeprägt, wodurch es eine große Herausforderung darstellt, derart hergestellte Diamanten unter diesen Bedingungen als einzelne NDs zu detektieren (Abbildung 3). Die Oberflächenchemie von NDs ist weiterhin begrenzt durch die unkontrollierte Aggregationsneigung, die bis hin zum Ausfällen der NDs aus der Lösung führt. Weiterhin kann aufgrund der geringen Anzahl an Oberflächenfunktionen nur eine geringe Dichte an Biomolekülen über eine direkte kovalente Verknüpfung an die NDs erzielt werden.

Kürzlich rückten biokompatible, nicht-kovalente Oberflächenbeschichtungen in den Fokus, um NDs in biologischen Medien zu stabilisieren und um die Konjugationschemie auf der Diamantoberfläche effizienter zu gestalten. Erste Studien haben gezeigt, dass NDs, die eine Schicht des Blutplasmaalbumins Serum Albumin adsorbieren, eine erhöhte Stabilität aufweisen, so dass sogar eine Detektion einzelner Partikel in lebenden Zellen mittels stimulierter Emission-Depletion Mikroskopie (STED)^[32] möglich war. In diesem Zusammenhang wurden unterschiedliche Beschichtungsmaterialien, wie beispielsweise anorganische und polymere Materialien bereits untersucht (Abbildung 4). So wurde beispielsweise eine Silikathülle auf der ND-Oberfläche eingeführt, die die Partikeloberfläche bioverträglich, stabil und mittels Silikonkonjugationschemie einfach funktionalisierbar werden ließ^[33]. Das hydrophile Polymer Polyethyleneglykol (PEG) wurde an die Silikathülle geknüpft, um die kolloidale Stabilität der Hybrid-Teilchen über einen breiten pH-Bereich (pH 2-10) oder sogar in 1 M NaCl und Zellkulturmedium weiter zu erhöhen^[33a]. Alternativ können auch Polymere als verträgliche Beschichtungen fungieren. PEG-basierte Polymere wurden über eine kovalente Konjugationschemie direkt auf NDs gebunden.^[34] PEG-Beschichtungen sind dafür bekannt, dass diese sich in biologischen Medien als besonders verträglich erweisen und nur eine geringe unspezifische Adsorption von Plasmaproteinen aufweisen, so dass diese sich aufgrund ihrer geringen Zell- und Gewebetoxizität insbesondere für *in vivo* Anwendungen eignen^[34b, 34c]. Allerdings erlauben klassische PEG-Polymere keine nachfolgenden Funktionalisierungen, was eine der Hauptlimitationen dieser Methode darstellt. Kürzlich konnte eine Beschichtungsstrategie über Biopolymere entwickelt werden, die auf einem PEG-Hybridpolymer basiert, das aus nativen Albumin gewonnen wird.^[35] NDs, die von diesen Biopolymeren

eingekapselt wurden, verhalten sich sehr stabil in allen getesteten biologischen Pufferlösungen sowie über einen weiten pH-Bereich zwischen (pH 2-8), ohne Aggregation zu zeigen. Weiterhin bietet dieses aus Proteinen gewonnene Biopolymer eine große Anzahl an orthogonalen funktionellen Gruppen, die aus den Seitenketten der Aminosäurebausteinen stammen und sich einfach nachträglich funktionalisieren lassen (Abbildung 4).

4. Diamant-Sensorik – Methoden und Anwendungen

Die einzigartige Möglichkeit, einen einzelnen langlebigen Elektronenspin im Grundzustand optisch auslesen zu können, stellt ein wesentliches Element für die magnetische Sensorik auf der Nanoskala dar, die in diesem Abschnitt genauer beleuchtet werden soll. Einzelne NV-Zentren sind hier, verglichen mit anderen Magnetfeldsensoren, wie der magnetischen Resonanzkraftmikroskopie, aufgrund ihrer hohen Stabilität besonders interessant. Zudem besitzt ein einzelnes NV-Zentrum nur ein schwaches magnetisches Moment (ähnlich dem magnetischen Moment eines einzelnen Elektronenspins) und stört daher das zu untersuchende Objekt nur wenig. Darüber hinaus erlaubt die große Photostabilität und das Ausbleiben von Fluoreszenz-Bleichvorgängen von Farbzentren deren Anwendung für Fluoreszenz-Resonanz-Energietransfer-(FRET)-Untersuchungen.

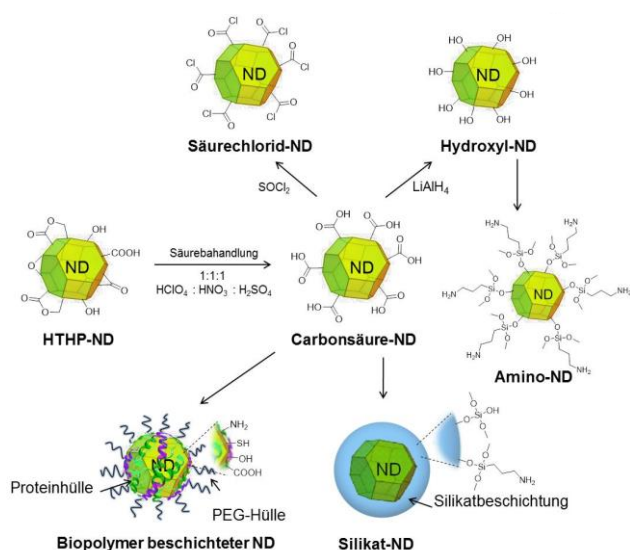


Abbildung 4. Funktionalisierung von NDs über direkte chemische Reaktionen und eine biologisch verträgliche Beschichtung. Die ursprünglich mittels HTHP hergestellten NDs weisen unkontrolliert eingeführte funktionelle Gruppen auf ihrer Oberfläche auf und die Behandlung mit Säuren erlaubt lediglich die Herstellung von NDs mit terminalen Carbonsäuregruppen auf ihrer Oberfläche. Diese Carbonsäuregruppen auf den NDs können anschließend in Säurechloride, Hydroxyl- und Aminogruppen^[8c, 28] überführt werden, die weitere chemische Modifikationen z.B. mit Biomolekülen ermöglichen. Die säurebeschichteten NDs können weiterhin mit einer Silika-^[33] oder einer positive geladenen Biopolymerhülle^[35] ausgestattet werden, wodurch die Oberflächeneigenschaften der NDs drastisch geändert werden.

4.1. Optische Sensorik mit Diamanten

Optische Techniken, die während der vergangenen zwei Dekaden entwickelt wurden, bieten heute eine hohe Empfindlichkeit, die die Detektion einzelner Fluorophore ermöglicht^[36]. Fluoreszenzmarker erlauben inzwischen sogar eine Sensitivität, die nicht durch Lichtstreuung beschränkt ist^[37]. Allerdings sind diese supraauflösenden Bildgebungstechniken durch die begrenzte Photostabilität der Farbstoffe limitiert. Die STED-Mikroskopie erreicht inzwischen routinemäßig eine Auflösung von 20-50 nm^[38], aber eine höhere Auflösung benötigt sehr hohe Intensitäten des Depletionstrahls, der zum schnellen Bleichen der Fluoreszenzmarker führt. Andere supraauflösende Bildgebungstechniken basieren auf der Auswertung von sogenannten "Blinking"-Vorgängen (Fluoreszenz An- und Auszeiten) von einzelnen Farbstoffen, welche wiederum eine hohe Photostabilität speziell gegen irreversible Bleichvorgänge aufweisen müssen, um eine hohe Auflösung zu erzielen^[39]. Aus diesem Grund stellen Farbzentren in NDs mit ihrer extrem hohen Photostabilität sehr vielversprechende Lichtquellen für die Superauflösungsmikroskopie dar, wenn die relativ hohe Größe der NDs keine Beschränkung darstellt. Erste Experimente, die mit NV-Zentren im makroskopischen Diamant durchgeführt wurden, zeigen Auflösungen von bis zu 6 nm^[40]. Erst kürzlich wurde die STED-Mikroskopie mit NV-gedopten NDs erfolgreich demonstriert^[41] und es konnten Auflösungen von bis zu 10 nm demonstriert werden^[42].

Eine weitere vielversprechende optische Technik für die nanoskalige Präzisionssensorik stellt der Fluoreszenz-Resonanz-Energietransfer (FRET) dar. Der FRET-basierten Sensorik liegt die scharfe Abstandsabhängigkeit des Energietransfers zwischen zwei einzelnen Farbstoffen zugrunde. Die einzigartige Photostabilität der Farbzentren eröffnet neue Möglichkeiten, um die FRET-basierten Detektionstechniken zu verbessern. Es wurde bereits gezeigt, dass einzelne NV-Zentren in 20 nm Diamantkristallen den hocheffizienten Nachweis einzelner Moleküle ermöglichen, die auf der Diamantoberfläche adsorbiert wurden^[43]. Obwohl die dynamische Bandbreite der FRET-Mikroskopie begrenzt ist, kann dieses Hindernis unter Verwendung der Rastersonden-FRET-Techniken überwunden werden, indem ein Donor, wie beispielsweise ein NV-Zentrum in einem Diamant-Nanokristall, an die Spitze eines Rasterkraftmikroskops angefügt wird^[44].

4.2. Detektion von externen Elektronenspins mittels NV-Zentren

Nanometergroße Diamanten, die NV-Zentren besitzen, stellen vielversprechende Nanosensoren in einer biologischen Umgebung dar, da sie eine hohe Biokompatibilität, intensive Fluoreszenz und eine hohe Empfindlichkeit für magnetische Felder bei Raumtemperatur aufweisen. Der Tripletgrundzustand des NV-Zentrums kann als nanoskaliges Magnetometer verwendet werden^[1, 45]. Aufgrund der präzisen Lokalisation des NV-Defekts im Diamantgitter kann dieser als ein punktförmiger magnetischer Dipol betrachtet werden, dessen Energie durch die Anwesenheit von externen Spins verändert wird. Solche

Energieänderungen, (die als Verschiebung der Spektrallinien, Störungen des Spin-Echo oder verstärkter Relaxation der NV-Zentren aufgenommen werden), können über die optisch detektierte magnetische Resonanz der NV-Zentren ausgelesen werden. Die Detektion von externen Elektronenspins mittels solch eines Diamant-Magnetometers^[46] könnte einzigartige Möglichkeiten bieten, um Biomoleküle sogar in ihrer zellulären Umgebung zu studieren. Schnell fluktuierende externe Spins wurden bereits über die verstärkte Relaxation der NV-Zentren gemessen. In diesem Fall wird das Rauschen der externen Spins als Signal gemessen (Störungs- oder Dekohärenz-Mikroskopie)^[47].

Typischerweise umfasst das Ziel der gängigen Sensorsysteme die Verringerung des Rauschens, um einen optimalen Zugang zu einem kohärenten Signal zu erhalten. In der Dekohärenz-Mikroskopie stellt das Rauschen selbst das Signal dar. Die Empfindlichkeit dieser Technik kann die ultimative Grenze bis zu der Detektion eines einzigen paramagnetischen Ions erreichen^[48]. Sie kann ferner auf die Detektion von Biomolekülen erweitert werden, beispielsweise wenn paramagnetische Ionen an Proteine geknüpft werden.^[49] Der Nachweis von einzelnen Elektronenspins kann auch auf Proteine angewendet werden, in denen Spins bereits nativ vorhanden sind und die eine bestimmte Funktion ausüben, wie beispielsweise in eisenreichen, magnetischen Proteinen wie dem Ferritin^[27b, 50].

Die Detektion von Ferritin (ein Protein, das in der Lage ist, Eisen in zahlreichen Organismen zu speichern) über magnetisches Rauschen, das durch das paramagnetische Eisen im Inneren des Proteinkäfigs induziert wird, konnte bereits mit einer Empfindlichkeit im Bereich der Einzelmoleküldetektion verwirklicht werden.^[27b, 50] Es konnte eine signifikante Verringerung sowohl der Kohärenz- (T_2) als auch der Relaxationszeit (T_1) des NV-Zentrums aufgrund des Ferritins auf der Oberfläche der NDs erhalten werden (Abbildung 5). Auf diesem Weg eröffnen nanoskopische Magnetfeldsensoren auf der Basis einzelner Defekte in Diamant eine neue Sensortechnologie, die das Potential bietet, wichtige biologische Prozesse aufzuklären, wie z.B. den Elektronentransfer in einer zellulären Umgebung. Die bemerkenswerte Empfindlichkeit zusammen mit dem nicht-invasiven Charakter dieses Nachweisverfahrens könnte einen Zugang zur Aufklärung quantenmechanischer Eigenschaften in biologischen Systemen liefern, wie beispielsweise in Elektronentransfer- und Radikalpaardynamiken, die typischerweise über *Ensemble-Messungen* und hoch invasive Messsysteme nicht nachweisbar sind^[51].

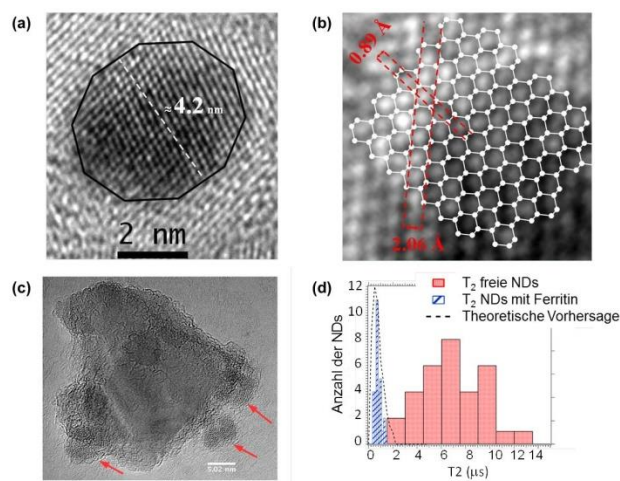


Abbildung 5. Die Detektion von Eisenatomen im Inneren des Ferritins über NV-Zentren in ND mit der Empfindlichkeit eines einzelnen Proteins. (a) Hochauflösende Transmissionselektronenmikroskopische (HRTEM) Aufnahme von ND. (b) Das Kohlenstoffgitter des ND gemäß der HRTEM-Abbildung. (c) HRTEM-Abbildung von Ferritin-Proteinen, die auf der ND-Oberfläche adsorbiert wurden (einige Ferritine wurden durch rote Pfeile gekennzeichnet). (d) Nachweis von Ferritin durch die signifikante Verringerung der Kohärenzzeit (T_2).

4.3. Kernspinresonanzspektroskopie (NMR) an einzelnen Molekülen über Diamantspins

Die Kernspinresonanzspektroskopie stellt eine der leistungsstärksten Bildgebungstechniken in den Lebenswissenschaften dar. Sie erlaubt die Rekonstruktion von Proteinstrukturen über die Entschlüsselung von Wechselwirkungen zwischen Kernspins in komplexen Molekülen^[52]. Die Empfindlichkeit konventioneller NMR-Techniken (basierend auf der Induktionsdetektion) ist auf große Spinsysteme beschränkt. Es besteht allerdings ein wachsendes Interesse an der Entwicklung neuer NMR-Detektionsmethoden. Die NV-basierte Magnetometrie stellt eine der vielversprechendsten Entwicklungen auf diesem Forschungsgebiet dar.

Das magnetische Moment eines einzelnen Atomkerns ist schwach und etwa 1000-mal geringer im Vergleich zu dem eines Elektrons. In unmittelbarer Nähe eines NV-Zentrums (wenige Nanometer), kann aber schon ein einzelner Kernspin detektierbare Felder in der Größenordnung von einigen Mikrottesla erzeugen, die sogar die Ortsbestimmung einzelner Kernspins ermöglichen.^[53] Die größte Herausforderung von NV-basierten NMR-Experimenten ist die Positionierung des NV-Zentrums in unmittelbarer Nähe des gewünschten Moleküls unter gleichzeitigem Erhalt langer Kohärenzzeiten. Man sollte beachten, dass die Kohärenzzeit von NV-Defekten in Gegenwart von Rauschen, das von parasitären Spins an der Diamantgrenzfläche herrührt, unter Verwendung von Spinechos um Größenordnungen verbessert werden kann^[54]. Die Optimierung solcher Echossequenzen ermöglicht eine Situation, in der ein wesentlicher Teil des Rauschens eliminiert werden kann, aber der schmale spektrale Kanal für die Sensorik weiterhin geöffnet bleibt.

Vor kurzem wurde die Detektion von NMR-Signalen in 100 nm^3 Volumina der Flüssigprobe an der Diamantoberfläche realisiert^[55] und in einer mikrofluidischen Vorrichtung mit einer räumlichen Auflösung von unter 500 nm erreicht^[56]. Für Feststoffproben mit langer Kohärenzzeit der Kernspins (Si^{29} in Quarz und Kernspins, die über Wasserstoffbrückenbindungen an der Diamantoberfläche gebunden sind), reicht die Empfindlichkeit bereits für den Nachweis eines einzelnen Kernspins innerhalb weniger Sekunden Messzeit aus^[57] (Abbildung 6).

Um die NV-basierte NMR-Technik auf die Strukturaufklärung von Biomolekülen anzuwenden, muss die spektrale Auflösung des NV-Magnetometers verbessert werden, um dipolare Kopplungen und chemische Verschiebungen erkennen zu können. Solch eine Verbesserung könnte einerseits durch die Entwicklung neuer Messprotokolle ähnlich zu der zweidimensionalen NMR^[58], und andererseits durch eine Verbesserung der Kohärenzzeit der NV-Zentren nahe der Grenzfläche erreicht werden. Vielversprechende neue Techniken ermöglichen es inzwischen, das magnetische Rauschen unter Verwendung neuer Protokolle zu entfernen, die in dem Kontext der Quanteninformationsverarbeitung entwickelt wurden.^[59]

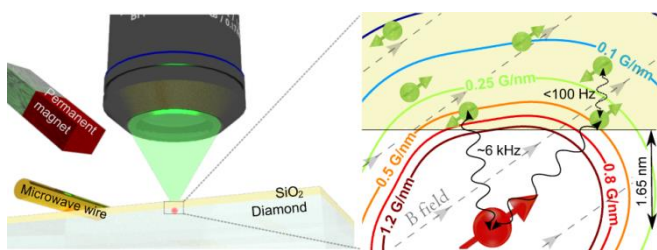


Abbildung 6. NMR von ^{29}Si -Kernen mit einem stark gekoppelten Sensor. (a) Schematische Darstellung des experimentellen Aufbaus. Verdünnte, unpolarisierte Kernspins in einer Silikatschicht interagieren mit einem Elektronenspin auf einer (100)-Diamantoberfläche, die mit optischer Mikroskopie ausgelesen werden können. (b) Schematische Darstellung des starken Kopplungsbereichs. Ein flaches NV-Zentrum in Diamant (2 nm unter der Oberfläche) koppelt mit in der Nähe befindlichen ^{29}Si -Kernen in einer Silikatschicht aufgrund der Hyperfeinkopplung. Die Konturlinien zeigen die Stärke der effektiven von den Kernspins ausgehenden magnetischen Gradienten. Reproduziert aus Lit.^[57] mit Genehmigung, Copyright Nature Publisher Group.

4.4. Hyperpolarisation von Diamanten für die molekulare Bildgebung

Die Kernspintomographie (MRT) stellt eine der wichtigsten Bildgebungstechniken in der Medizin dar. Aufgrund der langwelligen Radiofrequenzen der Photonen ist diese nicht durch Streuungen limitiert und ermöglicht somit, Gewebe nicht-invasiv abzubilden. Allerdings ist die geringe Empfindlichkeit ein Hauptnachteil dieser Technik, die z. T. auf die geringe Polarisation der Kernspins bei niedrigen Temperaturen zurückzuführen ist. Vor kurzem konnte gezeigt werden, dass sich die Empfindlichkeit der MRT durch die dynamische Kernspinpolarisation (DKP) von NDs verbessern lässt.^[60] (Abbildung 7).

Ein zentrales Element dieses Polarisationsverfahrens stellt das optische Pumpen dar, das es ermöglicht, Elektronenspins von

NV-Zentren innerhalb weniger Mikrosekunden selbst bei Raumtemperatur zu polarisieren (Hyperpolarisation). Diese Polarisation kann über etablierte NMR-Protokolle, die auf der Hartmann-Hahn-Resonanz^[12], dem Solideffect^[61] oder der Resonanz zwischen Elektronen- und Kernspins über vermeidete Kreuzung von Energieniveaus^[62] auf Kernspins überführt werden. Bislang stellt die Polarisation von NDs aufgrund der ungeordneten Orientierung der NV-Zentren noch eine weitaus größere Schwierigkeit verglichen mit der von makroskopischem Diamant dar. Allerdings konnten vor kurzem fortgeschrittene DKP-Protokolle entwickelt werden, die diesen Aspekt bereits adressieren^[60b] und sich in ersten Experimenten bewährt haben^[60c].

Der größte Vorteil von NV-Defekten für die DKP betrifft jedoch das optische Pumpen, das es ermöglicht, ein einzelnes NV-Zentrum für die Polarisation einer Vielzahl von Kernspins auf einer extrem kurzen Zeitskala zu realisieren.^[12] Weiterhin können die Experimente bei geringen Feldern und bei Raumtemperatur ohne Effizienzverlusten durchgeführt werden. Hyperpolarisierte NDs weisen lange (mehr als eine Minute) Relaxationszeiten^[63] auf und für makroskopische Diamanten konnten bei Raumtemperatur bereits Relaxationszeiten im Bereich von Stunden gemessen werden, was für Anwendungen in der MRT wichtig wäre. Weiterhin ermöglichen NV-Defekte auch die Polarisation von externen Kernspins, wenn diese sich nahe der Diamant-Oberfläche befinden^[64] und ermöglichen so die Konstruktion von Durchflusszellen, in denen hoch polarisierte Moleküle in Volumina, die sich für die NMR-Detektion eignen, gewonnen werden könnten.^[65]

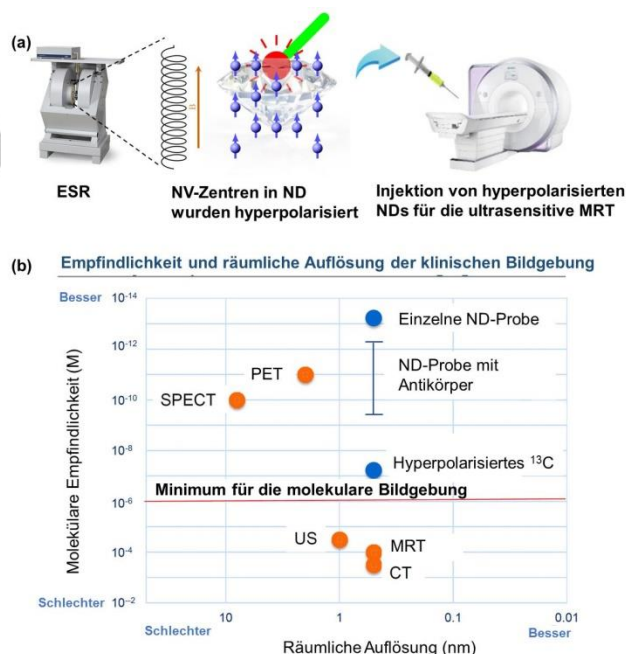


Abbildung 7. Hyperpolarisation von NV-Zentren in ND für die Signalverstärkung in der MRT. (a) Illustration des Prozesses der Hyperpolarisation durch NV-Zentren für die Signalverstärkung in der MRT. (b) Vergleich der Empfindlichkeit und Ortsauflösung von klinisch angewendeten Bildgebungstechniken und der hyperpolarisierten MRT. PET bezeichnet hier die

Positronenemissionstomographie; SPECT die single-photon emission computed tomography; US steht für Ultraschall; CT bezeichnet die Computertomographie. Verglichen mit existierenden MRT-Systemen könnten hyperpolarisierte ND-Proben potentiell die gleiche räumliche Auflösung wie MRT allerdings gepaart mit einer extrem hohen Empfindlichkeit für die molekulare Bildgebung erreichen.

4.5 Selbstorganisierte ND-Strukturen

Die skalierbare Realisierung von geordneten Strukturen von NV-Zentren in Diamant bleibt eine zentrale Herausforderung auf dem Weg zu einer effizienten Quanteninformationsverarbeitung, Quantensimulation und Quantensensorik-Anwendungen. Obwohl bereits Technologien auf Basis von implantierten NV-Zentren in makroskopischen Diamantkristallen oder Hybrid-Devices entwickelt wurden, sind diese durch die erreichbare räumliche Auflösung und durch die aufwendige technologische Komplexität und Skalierbarkeit begrenzt. Ein neuer Ansatz für eine Anordnung von NV-Zentren basiert auf den einzigartigen Möglichkeiten biologischer Systeme zur präzisen Selbstorganisation und deren hoher räumlicher Auflösung, die bereits diskutiert und demonstriert wurde^[66]. Eine Realisation von miteinander verbundenen NDs durch biologische Strukturen stellt die Bildung von kleinen ND-Komplexen mit SP1 (*Stable Protein 1*) dar. Erste Schritte zur Bildung von regelmäßigen Anordnungen von NDs auf SP1-Arrays konnten bereits verwirklicht werden^[66] (Abbildung 8). Als ein wichtiges Ergebnis zur Erzeugung von geordneten ND-Strukturen konnte die Bildung zahlreicher Dimere und Trimere mit größeren geordneten Strukturen, wie beispielsweise einem sieben-ND Hexagon, erreicht werden.

Fernab von 1D- und 2D-periodischen Mustern ermöglicht das Verfahren des DNA-Origami, das auf der Faltung eines großen Einzelstrang-DNA-Moleküls durch zahlreiche kleinere, sogenannte "Stapelstränge" beruht, die Erzeugung von komplexen und präzise steuerbaren Strukturen, die von aperiodischen Arrays bis zu realen dreidimensionalen Architekturen reichen^[67]. Basierend auf den selektiven Watson-Crick-Basenpaarungen konnten präzise definierte 2D- oder 3D-DNA-Nanostrukturen entwickelt und hergestellt werden. Hybrid-Anordnungen auf Basis von DNA-Nanostrukturen bieten eine ideale Plattform, um die Entfernung und orientierungsabhängigen elektronischen und optischen Eigenschaften von Fluorophoren und Nanopartikeln zu untersuchen. Bislang hat die geringe kolloidale Stabilität bei hohen Ionenstärken, auch von beschichteten NDs, ihre Verknüpfung mit DNA-Nanostrukturen beschränkt. Vor kurzem wurde eine biopolymerbasierte Beschichtung vorgestellt, mit der sich NDs sogar bei hohen Ionenstärken effizient verkapseln lassen und die eine hohe kolloidale Stabilität verleiht, die für die DNA-Anbindung essentiell ist (siehe Abschnitt 3.3). Mit Vitamin H (Biotin) funktionalisierte und perfekt dispergierte NDs konnten aufgrund der starken Wechselwirkung von Biotin und dem Protein Streptavidin in vordefinierte 1D-, 2D- und 3D-Geometrien genauestens angeordnet werden.^[68] Derartige Anordnungen bieten einzigartige Möglichkeiten, um selbstorganisierende Spingitter

oder plasmonverstärkte Spinsensoren sowie verbesserte Fluoreszenzmarker zu realisieren.

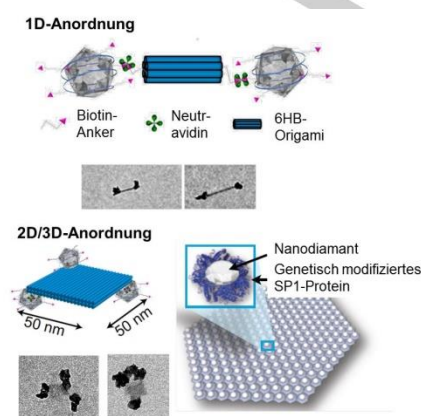


Abbildung 8. Selbstorganisation von NDs auf einem DNA-Origami Templat und einem Protein-Templat (SP1).

5. Diamant-Sensorik in lebenden Systemen – Fortschritte und Herausforderungen

Die Anwendung der Diamantsensorik zur Aufklärung verschiedenster biologischer Fragestellungen, wie beispielsweise der Struktur und Dynamik von Proteinen in lebenden Zellen, stellt einen aufstrebenden neuen Forschungszweig dar. Über die Vorteile der traditionellen optischen Bildgebung hinaus könnten NDs auch in lebenden biologischen Systemen als Sonden zum Nachweis kleinster magnetischer Felder, von Kern- und Elektronenspins, Drücken und Temperatur unter Verwendung der in Abschnitt 4 beschriebenen Techniken, mit nanoskopischer und sogar atomarer Präzision angewendet werden.^[1, 69] Aus diesem Grund stellt die Anwendung von Diamant-Magnetfeldsensoren für biologische Untersuchungen ein ausgesprochen vielversprechendes Werkzeug dar, um die Struktur und Dynamik von Biomolekülen in einer biologischen Umgebung unter physiologischen Bedingungen aufzuklären. Um dieses ultimative Fernziel zu erreichen, müssen allerdings noch einige große Herausforderungen adressiert werden. In diesem Abschnitt wird der aktuelle Fortschritt der NV-Diamantmaterialien für biologische Anwendungen kurz diskutiert, wobei insbesondere das Zukunftspotential und die Herausforderungen dieser Technik hervorgehoben werden.

5.1. Biologische Verträglichkeit von NDs

Aufgrund ihres sehr stabilen Kohlenstoffgitters werden Diamanten in der Regel als stabil, bioinert und biokompatibel betrachtet^[70]. Der Anwendungsbereich von Diamant-Nanopartikeln für *in vitro*- und *in vivo*-Studien muss dennoch sorgfältig aufgrund ihrer potentiellen "Nanotoxizität" untersucht werden, d.h. der Toxizität, die aufgrund ihrer nanoskopischen Größe hervorgerufen werden kann. Bis heute legen zahlreiche *in vitro*-Zytotoxizitätsstudien nahe, dass NDs sich im Vergleich zu

anderen Nanomaterialien, wie den Kohlenstoffnanoröhrchen, halbleitenden oder metallischen Nanopartikeln, bioverträglicher verhalten und bislang keine Zelltoxizität in verschiedenen Zelllinien induzieren.^[71] Langzeitstudien von NDs in der Zellkultur zeigen weiterhin, dass NDs keine chromosomalen oder genetischen Schäden verursachen und sich gleichmäßig in Tochterzellen verteilen, ohne die Zellteilung und deren Differenzierung negativ zu beeinflussen.^[72] Intensive *in vivo* Studien an Mäusen und *Caenorhabditis elegans* deuteten weiterhin auf eine vielversprechende Biokompatibilität hin, ohne dabei Lebertoxizität, systemische Entzündungen oder sonstige nachteilige Wirkungen auf die Nachkommen zu erzeugen.^[73]

Kürzlich wurde auf einige potentielle Risiken von NDs hingewiesen, wie beispielsweise das Auftreten einer erhöhten Gesamtmenge an reaktiven Sauerstoffspezies in humanen Hepatozyten^[74], das Herbeiführen leichter DNA-Schädigungen in embryonalen Stammzellen^[75] sowie die Langzeitakkumulation in der Leber, der Milz und der Lunge in Zusammenspiel mit einer langsamen Ausscheidungsrate^[76]. Wie jedes andere, nicht körpereigene Material können NDs abhängig von den angewendeten Konzentrationen Nebenwirkungen *in vitro* und *in vivo* hervorrufen. Auf der Grundlage der bislang veröffentlichten *in vitro* und *in vivo* Studien gehören NDs jedoch zu den biokompatibleren Nanopartikeln mit einem vielversprechenden *biosafety* Profil. NDs von unterschiedlicher Größe, mit verschiedenen Oberflächenmodifikationen und Verabreichungswegen werden wahrscheinlich auch eine unterschiedliche Verteilung und potentielle Nebenwirkungen aufweisen. Aus diesem Grund muss die biologische Verträglichkeit von NDs sorgfältig untersucht werden, wenn diese als *in vivo* Sensoren profiliert werden sollen. Durch eine Verbesserung der Qualität der ND-Sensoren, beispielsweise durch eine Größenoptimierung, die Verengung der ND-Größenverteilungen, die Verbesserung der Kolloidstabilität unter *in vivo* Bedingungen sowie durch eine Funktionalisierung der ND-Oberfläche werden NDs bereitstehen, die sich für die jeweiligen *in vitro*- und *in vivo*-Anwendungen optimal eignen.

5.2. NDs für den Wirkstofftransport

Die gegenwärtig am meisten beforschten Anwendungen von NDs in biologischen Systemen konzentrieren sich hauptsächlich auf den Transport von Wirkstoffen. Als Träger von Wirkstoffen weisen NDs zahlreiche Vorteile auf, da sie sich mittels Fluoreszenz nachweisen lassen und ihre Oberflächenfunktionalisierung die Beladung mit verschiedenen Wirkstoffen sowie die Anheftung von Signalmolekülen für die zellspezifische Anbindung erleichtert. Die erste Generation von ND-Wirkstofftransportern wurde durch eine einfache Adsorption der lipophilen Wirkstoffmoleküle auf der Oberfläche der NDs erzielt.^[77] Diese ND-Wirkstoff-Komplexe bestanden aus ca. 4-6 nm primären ND- Detonationspartikeln, die sich in Lösung in 100-200 nm große Aggregate zusammenlagern, welche in der Lage sind, größere Mengen an Wirkstoffen aufzunehmen und deren Blutzirkulationszeit, Plasma-Halbwertszeit sowie deren Verweildauer im Tumorgewebe deutlich zu verbessern.^[77-78]

Verschiedene Krebswirkstoffe wurden über diesen Ansatz transportiert^[77, 79] und es wurden ferner Fortschritte gemacht, um Tumorzellen in einem gerichteten Wirkstofftransport gezielt anzusteuern, die Wirkstoffe kontrolliert freizusetzen, den Verbleib und Transport intrazellulär zu verfolgen sowie Chemoresistenz zu vermeiden^[34b, 80]. Die Herstellung von stabilen und definierten Nanopartikeln mit schmalen Größenverteilungen stellt auf diesem Weg allerdings eine große Herausforderung dar, was die Risiken von unspezifischen Wechselwirkungen mit Plasmaproteinen und unvorhersehbaren Nebenwirkungen erhöht.^[81] ND-Transporter der zweiten Generation konnten durch Oberflächenmodifikationen von einzelnen ND-Partikeln mit stabilisierenden Polymeren^[82], Wirkstoffmolekülen^[29, 83], wie dem Antikrebsmittel Doxorubicin (DOX)^[84], sowie Platin-Komplexen^[85], erzielt werden, die kovalent an die NDs gebunden wurden. Hierbei zeigten einige sogar eine Stimulus-induzierte Freisetzung des Wirkstoffs.^[83b, 84-85] Unter all diesen kovalenten Modifikationen erwies sich die Einführung einer Polyglycerinhülle^[84-85] als besonders attraktiv, da diese die ND-Stabilität deutlich erhöhte und somit vielseitige Perspektiven bietet, vor allem den Transport von hydrophilen Arzneimitteln, wie z.B. von Platin-Komplexen, zu verbessern, da keine Agglomeration in Säugerzellen beobachtet wurde. Allerdings besteht nach wie vor die große Herausforderung, nach Beladung gerade mit hydrophoben Wirkstoffen eine ausreichende kolloidale Stabilität beizubehalten^[27a]. Vor kurzem haben wir den Transport von Wirkstoffen durch NDs untersucht, die eine Albumin-Biopolymerbeschichtung aufwiesen. Diese zeigten, wie in Abschnitt 3.3 dargelegt, eine ausgezeichnete Stabilität unter biologischen Bedingungen. Wirkstoffmoleküle wurden kovalent an das Albumin-Gerüst über einen säurelabilen Linker konjugiert.^[35] Sogar nach einer hohen Beladung mit hydrophoben Wirkstoffen zeigten die so erhaltenen ND-Wirkstoffkonjugate eine außerordentliche Stabilität in biologischen Flüssigkeiten ohne detektierbare Aggregatbildung. Die vorläufigen *in ovo* Daten mit Brustkrebs -Xenotransplantaten auf chorioallantoischen Membranen von Hühnerembryos (CAM) zeigten ebenfalls einen verbesserten Effekt an den Tumoren, die nach Behandlung mit den ND-Wirkstoffkonjugaten eine geringere Größe aufwiesen.^[35] Alle diese Versuche weisen darauf hin, dass die Oberflächenbeschichtung und Modifikation von NDs eine wirksame Strategie darstellt, um NDs als effiziente Wirkstofftransporter zu profilieren.

5.3. Potenzial und Herausforderungen der Diamantsensorik in biologischen Systemen

Die bereits diskutierte Evaluation der biologischen Verträglichkeit und die Studien zum Wirkstofftransport unterstützen das vielversprechende Potential der Verwendung von NDs in lebenden biologischen Systemen. Weiterhin wurden die einzigartigen Möglichkeiten der Quantensensorik basierend auf NV-Zentren vorgestellt.

Über eine Kombination dieser Vorteile bieten NDs das große Potential, als die kleinsten Sensoren zur Erfassung geringster Magnetfelder und Elektronenspins *in vitro* und schließlich auch *in vivo* in lebenden Zellen als nicht-invasive Nanosensoren zur

Untersuchung der Struktur und biologischen Reaktionen in lebenden Organismen zu dienen. Obwohl sich dieses Forschungsgebiet gerade erst erschließt, konnten bereits einige erfolgreiche Beispiele demonstriert werden, die das einzigartige Potenzial von ND-Quantensensoren unterstreichen. Die magnetische Resonanz von einzelnen, fluoreszenten ND optisch in lebenden, menschlichen Hela-Zellen detektiert werden, wobei ihr Ort, die Orientierung, Spinzustände und Spin-Kohärenzzeiten mit nanoskaliger Präzision ausgelesen wurde.^[80d] Die Energien der Spinzustände in einzelnen NV-Zentren wurden dabei zur Identifizierung und Verfolgung der NDs mit identischer Fluoreszenz genutzt. Zudem können die Messungen der Kohärenzzeiten Information über Änderungen in der lokalen Umgebung generieren und damit einmalige Einblicke in intrazelluläre Prozesse geben. Ein erfolgreiches Beispiel ist die ND-basierte hochsensitive Thermometrie auf der Nanoskala über die Messung der Kohärenzzeiten des NV-Zentrums in Abhängigkeit von der Temperatur. Zudem hängt in einem verschwindenden externen Magnetfeld die präzise Position der magnetischen Resonanz von der Temperatur ab und kann daher zur Bestimmung von lokalen Temperaturänderungen genutzt werden (siehe Abbildung 1 und Abbildung 10). Mithilfe dieser Technik ist es möglich, die lokale Temperatur in einer lebenden Zelle mit einer Auflösung von 200 nm zu messen^[69]. Analoge Ideen versprechen weiterhin, kleinste Kräfte in Zellen und Proteinen zu detektieren^[86].

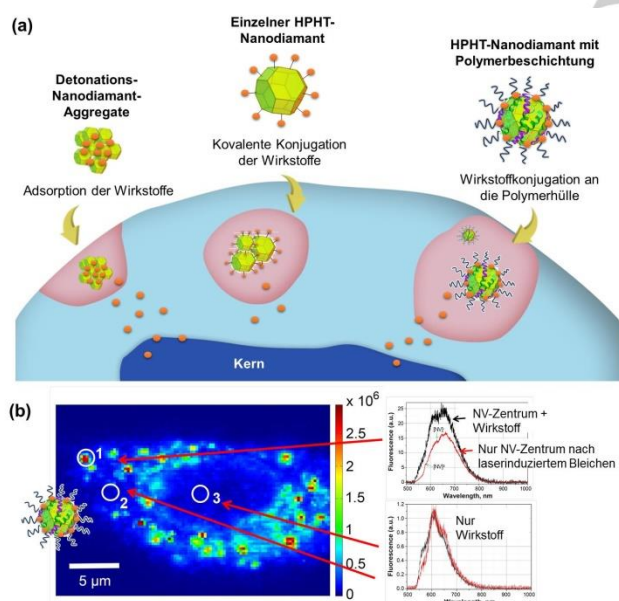


Abbildung 9. Darstellung von ND-basierten Wirkstofftransportern. (a) Vergleich von verschiedenen ND-basierten Wirkstofftransportstrategien. Detonations-NDs bilden Aggregate, die Wirkstoffmoleküle adsorbieren können und ferner eine unkontrollierte Freisetzung der Wirkstoffe ermöglichen.^[27a, 77-78, 79b] Nicht beschichtete HPHT-NDs mit kovalent verknüpften Wirkstoffen neigen häufig zur Aggregatbildung in biologischen Systemen.^[29, 83a] Polymerbeschichtete HPHT-NDs ermöglichen die Beladung von Wirkstoffmolekülen in der Polymerhülle und eine stimulusinduzierbare Wirkstofffreisetzung.^[34c, 35] (b) Konfokale Fluoreszenzmikroskopie in lebenden Zellen von Doxorubicin (DOX, ein anti-Krebswirkstoff), der an HPHT-NDs kovalent angebunden wurde.^[35] Der erste Kreis unterstreicht eine repräsentative Emission in der Zelle, die überlappende

Emissionsspektren der NV-Zentren und DOX-Wirkstoffe aufweist. Nach dem Bleichen mit Laserlicht kann die DOX-Emission gelöscht werden, so dass die unter diesen Bedingungen stabile Fluoreszenz der NV-Zentren deutlich beobachtet und aufgenommen werden kann. Die kreisförmigen Markierungen 2 und 3 bezeichnen die Fluoreszenzspektre im Cytosol und im Kern, welche ausschließlich die Emission von DOX zeigen, was auf die Freisetzung der DOX-Wirkstoffe vom ND-Träger deutet.

Wenn hingegen ein externes magnetisches Feld in der biologischen Probe angewendet wird, dann hängen die Spin-Kohärenzzeiten der NV-Zentren von der magnetischen Umgebung ab, was im Prinzip die magnetische Abbildung von Proteinen *in vitro*^[27b] und sogar in lebenden Zellen ermöglichen würde. Als ein erstes Beispiel könnten die Magnetosomen abgebildet werden, die in magnetotaktischen Bakterien produziert werden. Die Bildgebung könnte über die optische Detektion der magnetischen Resonanz von NV-Zentren erfolgen, die auf der Oberfläche eines Diamant-Chips implantiert werden^[87]. Weiterhin, wie in Abschnitt 4.2 beschrieben, könnten NV-Zentren Elektronenspins in einer biologischen Umgebung detektieren. Wenn solch eine Elektronenspin-Markierung in das entsprechende Biomolekül von Interesse eingefügt wird, dann könnte diese Technik die Detektion und Analyse des Biomoleküls mit NV-Zentren in einem lebenden System mit Einzelmolekülsensitivität ermöglichen. Weiterhin könnte die Einzelmolekül-NMR-Technik, die in Abschnitt 4.3. beschrieben wurde, sogar die Detektion von Kernspins erlauben, wodurch ein tieferes Verständnis von zellulären Reaktionen in Echtzeit, sogar in lebenden Zellen, generiert werden könnte. Die Erkennung von Kernspins stellt eine größere Herausforderung als die Detektion von Elektronenspins dar, da aufgrund des höheren Rauschens von Kernspins in einem biologischen System, als auch durch das schwache magnetische Moment der Kernspins, sich diese in sehr großer Nähe zu den NV-Zentren befinden müssen. Wie in Abschnitt 4.3 dargestellt, werden hierzu gegenwärtig eine Reihe von vielversprechenden Lösungsansätzen verfolgt. Wir erwarten, dass die Hyperpolarisationstechnik basierend auf NV-Zentren zukünftig eine ultrahochoflösende MRT, wie in Abschnitt 4.5 beschrieben, ermöglichen wird. Die bisherigen Studien konnten die generelle Realisierbarkeit von kontrollierten NV-Zentren als Einzelspinsonden für die nanoskalige Magnetometrie in biologischen Systemen nachweisen, so dass eine Vielzahl von neuen Möglichkeiten für die quantenbasierte Bildgebung in den Lebenswissenschaften denkbar werden.

Es sollte betont werden, dass zahlreiche Schwierigkeiten noch überwunden werden müssen, bevor diese Ideen voll zum Tragen gebracht werden können. Die hohe Empfindlichkeit des NV-Sensors, die es erlaubt, winzigste Signale aufzuzeichnen, impliziert auch, dass dieser leicht durch eine Vielzahl von Rauschquellen gestört wird, wie beispielsweise Kern- und Elektronenspins, Ladungen und Radikale in ungeordneter Bewegung, die intrinsisch in biologischen Systemen vorhanden sind. Darüber hinaus ist der ND-Sensor nicht stationär und wird sich bewegen und drehen, was zu einer Randomisierung der Signale führt. Lösungen für diese Herausforderungen werden derzeit in Physiklabors entwickelt (siehe Kapitel 4). Diese Protokolle werden aber sicherlich angepasst und auf biologische Umgebungen übertragen werden müssen, um ihre erfolgreiche

Anwendung zunächst *in vitro* und schließlich *in vivo* zu ermöglichen. Obwohl all diese Überlegungen sicherlich Herausforderungen darstellen, konnte die aktuelle Forschung bislang keine grundlegenden Einschränkungen in diese Richtung identifizieren. Daher ist zu erwarten, dass eine ganze Reihe von Anwendungen der ND-Sensorik in der Biologie realisiert werden können. Danach kann deren Leistung im Vergleich zu den etablierten Technologien im Detail bewertet werden können, um Anwendungsbereiche zu identifizieren, in denen die aktuellen Technologien übertroffen werden und ein neuer Zugang zur Beobachtung von biologischen Phänomenen eröffnet wird.

6. Zusammenfassung

Der Nachweis und die Analyse der Struktur, Dynamiken und Wechselwirkungen einzelner Moleküle unter nativen Bedingungen mit hoher Empfindlichkeit und einer räumlichen Auflösung im Nanometerbereich stellt eine bedeutende Herausforderung mit einer starken Wirkung für die moderne Wissenschaft und Technologie dar. Das NV-Zentrum in Diamant ist ein einzigartiges Werkzeug, und es ermöglicht (1) nichtbleichende Fluoreszenzmessungen für die supraauflösende Fluoreszenzmikroskopie, (2) Elektronenspin- und Kernspindetektion mit einem großem Potenzial für eine atomare Auflösung unter Umgebungsbedingungen sowie (3) eine Hyperpolarisation durch einfaches optisches Pumpen, um die Empfindlichkeit der MRT zu erhöhen. Darüber hinaus können in Diamant-Nanopartikeln mit bis zu 2 nm Größe stabile NV-Zentren implantiert werden, was eine Sensorik im Nanometerbereich auf Einzelmolekülebene erlauben würde. Weiterhin können NDs mit Biomolekülen funktionalisiert werden und in biologische Systeme eindringen und dort eine vielversprechende Biokompatibilität aufweisen. Daher könnte die Quantensensorik mit NV-Zentren auch auf Zellen übertragen werden, um dort eine Sensorik im Nanobereich, ja sogar in lebenden Zellen, zu ermöglichen. Theoretische und quantenoptische Studien haben bereits die Stärke der Quantensensorik *in vitro* nachgewiesen und einige wegweisende Studien konnten bereits das große Potenzial für die nanoskalige Sensorik in lebenden Zellen aufzeigen. Wir denken, dass durch die vielfältigen Möglichkeiten der ND-basierten Quantensensorik sich diese als ein wegweisendes Werkzeug für die Bildgebung in dem weiten Feld der Lebenswissenschaften entwickeln wird und einen beispiellosen Zugang und Einblick in die Struktur, Dynamik und Funktion einzelner Biomoleküle unter physiologischen Bedingungen bieten wird.

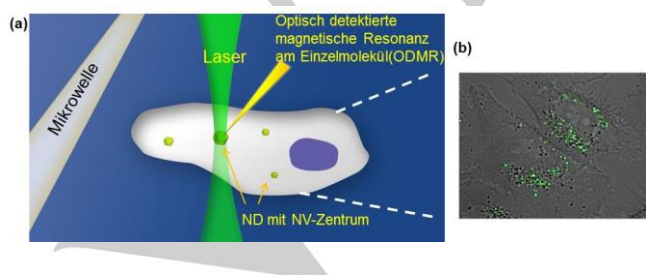


Abbildung 10. Illustration der ND-Quantensensorik in lebenden Zellen. (a) Der Versuchsaufbau. (b) Abbildung von NDs mit NV-Zentren mittels konfokaler Fluoreszenzmikroskopie in lebenden Zellen (grüne Punkte).

Danksagung

Diese Arbeit wurde durch das ERC Synergy Grant BioQ (319130) und eine Alexander von Humboldt Professur gefördert. Wir möchten uns bei Dr. Rolf Reuter für zahlreiche hilfreiche Kommentare bedanken.

Schlagerworte: NV-Diamant • Quantensensor • Hyperpolarisation • Wirkstofftransport • Einzelmolekül-Kernresonanz

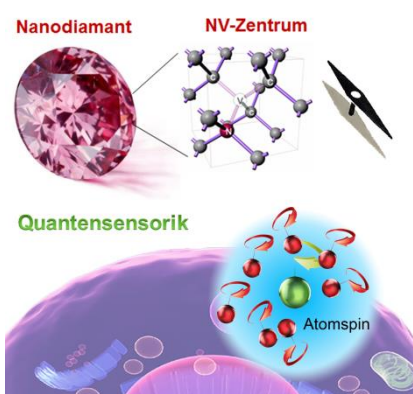
- [1] G. Balasubramanian, I. Y. Chan, R. Kolesov, M. Al-Hmoud, J. Tisler, C. Shin, C. Kim, A. Wojcik, P. R. Hemmer, A. Krueger, T. Hanke, A. Leitenstorfer, R. Bratschitsch, F. Jelezko, J. Wrachtrup, *Nature* **2008**, *455*, 648-651.
- [2] a) F. Dolde, H. Fedder, M. W. Doherty, T. Nobauer, F. Rempp, G. Balasubramanian, T. Wolf, F. Reinhard, L. C. L. Hollenberg, F. Jelezko, J. Wrachtrup, *Nat. Phys.* **2011**, *7*, 459-463; b) L. Rondin, J. P. Tetienne, T. Hingant, J. F. Roch, P. Maletinsky, V. Jacques, *Rep. Prog. Phys.* **2014**, *77*, 056503.
- [3] A. M. Zaitsev, *Optical Properties of Diamond: A Data Handbook*, Springer, **2001**.
- [4] G. Davies, *Properties and Growth of Diamond*, The Institution of Electrical Engineers (INSPEC), **1994**.
- [5] M. W. Doherty, N. B. Manson, P. Delaney, F. Jelezko, J. Wrachtrup, L. C. L. Hollenberg, *Phys. Rep.* **2013**, *528*, 1-45.
- [6] a) J.-P. Boudou, J. Tisler, R. Reuter, A. Thorel, P. A. Curmi, F. Jelezko, J. Wrachtrup, *Diamond Relat. Mater.* **2013**, *37*, 80-86; b) J. P. Boudou, P. A. Curmi, F. Jelezko, J. Wrachtrup, P. Aubert, M. Sennour, G. Balasubramanian, R. Reuter, A. Thorel, E. Gaffet, *Nanotechnology* **2009**, *20*, 235602.
- [7] I. I. Vlasov, A. A. Shiryayev, T. Rendler, S. Steinert, S.-Y. Lee, D. Antonov, M. Voros, F. Jelezko, A. V. Fisenko, L. F. Semjonova, J. Biskupek, U. Kaiser, O. I. Lebedev, I. Sildos, P. R. Hemmer, V. I. Konov, A. Gali, J. Wrachtrup, *Nat. Nanotechnol.* **2014**, *9*, 54-58.
- [8] a) K. B. Holt, *Philos. Trans. A. Math. Phys. Eng. Sci.*, **2007**; 365, 2845-2861; b) A. M. Schrand, S. A. C. Hens, O. A. Shenderova, *Crit. Rev. Solid State Mater. Sci.* **2009**, *34*, 18-74; c) V. N. Mochalin, O. Shenderova, D. Ho, Y. Gogotsi, *Nat. Nanotechnol.* **2012**, *7*, 11-23.
- [9] G. Balasubramanian, P. Neumann, D. Twitchen, M. Markham, R. Kolesov, N. Mizuochi, J. Isoya, J. Achard, J. Beck, J. Tissler, V. Jacques, P. R. Hemmer, F. Jelezko, J. Wrachtrup, *Nat. Mater.* **2009**, *8*, 383-387.
- [10] A. Gruber, A. Dräbenstedt, C. Tietz, L. Fleury, J. Wrachtrup, C. v. Borczyskowski, *Science* **1997**, *276*, 2012-2014.
- [11] J. Wrachtrup, C. von Borczyskowski, J. Bernard, M. Orritt, R. Brown, *Nature* **1993**, *363*, 244-245.
- [12] P. London, J. Scheuer, J. M. Cai, I. Schwarz, A. Retzker, M. B. Plenio, M. Katagiri, T. Teraji, S. Koizumi, J. Isoya, R. Fischer, L. P. McGuinness, B. Naydenov, F. Jelezko, *Phys. Rev. Lett.* **2013**, *111*, 067601.
- [13] a) L. J. Rogers, K. D. Jahnke, M. H. Metsch, A. Sipahigil, J. M. Binder, T. Teraji, H. Sumiya, J. Isoya, M. D. Lukin, P. Hemmer, F. Jelezko, *Phys. Rev. Lett.* **2014**, *113*, 263602; b) L. J. Rogers, K. D. Jahnke, M. W. Doherty, A. Dietrich, L. P. McGuinness, C. Müller, T. Teraji, H. Sumiya, J. Isoya, N. B. Manson, F. Jelezko, *Phys. Rev. B* **2014**, *89*, 235101.
- [14] a) Z. Z. Liang, X. Jia, H. A. Ma, C. Y. Zang, P. W. Zhu, Q. F. Guan, H. Kanda, *Diamond Relat. Mater.* **2005**, *14*, 1932-1935; b) Z. Z. Liang, H. Kanda, X. Jia, H. A. Ma, P. W. Zhu, Q.-F. Guan, C. Y. Zang, *Carbon* **2006**, *44*, 913-917.
- [15] a) G. Davies, M. F. Hamer, *Proc. R. Soc. Lond. A* **1976**, *348*, 285-298; b) S. J. Yu, M. W. Kang, H. C. Chang, K. M. Chen, Y. C. Yu, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17604-17605; c) F. Treussart, V. Jacques, E. Wu, T. Gacoin, P. Grangier, J. F. Roch, *Physica B Condens. Matter* **2006**, *376-377*, 926-929.
- [16] M. Schwander, K. Partes, *Diamond Relat. Mater.* **2011**, *20*, 1287-1301.
- [17] J. R. Rabreau, S. T. Huntington, A. D. Greentree, S. Prawer, *Appl. Phys. Lett.* **2005**, *86*, 134104.
- [18] O. A. Shenderova, D. M. Gruen, *Ultranocrystalline Diamond: Synthesis, Properties and Applications*, Elsevier Science, **2012**.

- [19] D. Amans, A.-C. Chenus, G. Ledoux, C. Dujardin, C. Reynaud, O. Sublemontier, K. Masenelli-Varlot, O. Guillois, *Diamond Relat. Mater.* **2009**, *18*, 177-180.
- [20] T. L. Daulton, M. A. Kirk, R. S. Lewis, L. E. Rehn, *Nucl. Instr. Meth. Phys. Res. B* **2001**, *175-177*, 12-20.
- [21] S. Welz, Y. Gogotsi, M. J. McNallan, *J. Appl. Phys.* **2003**, *93*, 4207-4214.
- [22] A. Stacey, I. Aharonovich, S. Prawer, J. E. Butler, *Diamond Relat. Mater.* **2009**, *18*, 51-55.
- [23] Company websites: <http://www.adamasnano.com/>; <http://www.diamondnanotechnologies.com/products>; <http://www.microdiamant.com/>.
- [24] T. A. Kennedy, J. S. Colton, J. E. Butler, R. C. Linares, P. J. Doering, *Appl. Phys. Lett.* **2003**, *83*, 4190-4192.
- [25] A. S. Barnard, M. Sternberg, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 19307-19314.
- [26] a) L. Moore, V. Grobarova, H. Shen, H. B. Man, J. Micova, M. Ledvina, J. Stursa, M. Nesladek, A. Fiserova, D. Ho, *Nanoscale* **2014**, *6*, 11712-11721; b) S. S. Batsanov, S. M. Gavrilkin, A. S. Batsanov, K. B. Poyarkov, I. I. Kulakova, D. W. Johnson, B. G. Mendis, *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 11166-11172.
- [27] a) M. Chen, E. D. Pierstorff, R. Lam, S.-Y. Li, H. Huang, E. Osawa, D. Ho, *ACS Nano* **2009**, *3*, 2016-2022; b) A. Ermakova, G. Pramanik, J. M. Cai, G. Algara-Siller, U. Kaiser, T. Weil, Y. K. Tzeng, H. C. Chang, L. P. McGuinness, M. B. Plenio, B. Naydenov, F. Jelezko, *Nano Lett.* **2013**, *13*, 3305-3309; c) H. D. Wang, C. H. Niu, Q. Yang, I. Badea, *Nanotechnology* **2011**, *22*, 145703.
- [28] A. Krueger, *J. Mater. Chem.* **2008**, *18*, 1485-1492.
- [29] X.-Q. Zhang, R. Lam, X. Xu, E. K. Chow, H.-J. Kim, D. Ho, *Adv. Mater.* **2011**, *23*, 4770-4775.
- [30] Y. Liu, K. Sun, *Nanoscale Res. Lett.* **2010**, *5*, 1045-1050.
- [31] B. M. Chang, H. H. Lin, L. J. Su, W. D. Lin, R. J. Lin, Y. K. Tzeng, R. T. Lee, Y. C. Lee, A. L. Yu, H.-C. Chang, *Adv. Funct. Mater.* **2013**, *23*, 5737-5745.
- [32] S. Arroyo-Camejo, M. P. Adam, M. Besbes, J. P. Hugonin, V. Jacques, J. J. Greffet, J. F. Roch, S. W. Hell, F. Treussart, *ACS Nano* **2013**, *7*, 10912-10919.
- [33] a) I. Rehor, J. Slegerova, J. Kucka, V. Proks, V. Petrakova, M.-P. Adam, F. Treussart, S. Turner, S. Bals, P. Sacha, M. Ledvina, A. M. Wen, N. F. Steinmetz, P. Cigler, *Small* **2014**, *10*, 1106-1115; b) A. Bumb, S. K. Sarkar, N. Billington, M. W. Brechbiel, K. C. Neuman, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 7815-7818.
- [34] a) X. Zhang, C. Fu, L. Feng, Y. Ji, L. Tao, Q. Huang, S. Li, Y. Wei, *Polymer* **2012**, *53*, 3178-3184; b) D. Wang, Y. Tong, Y. Li, Z. Tian, R. Cao, B. Yang, *Diamond Relat. Mater.* **2013**, *36*, 26-34; c) L. Zhao, Y.-H. Xu, H. Qin, S. Abe, T. Akasaka, T. Chano, F. Watari, T. Kimura, N. Komatsu, X. Chen, *Adv. Funct. Mater.* **2014**, *24*, 5348-5357.
- [35] Y. Wu, A. Ermakova, W. Liu, G. Pramanik, T. M. Vu, A. Kurz, L. McGuinness, B. Naydenov, S. Hafner, R. Reuter, J. Wrachtrup, J. Isoya, C. Förtsch, H. Barth, T. Simmet, F. Jelezko, T. Weil, **2015**, *Adv. Funct. Mater.* **2015**, *25*, 6576-6585.
- [36] W. E. Moerner, M. Orrit, *Science* **1999**, *283*, 1670-1676.
- [37] S. W. Hell, *Nat. Methods* **2009**, *6*, 24-32.
- [38] K. I. Willig, S. O. Rizzoli, V. Westphal, R. Jahn, S. W. Hell, *Nature* **2006**, *440*, 935-939.
- [39] E. Betzig, G. H. Patterson, R. Sougrat, O. W. Lindwasser, S. Olenych, J. S. Bonifacino, M. W. Davidson, J. Lippincott-Schwartz, H. F. Hess, *Science* **2006**, *313*, 1642-1645.
- [40] E. Rittweger, K. Y. Han, S. E. Irvine, C. Eggeling, S. W. Hell, *Nat. Photonics* **2009**, *3*, 144-147.
- [41] K. Y. Han, K. I. Willig, E. Rittweger, F. Jelezko, C. Eggeling, S. W. Hell, *Nano Lett.* **2009**, *9*, 3323-3329.
- [42] S. Arroyo-Camejo, M. P. Adam, M. Besbes, J. P. Hugonin, V. Jacques, J. J. Greffet, J. F. Roch, S. W. Hell, F. Treussart, *ACS Nano* **2013**, *7*, 10912-10919.
- [43] J. Tisler, R. Reuter, A. Lammler, F. Jelezko, G. Balasubramanian, P. R. Hemmer, F. Reinhard, J. Wrachtrup, *ACS Nano* **2011**, *5*, 7893-7898.
- [44] J. Tisler, T. Oeckinghaus, R. J. Stohr, R. Kolesov, R. Reuter, F. Reinhard, J. Wrachtrup, *Nano Lett.* **2013**, *13*, 3152-3156.
- [45] a) J. R. Maze, P. L. Stanwix, J. S. Hodges, S. Hong, J. M. Taylor, P. Cappellaro, L. Jiang, M. V. G. Dutt, E. Togan, A. S. Zibrov, A. Yacoby, R. L. Walsworth, M. D. Lukin, *Nature* **2008**, *455*, 644-647; b) J. M. Taylor, P. Cappellaro, L. Childress, L. Jiang, D. Budker, P. R. Hemmer, A. Yacoby, R. Walsworth, M. D. Lukin, *Nat. Phys.* **2008**, *4*, 810-816.
- [46] B. Grotz, J. Beck, P. Neumann, B. Naydenov, R. Reuter, F. Reinhard, F. Jelezko, J. Wrachtrup, D. Schweinfurth, B. Sarkar, P. Hemmer, *New J. Phys.* **2011**, *13*, 055004.
- [47] J. H. Cole, L. C. L. Hollenberg, *Nanotechnology* **2009**, *20*, 495401.
- [48] A. O. Sushkov, N. Chisholm, I. Lovchinsky, M. Kubo, P. K. Lo, S. D. Bennett, D. Hunger, A. Akimov, R. L. Walsworth, H. Park, M. D. Lukin, *Nano Lett.* **2014**, *14*, 6443-6448.
- [49] F. Z. Shi, Q. Zhang, P. F. Wang, H. B. Sun, J. R. Wang, X. Rong, M. Chen, C. Y. Ju, F. Reinhard, H. W. Chen, J. Wrachtrup, J. F. Wang, J. F. Du, *Science* **2015**, *347*, 1135-1138.
- [50] E. Schäfer-Nolte, L. Schlipf, M. Ternes, F. Reinhard, K. Kern, J. Wrachtrup, *Phys. Rev. Lett.* **2014**, *113*, 217204.
- [51] S. F. Huelga, M. B. Plenio, *Contemp. Phys.* **2013**, *54*, 181 - 207.
- [52] H. Duddack, W. Dietrich, G. Toth, *Structure Elucidation by Modern NMR*, 3 ed., Steinkopff-Verlag Heidelberg, **1998**.
- [53] a) J. M. Cai, F. Jelezko, M. B. Plenio, A. Retzker, *New J. Phys.* **2013**, *15*, 013020. b) J. Casanova, Z.-Y. Wang, J. F. Haase, and M. B. Plenio, *Phys. Rev. B* **2015**, *92*, 042304.
- [54] Y. Romach, C. Müller, T. Uden, L. J. Rogers, T. Isoda, K. M. Itoh, M. Markham, A. Stacey, J. Meijer, S. Pezzagna, B. Naydenov, L. P. McGuinness, N. Bar-Gill, F. Jelezko, *Phys. Rev. Lett.* **2015**, *114*, 017601.
- [55] a) T. Staudacher, F. Shi, S. Pezzagna, J. Meijer, J. Du, C. A. Meriles, F. Reinhard, J. Wrachtrup, *Science* **2013**, *339*, 561-563; b) H. J. Mamin, M. Kim, M. H. Sherwood, C. T. Rettner, K. Ohno, D. D. Awschalom, D. Rugar, *Science* **2013**, *339*, 557-560.
- [56] S. Steinert, F. Ziem, L. T. Hall, A. Zappe, M. Schweikert, N. Götz, A. Aird, G. Balasubramanian, L. Hollenberg, J. Wrachtrup, *Nat. Commun.* **2013**, *4*, 1607.
- [57] C. Müller, X. Kong, J. M. Cai, K. Melentjevic, A. Stacey, M. Markham, D. Twitchen, J. Isoya, S. Pezzagna, J. Meijer, J. F. Du, M. B. Plenio, B. Naydenov, L. P. McGuinness, F. Jelezko, *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 4703.
- [58] a) A. Ajoy, U. Bissbort, M. D. Lukin, R. L. Walsworth, P. Cappellaro, *Phys. Rev. X* **2015**, *5*, 011001; b) J. M. Cai, M. Kost, M. B. Plenio, *Sci. Rep.* **2015**, *5*, 11007.
- [59] a) E. M. Kessler, I. Lovchinsky, A. O. Sushkov, M. D. Lukin, *Phys. Rev. Lett.* **2014**, *112*, 150802; b) G. Arrad, Y. Vinkler, D. Aharonov, A. Retzker, *Phys. Rev. Lett.* **2014**, *112*, 150801.
- [60] a) P. Dutta, G. V. Martinez, R. J. Gillies, *J. Phys. Chem. Lett.* **2014**, *5*, 597-600; b) Q. Chen, I. Schwarz, F. Jelezko, A. Retzker and M.B. Plenio, *Phys. Rev. B* **2015**, *92*, 184420.; c) J. Scheuer, I. Schwarz, Q. Chen, D. Schulze-Sünninghausen, P. Carl, P. Höfer, A. Retzker, H. Sumiya, J. Isoya, B. Luy, M.B. Plenio, B. Naydenov, and F. Jelezko, *New J. Phys.* **2016**, *18*, 013040.
- [61] J. P. King, K. Jeong, C. C. Vassiliou, C. S. Shin, R. H. Page, C. E. Avalos, H. J. Wang, A. Pines, *Nature Comm.* **2015**, *6*, 8965.
- [62] R. Fischer, C. O. Bretschneider, P. London, D. Budker, D. Gershoni, L. Frydman, *Phys. Rev. Lett.* **2013**, *111*, 057061.
- [63] E. Rej, T. Gaebel, T. Boele, D. E. J. Waddington, D. J. Reilly, *Nature Commun.* **2015**, *6*, 8459.
- [64] D. Abrams, M. E. Trusheim, D. R. Englund, M. D. Shattuck, C. A. Meriles, *Nano Lett.* **2014**, *14*, 2471-2478.
- [65] Q. Chen, I. Schwarz, F. Jelezko, A. Retzker and M.B. Plenio, *Phys. Rev. B* **2015**, *93*, 060408(R).
- [66] A. Albrecht, G. Kopolovitz, A. Retzker, F. Jelezko, S. Yochelis, D. Porath, Y. Nevo, O. Shoseyov, Y. Paltiel, M. B. Plenio, *New J. Phys.* **2014**, *16*, 093002.
- [67] P. W. K. Rothemund, *Nature* **2006**, *440*, 297-302.
- [68] T. Zhang, A. Neumann, J. Lindlau, Y. Wu, G. Pramanik, B. Naydenov, F. Jelezko, F. Schüder, S. Huber, M. Huber, F. Stehr, A. Högele, T. Weil, T. Liedl, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 9776-9779.
- [69] G. Kucsko, P. C. Maurer, N. Y. Yao, M. Kubo, H. J. Noh, P. K. Lo, H. Park, M. D. Lukin, *Nature* **2013**, *500*, 54-58.
- [70] Y. Zhu, J. Li, W. Li, Y. Zhang, X. Yang, N. Chen, Y. Sun, Y. Zhao, C. Fan, Q. Huang, *Theranostics* **2012**, *2*, 302-312.
- [71] a) A. M. Schrand, H. Huang, C. Carlson, J. J. Schlager, E. Ōsawa, S. M. Hussain, L. Dai, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 2-7; b) A. M. Schrand, L. Dai, J. J. Schlager, S. M. Hussain, E. Ōsawa, *Diamond Relat. Mater.* **2007**, *16*, 2118-2123; c) L. Kuang-Kai, C. Chia-Liang, C. Chia-Ching, I. C. Jui, *Nanotechnology* **2007**, *18*, 325102.
- [72] K. K. Liu, C. C. Wang, C. L. Cheng, J. I. Chao, *Biomaterials* **2009**, *30*, 4249-4259.
- [73] a) N. Mohan, C. S. Chen, H. H. Hsieh, Y. C. Wu, H. C. Chang, *Nano Lett.* **2010**, *10*, 3692-3699; b) V. Vajayanthimala, P. Y. Cheng, S. H. Yeh, K. K. Liu, C. H. Hsiao, J. I. Chao, H. C. Chang, *Biomaterials* **2012**, *33*, 7794-7802; c) X. Zhang, J. Yin, C. Kang, J. Li, Y. Zhu, W. Li, Q. Huang, Z. Zhu, *Toxicol. Lett.* **2010**, *198*, 237-243.
- [74] J. Mytych, A. Lewinska, J. Zebrowski, M. Wnuk, *Diamond Relat. Mater.* **2015**, *55*, 95-101.
- [75] Y. Xing, W. Xiong, L. Zhu, E. Ōsawa, S. Hussain, L. Dai, *ACS Nano* **2011**, *5*, 2376-2384.
- [76] Y. Yuan, Y. Chen, J.-H. Liu, H. Wang, Y. Liu, *Diamond Relat. Mater.* **2009**, *18*, 95-100.
- [77] H. Huang, E. Pierstorff, E. Osawa, D. Ho, *Nano Lett.* **2007**, *7*, 3305-3314.
- [78] a) E. K. Chow, X.-Q. Zhang, M. Chen, R. Lam, E. Robinson, H. Huang, D. Schaffer, E. Osawa, A. Goga, D. Ho, *Sci. Transl. Med.* **2011**, *3*, 73ra21; b) J. Xiao, X. Duan, Q. Yin, Z. Zhang, H. Yu, Y. Li, *Biomaterials* **2013**, *34*, 9648-9656.

- [79] a) M. Chen, E. D. Pierstorff, R. Lam, S. Y. Li, H. Huang, E. Osawa, D. Ho, *ACS Nano* **2009**, *3*, 2016-2022; b) J. Li, Y. Zhu, W. Li, X. Zhang, Y. Peng, Q. Huang, *Biomaterials* **2010**, *31*, 8410-8418.
- [80] a) Y. Li, X. Zhou, D. Wang, B. Yang, P. Yang, *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 16406-16412; b) T. B. Toh, D. K. Lee, W. Hou, L. N. Abdullah, J. Nguyen, D. Ho, E. K. Chow, *Mol. Pharm.* **2014**, *11*, 2683-2691; c) B. Guan, F. Zou, J. Zhi, *Small* **2010**, *6*, 1514-1519; d) L. P. McGuinness, Y. Yan, A. Stacey, D. A. Simpson, L. T. Hall, D. Maclaurin, S. Prawer, P. Mulvaney, J. Wrachtrup, F. Caruso, R. E. Scholten, L. C. L. Hollenberg, *Nat. Nanotechnol.* **2011**, *6*, 358-363.
- [81] M. Vinante, G. Digregorio, L. Lunelli, S. Forti, S. Musso, L. Vanzetti, A. Lui, L. Pasquardini, M. Giorcelli, A. Tagliaferro, M. Anderle, C. Pederzoli, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2009**, *9*, 3785-3791.
- [82] A. Krueger, D. Lang, *Adv. Funct. Mater.* **2012**, *22*, 890-906.
- [83] a) X. Li, J. Shao, Y. Qin, C. Shao, T. Zheng, L. Ye, *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 7966-7973; b) K. K. Liu, W. W. Zheng, C. C. Wang, Y. C. Chiu, C. L. Cheng, Y. S. Lo, C. Chen, J. I. Chao, *Nanotechnology* **2010**, *21*, 315106.
- [84] L. Zhao, Y. H. Xu, T. Akasaka, S. Abe, N. Komatsu, F. Watari, X. Chen, *Biomaterials* **2014**, *35*, 5393-5406.
- [85] L. Zhao, Y. H. Xu, H. Qin, S. Abe, T. Akasaka, T. Chano, F. Watari, T. Kimura, N. Komatsu, X. Chen, *Adv. Funct. Mater.* **2014**, *24*, 5348-5357.
- [86] J. M. Cai, F. Jelezko and M.B. Plenio. *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 4065.
- [87] D. Le Sage, K. Arai, D. R. Glenn, S. J. DeVience, L. M. Pham, L. Rahn-Lee, M. D. Lukin, A. Yacoby, A. Komeili, R. L. Walsworth, *Nature* **2013**, *496*, 486-489.

MINIREVIEW

Quanten-Sensoren basierend auf der spinabhängigen Photolumineszenz von Stickstoff-Fehlstellenzentren (NV) in Diamant ermöglichen eine Bildgebung mit atomarer Auflösung unter Umgebungsbedingungen, die sich als eine revolutionäre Technik für das Verständnis von Biomolekülen in ihrer natürlichen Umgebung entwickeln könnte. Die jüngsten Entwicklungen dieser Technologie, ihr Potenzial und Herausforderungen werden kritisch diskutiert.



Yuzhou Wu*, Fedor Jelezko*, Martin B Plenio*, Tanja Weil*

Page No. – Page No.

Diamant-Quantendevices in der Biologie