

Untersuchungen zur Manipulation der Proteinadsorption
an Oligoethylenglycol- und Polyglycerol-haltigen Beschichtungen

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften

vorgelegt beim Fachbereich 14
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
in Frankfurt am Main

von
Theresa Weber
aus Dillenburg

Frankfurt, 2015

D30

vom Fachbereich 14

der Johann Wolfgang Goethe-Universität als Dissertation angenommen

Dekan: Prof. Dr. M. Karas

Gutachter: Prof. Dr. A. Terfort

PD Dr. D. Rhinow

Datum der Disputation:

Danksagung:

In meiner Promotionszeit bin ich von vielen Menschen unterstützt worden, bei denen ich mich an dieser Stelle bedanken möchte.

Großer Dank gebührt meiner Familie, vor allem meinen Eltern und meiner Schwester Hanna, die immer an mich geglaubt und mich unterstützt haben.

Dann möchte ich mich bei meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Andreas Terfort für die Überlassung des spannenden Themas, die gute Betreuung und die vielen lustigen Grillabende bedanken.

Besonders möchte ich mich bei den Mitgliedern der Arbeitsgruppen Terfort und Auner für die angenehme und konstruktive Arbeitsatmosphäre bedanken. Mein besonderer Dank gilt Britta, Claudia und Silke, die mir in allen Forschungshöhen und -tiefen zur Seite standen.

Ebenso möchte ich mich bei den zahlreichen Bachelor-Studenten und Praktikanten bedanken, die mich bei meiner Arbeit tatkräftig unterstützt haben.

Allen, die mir bei der Korrektur dieser Arbeit geholfen haben, danke ich für ihre Hilfsbereitschaft, ihre Zeit und ihre Grammatikkenntnisse.

Während meiner Arbeit habe ich die Hilfe zahlreicher Handwerker in Anspruch genommen. Besonders bedanken möchte ich mich bei Herrn Feldhaar und dem Feinmechanikteam um Herrn Müller.

Ich danke unseren zahlreichen Kooperationspartnern, die durch ihre hervorragende Arbeit einen großen Anteil am Erfolg dieser Arbeit haben.

Mein größter Dank geht an Patrick. Einfach für alles.

*Da braucht man keine GC für, mit ein bisschen Brainpower und Derivatisieren kann
man das auch alles mit 'ner DC machen!*

- Robert Heide

Inhalt

1	Einleitung	1
2	Aktueller Stand der Forschung.....	5
2.1	Proteinadhäsion.....	5
2.2	Bakterienadhäsion.....	7
2.3	Selbstanordnende Monoschichten.....	9
2.4	Polyglycerolschichten.....	12
2.5	Biorepulsive Oberflächen.....	15
2.6	SAM-basierte Sensoren.....	18
2.6.1	Herstellung gemischter SAMs für die Biosensorik.....	19
2.6.2	Laterale Strukturierung von SAMs	21
2.6.3	Spezifische Erkennung von Biomolekülen.....	23
2.7	Biosensoren in Polyglycerol-Matrices	28
3	Bearbeitete Projekte	31
3.1	Die bearbeiteten Themen im übergeordneten Zusammenhang.....	31
3.2	Polyglycerol-Beschichtungen	33
3.2.1	Anbindung von Polyglycerol an aminoterminierte Oberflächen	33
3.2.2	Anbindung von Polyglycerol an oxidische Materialien.....	37
3.2.3	Stabilisierung von Polyglycerolschichten durch quervernetzende Moleküle.....	43
3.2.4	Lithographie an Polyglycerolschichten	48
3.2.5	Modifizierung von Polyglycerolschichten	50
3.3	Stabilität von Oligoethylenglycol-Monolagen gegenüber UV-Strahlung zur gezielten Verwendung in der Lithographie.....	55
3.3.1	Lithographie von Oligoethylenglycol-Monolagen mit langwelliger UV-Strahlung.....	56

3.3.2	Abbau von Oligoethylenglycol-Monolagen mittels UV-Strahlung unter Wasser	65
3.4	Orientierungsabhängigkeit von Kohlenhydrat-Liganden für die Adhäsion von Bakterien an Oberflächen.....	74
4	Zusammenfassung.....	83
5	Literaturverzeichnis.....	89
6	Erläuterungen zur Nomenklatur	112
7	Eigene Anteile an Veröffentlichungen in Fachjournalen	113
8	Publikationen.....	117

1 Einleitung

In der medizinischen Diagnostik besteht großes Interesse an der Entwicklung neuer und leistungsfähiger biochemischer Sensoren.^[1,2] Die Modifizierung von Substratoberflächen zur Detektion eines Analyten ist ein besonders vielversprechender Ansatz,^[3] da dort die spezifische Anbindung von biochemischen Stoffen durch geeignete Messmethoden sehr gut detektiert werden kann. Auch geringe Analytkonzentrationen lassen sich so präzise und zuverlässig bestimmen.

Für die zuverlässige Detektion eines Analyten sind zwei Eigenschaften der Sensoroberfläche entscheidend: Zum einen muss die Anbindung des Analyten an den Sensor gewährleistet werden, wobei die Wechselwirkung zwischen der Sensoroberfläche und dem Analytmolekül möglichst spezifisch und sterisch ungehindert stattfinden muss, um eine präzise Detektion zu ermöglichen. Zum anderen kann die spezifische Detektion des Analytmoleküls nur gelingen, wenn die unspezifische Anbindung anderer Moleküle unterdrückt wird. Vor allem bei Analysen im medizinischen Bereich ist dies von Bedeutung, da sich hier häufig viele verschiedene Biomoleküle in der zu analysierenden Probelösung befinden können, deren unspezifische Anlagerung an die Oberfläche das Messsignal beeinflussen oder die gewünschte Anlagerung des Analyten verhindern würde. Für eine optimale Quantifizierung des Analyten muss das Sensorfeld deswegen mit einer biorepulsiven Matrix versehen werden. Die Sensormoleküle, die die spezifische Wechselwirkung mit dem Analyten eingehen, sind in diese biorepulsive Matrix eingebettet und können so störungsfrei zur Analyse der Probelösung beitragen.

Es sind verschiedene Beschichtungs- und Strukturierungsmethoden bekannt,^[4] mit deren Hilfe spezifische Sensorbeschichtungen und die biorepulsive

Sensormatrix präzise miteinander kombiniert werden können. In mehrschrittigen Produktionsprozessen können so Sensoroberflächen hergestellt werden, die einen oder mehrere Analyten aus einer Probelösung spezifisch nachweisen und quantifizieren können.

Eine zuverlässige Methode zur Modifizierung von Oberflächen ist die Verwendung von selbstanordnenden Monoschichten (*self-assembled monolayers*, SAMs).^[5] Solche Monoschichten entstehen, wenn Moleküle über eine geeignete Ankergruppe an die Substratoberfläche binden und eine geschlossene Schicht bilden. Diese Schichten, die zusätzlich durch Wechselwirkungen zwischen den benachbarten Molekülen stabilisiert sind, zeichnen sich oft durch einen hohen Ordnungsgrad aus. Die physikalisch-chemischen und damit verbunden auch die biologischen Oberflächeneigenschaften werden durch die Molekülteile bestimmt, die an der SAM-Oberfläche exponiert werden. Dank ihrer geringen Dicke bieten SAMs optimale Voraussetzungen zur Miniaturisierung von Sensorfeldern.^[6] Ein weiterer Vorteil SAM-basierter Sensoren besteht darin, dass gemischte Monoschichten gebildet werden können. Sensorisch aktive Moleküle können dabei in inerte Matrices eingebettet werden, um unspezifische Wechselwirkungen des Analyten oder anderer Stoffe mit der Oberfläche unterbinden. Eine Möglichkeit zur Erzeugung inerter Matrices bieten selbstanordnende Monoschichten aus Oligoethylenglycol-Derivaten. oberflächengebundenes Oligoethylenglycol (OEG) unterdrückt die Anbindung von Biomolekülen, indem es die Ausbildung eines Hydrogels ermöglicht. Eine hydrophobe Wechselwirkung, welche in der Regel ein erster essentieller Schritt für die Adsorption von Proteinen und Bakterien ist, kommt in solchen Hydrogelen nicht zustande. Am besten charakterisiert sind OEG-haltige SAMs mit Thiolfunktionen als Ankergruppe. Diese bilden spontan Monoschichten auf Goldoberflächen durch die Ausbildung einer besonders stabilen Gold-Schwefel-Bindung.^[7]

Eine alternative Methode zur spezifischen Modifizierung von Sensoroberflächen ist die Anbindung spezieller Polymere.^[8] Solche Polymere können durch die Wahl geeigneter Bausteine vorpolymerisiert und anschließend auf Substratoberflächen immobilisiert werden. Alternativ kann eine Polymerisation direkt auf der Substratoberfläche vorgenommen werden. Ein Beispiel für ein derartiges System ist Polyglycerol, welches bei der Polymerisation von Glycidol ein stark verzweigtes Polymer direkt auf der Oberfläche ausbildet.^[9] Polyglycerol weist eine ähnliche Polyether-Struktur wie Polyethylenglycol auf und kann die Adsorption von Proteinen und Bakterien auf ähnliche Weise verhindern.^[10]

Beide Systeme, SAMs und Polymere, können durch gezielte Modifizierung mit verschiedenen spezifischen Erkennungsstellen ausgestattet werden. Auf diese Weise kann die Unterdrückung unspezifischer Adhäsion optimal mit der gezielten Anbindung ausgewählter Moleküle verbunden werden.

2 Aktueller Stand der Forschung

2.1 Proteinadhäsion

Proteine adsorbieren aufgrund ihrer Größe, Flexibilität, Ladung sowie ihres amphoteren Charakters besonders leicht an Oberflächen. Entropische und enthalpische Wechselwirkungen spielen eine maßgebliche Rolle bei der Anlagerung. So verdrängen beispielsweise die hydrophoben Abschnitte eines Proteins den natürlichen Wasserfilm auf der Oberfläche.^[11] Die dadurch freiwerdenden Wassermoleküle haben eine höhere Anzahl von Freiheitsgraden als die an der Oberfläche gebundenen Moleküle, weshalb derartige Reaktionen entropisch begünstigt sind.

Bei der Verdrängung des auf der Oberfläche befindlichen Wasserfilms adsorbiert ein Protein zunächst in seiner nativen Form. Um die Wechselwirkungen mit der Oberfläche zu erhöhen, kann das Protein eine Konformationsänderung durchlaufen, bei der hydrophobe Proteinabschnitte zur Oberfläche hin exponiert werden.^[12] Durch diesen Schritt wird zum einen die Interaktion mit der Oberfläche erhöht, zum anderen denaturiert das Protein und es kommt zu einer irreversiblen Haftung an der Oberfläche (siehe Abbildung 2.1).^[13]

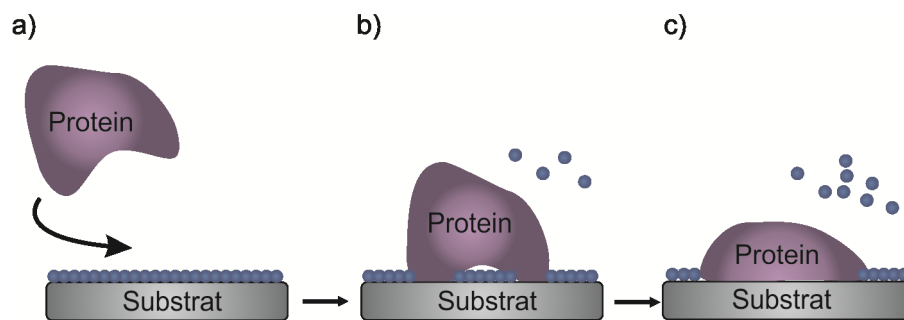


Abb. 2.1: Anlagerung von Proteinen an eine Oberfläche. Das Protein adsorbiert zunächst in seiner nativen Form (b) und verdrängt dabei Wassermoleküle von der Oberfläche. Durch Konformationsänderungen (c) erhöht sich anschließend die Wechselwirkung zwischen Protein und Oberfläche.

Ansammlungen von adsorbierten Proteinen stellen beispielsweise in der Medizin ein großes Problem dar, da sie Thrombosen verursachen oder entzündliche Reaktionen auslösen können. Besonders problematisch ist dies bei chirurgischen Eingriffen. Die Adsorption von Proteinen begünstigt zudem auch die Ansiedlung von Bakterien, wodurch schwerwiegende Infektionen entstehen können.^[14]

2.2 Bakterienadhäsion

Die Adhäsion von Zellen an Oberflächen ist mit der Entwicklung des Lebens grundlegend verbunden. Sie ist maßgeblich für die Bildung von Geweben und Organen und spielt eine wichtige Rolle bei vielen medizinischen und technischen Anwendungen.^[15] Zelluläre Adhäsion ist auch ein entscheidender Schritt bei der Entstehung von Infektionen. Insbesondere in der Biologie und Medizin existiert ein großes Interesse daran, die Vorgänge bei der Bakterienadhäsion aufzuklären, um beispielsweise verschiedene Krankheitsstadien beurteilen oder bakteriellen Infektionen begegnen zu können.^[16,17]

Bei vielen Bakterien läuft der Mechanismus der Anhaftung in zwei Schritten ab.^[18] Zunächst sondern die Bakterien haftungsvermittelnde Proteine ab, die sich an die Oberfläche anlagern. Im zweiten Schritt werden die Bakterien an die zuvor adsorbierten Proteine angebunden. Viele Bakterien verfügen auch über fadenförmige Fortsätze, so genannte Fimbrien, an deren Spitze sich für die Adsorption an der Oberfläche geeignete Proteine befinden. Die Interaktion mit der Oberfläche erfolgt dadurch noch effektiver. Nach erfolgreicher Adsorption beginnen die Bakterien mit der Teilung und sondern zusätzlich Matrixbausteine aus Kohlenhydraten ab, welche die Bildung eines sogenannten Biofilms ermöglichen (siehe Abbildung 2.2).^[19] Biofilme schützen die eingehüllten Bakterien vor mechanischen und chemischen Einflüssen.

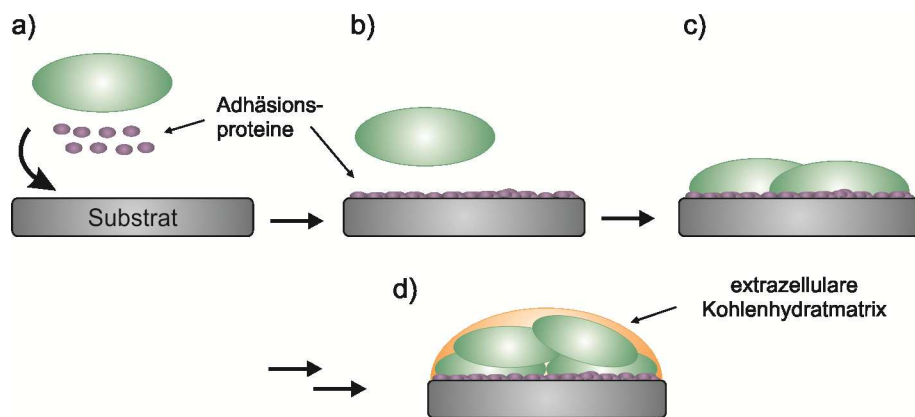


Abb. 2.2: Mehrstufige Anlagerung von Bakterien an einer Oberfläche. Zunächst werden vom Bakterium Adhäsionsproteine abgesondert (a), welche die Anhaftung der Mikroorganismen ermöglichen (b). Anschließend kommt es zur Teilung der Bakterien (c) und der Ausbildung eines Biofilms mit Kohlenhydratmatrix (d).

Biofilme stellen vor allem in der Medizin ein großes Problem dar. Sie bilden sich beispielsweise auf Kathetern oder Implantaten und können durch ihre Kohlenhydratmatrix nahezu nicht mehr entfernt werden. Die Bildung solcher Biofilme sollte daher *a priori* verhindert werden, um auf diese Weise Infektionen, chronischen Entzündungen oder Nekrosen vorzubeugen.^[20-22]

Nicht nur in der Medizin üben Biofilme einen großen Einfluss auf Funktionalität und Langlebigkeit von Materialien aus. Maschinen, die in der Papierindustrie oder in Filter-Anlagen eingesetzt werden, sind von Biofilmen ebenso betroffen wie Bauteile in Kühltürmen oder Unterwasser-Sensoren.^[23] Auch in der Lebensmittelindustrie stellen Biofilme ein großes Problem dar, da Ansiedlungen von Bakterien auf Verpackungsmaterialien unter anderem die Haltbarkeit von Lebensmitteln beeinflussen können.

2.3 Selbstanordnende Monoschichten

Als selbstanordnende Monoschichten (*self-assembled monolayers*, SAMs) bezeichnet man Monolagen organischer Moleküle, die auf geeignete Oberflächen adsorbieren. SAMs entstehen typischerweise durch Eintauchen eines Substratmaterials in eine Lösung des organischen Moleküls.^[6,7]

Die Eigenschaften der Monoschichten hängen maßgeblich von der Beschaffenheit der Moleküle ab, aus denen sie zusammengesetzt sind. Ein typisches schichtbildendes Molekül besteht aus einer Kopfgruppe, einem Spacer und einer Ankergruppe (siehe Abbildung 2.3).

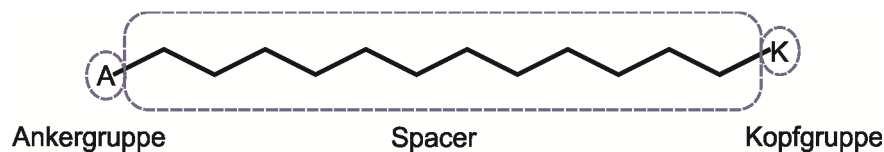


Abb. 2.3: Schematische Darstellung eines SAM-bildenden Moleküls.

Über die Ankergruppe findet eine Chemisorption an die Substratoberfläche statt. Die Art der Ankergruppe richtet sich dabei nach dem Material, auf dem der SAM erzeugt werden soll. Hochgeordnete Monoschichten bilden sich vor allem durch Van-der-Waals-Wechselwirkungen zwischen den benachbarten Molekülen aus.^[5] Eine besondere Rolle kommt hier dem Spacer zu. Ist der Abstand zwischen den Adsorptionsplätzen an der Oberfläche größer als der Querschnitt der Spacer, wird die Van-der-Waals-Wechselwirkung durch die Verkippung der Moleküle maximiert (siehe Abbildung 2.4).^[24]

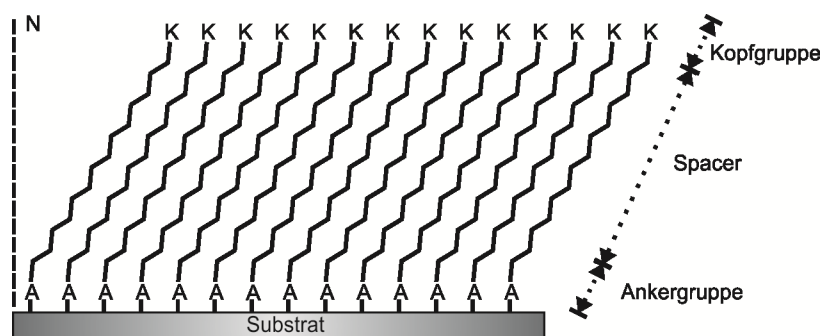


Abb. 2.4: Allgemeiner Aufbau eines SAMs mit Ankergruppe, Spacer und Kopfgruppe. In der Abbildung ist die Verkipfung der als Spacer dienenden Alkylkette gegen die Oberflächennormale (N) erkennbar.

SAMs werden von diversen Substanzen gebildet, am besten charakterisiert sind jedoch Monoschichten aus Alkanthiolaten auf Goldoberflächen.^[25] In einer Redox-Reaktion wird dabei Gold oxidiert und Protonen reduziert.^[7]



Im Allgemeinen wird angenommen, dass die Chemisorption der Thiole in zwei Schritten verläuft. Zunächst werden innerhalb weniger Minuten bis zu 90% der Monoschicht ausgebildet. Die Schicht ist noch stark fehlgeordnet, wodurch die Adsorption weiterer Moleküle gehemmt wird. Im zweiten Schritt erfolgt eine Umordnung der Schicht, was die Adsorption weiterer Moleküle ermöglicht, bis die maximale Packungsdichte erreicht ist.^[26] Diese Nachordnungsprozesse können mehrere Tage in Anspruch nehmen.^[7]

Untersuchungen mittels IR-Spektroskopie und Röntgenbeugungsexperimenten haben ergeben, dass die n-Alkylketten im Spacer eines Thiolat-SAMs eine *all-trans*-Konformation aufweisen und um circa 30° gegenüber der Oberflächennormalen verkippt sind (siehe Abbildung 2.4).^[27-29] Die Van-der-Waals-Wechselwirkung zwischen den einzelnen Alkylketten wird auf diese Weise optimiert. Auch die Länge des Spacers spielt eine entscheidende Rolle. Die Schichtordnung nimmt mit steigender Anzahl der CH₂-Gruppen merklich zu, was ebenfalls auf die erhöhte Stabilisierung der Schicht durch Van-der-Waals-

Wechselwirkungen zurückzuführen ist. Bei Molekülen mit weniger als sieben CH₂-Gruppen bildet sich keine vollständige, geordnete Monolage aus.^[30,31]

Neben Thiolat-Monoschichten, welche von Thiolen, Disulfiden oder Thioacetaten auf Gold und anderen Münzmetallen gebildet werden, sind weitere Monoschichten-Systeme bekannt. Zu diesen zählen beispielsweise Siloxan-SAMs,^[32,33] die sowohl auf SiO₂^[34] als auch auf Glas^[35] abgeschieden werden können. Moleküle mit einer Phosphonat-Ankergruppe bilden Monoschichten auf den Oxidschichten vieler Metalle wie Stahl oder Aluminium aus.^[36-41] Die kovalente Bindung zum Substrat entsteht in einer Kondensationsreaktion zwischen der Phosphonsäure-Gruppe und den Hydroxyl-Gruppen der nativen Oxidschicht des Metalls.^[42]

Selbstanordnende Monoschichten eignen sich dazu, Oberflächeneigenschaften von Materialien gezielt zu verändern. Vor allem die Kopfgruppen des SAMs beeinflussen die physikalischen Eigenschaften einer Oberfläche, da sie sich an der Grenzfläche zur Umgebung befinden. So können hydrophobe Alkyl-SAMs bei Metallen als Korrosionsschutz dienen.^[43] Zur Verwendung von SAMs in der Sensorik können die Monolagen beispielsweise mit funktionalen Kopfgruppen versehen werden, welche mit ihrer Umgebung wechselwirken. Anwendung findet dieses Konzept bereits bei pH-Sensoren,^[44] chemischen Sensoren^[12] und Biosensoren.^[45,46] Um die unerwünschte Proteinadsorption zu reduzieren, können sogenannte biorepulsive SAMs verwendet werden. Dazu werden unter anderem Alkyl-SAMs mit Oligoethylenglycol-Kopfgruppen verwendet, welche – je nach Ankergruppe – auf Gold,^[47-49] Silicium^[50-52] oder Glas^[53] aufgebracht werden können.^[54] Oligoethylenglycol-SAMs können eine große Anzahl von Wassermolekülen einlagern, wodurch ein oberflächengebundenes Hydrogel entsteht.^[55] Hydrogele dieser Art zeichnen sich durch eine hohe Biokompatibilität aus und verhindern die Adhäsion von Proteinen und Bakterien.

2.4 Polyglycerolschichten

Polyglycerol (PG) ist ein polares, nicht-ionisches Polymer, welches sich durch seine hohe Biokompatibilität und Wassermischbarkeit auszeichnet. Dadurch ist es in der Lebensmittelindustrie, der Kosmetikbranche und der pharmazeutischen Technologie in den letzten Jahren in den Fokus der Forschung gerückt.

Polyglycerol entsteht bei der Polymerisation von Glycidol (2,3-Epoxy-1-propanol) und kann, je nach Reaktionsbedingung, als hyperverzweigtes Polymer gewonnen werden (siehe Abbildung 2.5).^[56,57]

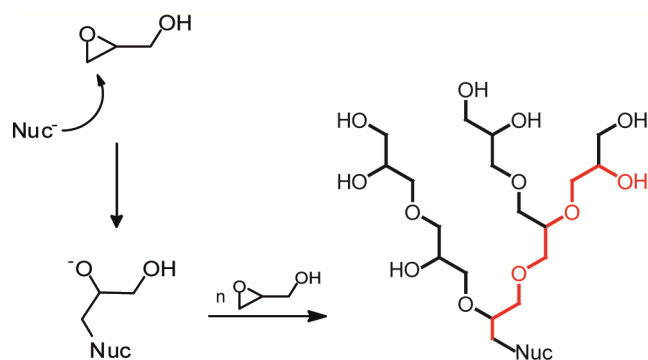


Abb. 2.5: Polymerisationsreaktion von Glycidol zu hochverzweigtem Polyglycerol. Als Initiator ist hier exemplarisch ein Nucleophil dargestellt. Die strukturelle Ähnlichkeit zu Polyethylenglycol ist im Produkt farbig hervorgehoben.^[58]

Prinzipiell sind zwei Strategien zur Anbindung von Polyglycerol an Oberflächen denkbar. Die erste Strategie, die als *grafting to* bezeichnet wird, ist vergleichbar mit der Ausbildung eines SAMs, da hier das vorpolymerisierte Molekül kovalent mittels einer Ankergruppe an die Substratoberfläche angebunden wird. Diese Strategie, die eine präzise Einstellung der molekularen Schichtstruktur durch die Auswahl des SAM-bildenden Monomers ermöglicht, wurde von der Gruppe um Haag eingeführt^[59,60] und konnte vielfach angewendet und weiterentwickelt werden.^[61-65]

Die zweite Strategie ist die direkte Polymerisation von Glycidol auf der Oberfläche.^[66] Diese Strategie, die als *grafting from* bezeichnet wird, wurde von Khan und Huck beschrieben, welche die natürliche Hydroxyl-terminierte Oberfläche von Silicium deprotonierten und als Initiator für die Ringöffnungs-Polymerisation von Glycidol verwendeten.^[9] Alternative Anbindungsstrategien, wie die Erhöhung der Reaktionstemperatur, führen ebenfalls zu einer Aktivierung der natürlichen Oxidschicht und ermöglichen eine direkte Polymerisation auf der Oberfläche (siehe Abbildung 2.6).^[58]

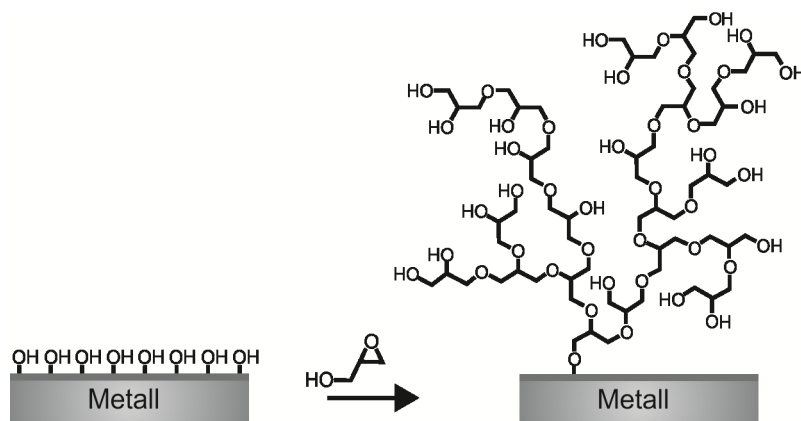


Abb. 2.6: Polymerisation von Glycidol an der natürlichen Hydroxyl-terminierten Oberfläche.^[58]

Es sind viele weitere Strategien für die Anbindung des Polyglycerols auf Metalloberflächen bekannt, bei denen entweder die Oberflächen oder das Polymer selbst mit haftvermittelnden Bausteinen versehen wird.^[67-74] So können beispielsweise Schichten aus funktionalisierten Siloxanen, die bereits auf vielen Materialien wie Metallen, Gläsern oder Oxiden abgeschieden wurden, als Haftvermittler dienen.^[75-78] Moleküle wie (3-Aminopropyl)trimethoxysilan (APTMS) werden dabei kovalent an die Metalloberflächen gebunden und dienen durch ihre Aminogruppen als Initiator für die Polymerisation von Glycidol (siehe Abbildung 2.7).^[79]

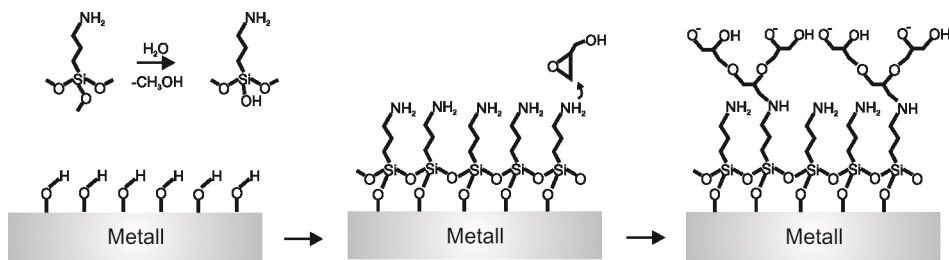


Abb. 2.7: Anbindung von (3-Aminopropyl)trimethoxysilan (APTMS) an die native Hydroxid-Oberfläche eines Substrats. Die anschließende Polymerisation von Glycidol wird durch die Aminogruppen des APTMS initialisiert.^[79]

Beide Beschichtungsstrategien führen zu dicht gepackten Schichten, die dank ihrer chemischen und strukturellen Eigenschaften in der Lage sind, eine große Anzahl Wassermoleküle einzulagern. Auf diese Weise entsteht ein oberflächengebundenes Hydrogel, welches die Adhäsion von Proteinen und Bakterien verhindert.^[62]

2.5 Biorepulsive Oberflächen

In den vergangenen Jahrzehnten sind viele Ansätze entwickelt worden, um die Bildung von Biofilmen zu verhindern oder zumindest zu verlangsamen.^[80] Der Einsatz von Antibiotika ist eine weit verbreitete Strategie. Gerade in der medizinischen Anwendung bringen sie jedoch häufig drastische Nebenwirkungen, wie beispielsweise die Entstehung von antibiotikaresistenten Keimen, mit sich.

Weniger invasive Strategien zur Vermeidung von Biofilmen stehen daher im Fokus der Forschung. Ein erfolgreicher Ansatz ist die Modifizierung der Oberfläche mit dem Ziel, die Adsorption von Proteinen zu verhindern.^[80] Da der Adsorption von Mikroorganismen auf einer Oberfläche häufig eine Anlagerung von Proteinen vorausgeht, kann in vielen Fällen die Entstehung eines Biofilms verhindert werden (vgl. Kapitel 2.2).

In diesem Zusammenhang wird seit mehr als dreißig Jahren die Wirkung von Polyethylenglycol (PEG) untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass die Adsorption von Proteinen und Bakterien an Oberflächen durch Polyethylenglycol-haltige Beschichtungen minimiert wird.^[81,82] Über diverse Ankergruppen können beispielsweise PEG-haltige Makromoleküle multivalent an Materialien wie Gold,^[83] Siliciumdioxid,^[66] Titandioxid^[84-86] Niob-pentaoxid^[87,88] oder verschiedene Kunststoffmaterialien^[89-92] angebunden werden.

Anfang der 90er Jahre konnte die Gruppe von Whitesides zeigen, dass auch auf Gold abgeschiedene Alkanthiolat-SAMs mit Oligoethylenglycol (OEG)-Kopfgruppen proteinresistente Eigenschaften aufweisen.^[47,48,93,94] Auch auf anderen Materialien wie beispielsweise SiO₂ konnten proteinrepulsive OEG-SAMs abgeschieden werden.^[95] Alternativ können auch PEG-haltige Polymere

über etablierte Reaktionspfade an geeignet funktionalisierte SAMs angebunden werden.^[96-99]

Die Gründe für die Proteinresistenz von PEG-modifizierten Oberflächen sind vielfältig und bis heute nicht vollständig aufgeklärt. Ein entscheidender Faktor ist die Entropie. Die Anlagerung eines Proteins ist ein entropisch stark benachteiligter Prozess, da ein Großteil der konformellen Freiheitsgrade des angelagerten PEG verloren geht. Zusätzlich unterstützt die Hydrogelstruktur, welche sich in wässrigem Medium aus der PEG-Schicht bildet, die Unterdrückung der Proteinadsorption.^[55,100-102] Da die Adsorption zunächst hydrophober Wechselwirkungen zwischen dem Protein und der Oberfläche bedarf, verhindern die eingelagerten Wassermoleküle die Proteinanlagerung.^[103,104]

Bei Oligoethylenglycol-haltigen SAMs spielt die Packungsdichte eine große Rolle. Bei steigender Packungsdichte steigt der Ordnungsgrad der OEG-Kette, wodurch die Einlagerung von Wassermolekülen erschwert wird. Dies wirkt sich negativ auf den für die Proteinresistenz notwendigen Hydratisierungsgrad der Monoschicht aus.^[105] Sicher ist zudem, dass die Anzahl der Ethylenglycoleinheiten die proteinrepulsiven Eigenschaften beeinflusst. Ein proteinrepulsiver Effekt kann beobachtet werden, wenn mindestens zwei OEG-Bausteine vorhanden sind.^[25] Steigt die Anzahl der Ethylenglycoleinheiten, können mehr Wassermoleküle eingelagert werden, was zu einer Steigerung der Biorepulsivität führt.^[101] Außerdem kommt es bei einer steigenden Anzahl der Ethylenglycoleinheiten zu einer Abnahme der Packungsdichte im SAM und somit zu einer weiteren Erhöhung des Hydratisierungsgrades.^[55]

Neben Polyethylenglycol sind noch eine Reihe weiterer Kopfgruppen bekannt, die ebenfalls biorepulsive Eigenschaften aufweisen.^[106] Die effektivsten Vertreter sind Oligophosphorylcholine,^[107,108] Sulfobetaine,^[109-111] Polyglycerol^[59] und eine

Reihe von Verbindungen, die auf Kohlenhydraten wie Mannitol und Galaktose basieren.^[112,113] Die proteinrepulsive Wirkung derart modifizierter SAMs ist jedoch nicht so effizient wie die von SAMs mit PEG-Kopfgruppen. Eine Ausnahme bildet Polyglycerol (PG), welches aufgrund seiner hohen strukturellen Ähnlichkeit mit PEG vergleichbare proteinrepulsive Eigenschaften zeigt.^[114] Polyglycerole weisen aufgrund ihrer verzweigten Struktur zudem eine höhere Stabilität gegenüber biologischen Abbauprozessen *in vivo* auf, wodurch sie sich zur Modifizierung von Implantaten empfehlen.

2.6 SAM-basierte Sensoren

Die Verwendung selbstanordnender Monolagen für die Identifizierung und Quantifizierung von Molekülen ist ein etabliertes Verfahren im Bereich der Oberflächensensorik.^[44] Es werden bevorzugt SAMs verwendet, die eine funktionale Kopfgruppe besitzen, welche selektiv mit dem Analyten wechselwirkt. Die Eigenschaften der Monolage, beispielsweise die Schichtdicke oder die Leitfähigkeit, ändern sich durch diese Wechselwirkung. Verschiedene Detektionsmethoden können diese Änderungen je nach Art des Analyten messen.^[28]

Optische Verfahren wie Oberflächen-IR-Spektroskopie, Ellipsometrie und Fluoreszenzmikroskopie oder akustische Verfahren wie die Quarzkristall-Mikrowaage (*quartz crystal microbalance*, QCM)^[115-117] haben sich vor allem in der biochemischen Analytik etabliert. Auch amperometrische und voltametrische Messverfahren für redox-aktive Systeme haben sich als Standardverfahren durchgesetzt.^[118,119] Diese Methoden ermöglichen die Detektion geringster Analytkonzentrationen an der SAM-Oberfläche beziehungsweise im Probenmedium und spielen daher in der anorganischen und organischen Analytik eine maßgebliche Rolle.^[118-123]

Mit SAMs lassen sich Sensoren realisieren, die einen einfachen Aufbau haben. Die Herstellung ist materialeffizient, da lediglich eine Monolage auf einem Substrat aus Metall oder Glas adsorbiert. Ein weiterer Vorteil ist die geringe Größe des benötigten Sensorfelds. Je nach Bedarf können Sensorfelder konstruiert werden, die wenige Quadratmikrometer oder auch Quadratzentimeter groß sind.

2.6.1 Herstellung gemischter SAMs für die Biosensorik

Im Bereich der Biosensorik sind die zu detektierenden Biomoleküle häufig verhältnismäßig groß und besitzen mehrere funktionelle Gruppen. Um solche Moleküle zu detektieren, kommen gemischte SAMs zum Einsatz. Moleküle mit spezifischen Kopfgruppen werden in eine biorepulsive Matrix eingebettet, die beispielsweise Oligoethylenglycol-Einheiten beinhalten kann.^[124,125] Die SAM-Bausteine können so gewählt werden, dass die Kopfgruppe der sensorisch aktiven Moleküle aus der inerten SAM-Matrix herausragt, was vor allem dann notwendig ist, wenn der Analyt deutlich größer und sterisch anspruchsvoller ist als die Kopfgruppe des SAMs. Auf diese Weise kann der SAM mit dem Analyten wechselwirken, da diese sich nicht aufgrund ihrer Größe gegenseitig bei der Anbindung an der Oberfläche behindern.^[126-128] Außerdem verhindert ein gemischter SAM die unspezifische Anbindung anderer Biomoleküle. Dies ist ein entscheidender Vorteil, da biologische Proben oft eine Vielzahl von Biomolekülen enthalten, von denen aber nur eine Spezies gezielt gebunden werden soll.

Zur Herstellung gemischter Monolagen haben sich in den letzten Jahrzehnten viele Verfahren etabliert.^[5] Die einfachste Methode ist die statistische Mischung der gewünschten Moleküle, bei der die verschiedenen SAM-Bausteine in der Beschichtungslösung gemischt werden, bevor das zu beschichtende Substrat in die Lösung gegeben wird.^[29] Das Verhältnis der SAM-Monomere in Lösung muss dabei nicht zwingend dem Verhältnis in der späteren Monolage entsprechen: Die genauen Abscheidungsbedingungen sind nur schwer vorhersagbar und müssen in der Regel evaluiert werden. Die Verteilung der einzelnen Moleküle auf der Oberfläche ist durch diese Methode nicht kontrollierbar. So kann es zu Inselbildungen kommen, wenn sich die SAM-Monomere chemisch zu stark unterscheiden und stabilisierende

Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Bausteinen dies begünstigen. In solchen Fällen ergibt die Mischung der einzelnen SAM-Komponenten in der Beschichtungslösung keine nutzbare Monolage. Zur Vermeidung von Inselbildungen haben sich vor allem strahlungsbasierte Verfahren zur Herstellung gemischter SAMs bewährt.^[129-131] Hier werden fokussierte Elektronen oder elektromagnetische Strahlung eingesetzt, um einen bestehenden SAM zu modifizieren. Dabei können unterschiedliche schädigende Effekte, wie der Abbau der Kopfgruppen oder die Abspaltung der Ankergruppe vom Substrat, beobachtet werden. Bei diesem Verfahren, das *irradiation induced exchange reaction* (IPER) genannt wird, werden die durch Strahlung geschädigten Moleküle durch die zweite Sorte Moleküle ersetzt und ein gemischter SAM entsteht (siehe Abbildung 2.8 unten).

Oligoethylenglycol-SAMs eignen sich besonders gut zur strahlungsbasierten Strukturierung. Bei der Bestrahlung der Monolagen werden die Ethylenglycol-Bausteine der Kopfgruppen ebenso geschädigt wie die Gold-Schwefel-Bindungen. Beides führt zu einem Verlust der biorepulsiven Eigenschaften und ermöglicht die unspezifische Anlagerung von Proteinen (siehe Abbildung 2.8 mitte). Durch die Bestrahlung einer OEG-Monolage können auch spezifische Proteinstrukturen erzeugt werden. Hierfür werden die geschädigten Moleküle durch neue SAM-Bausteine mit spezifischer Bindungsstelle ausgetauscht.

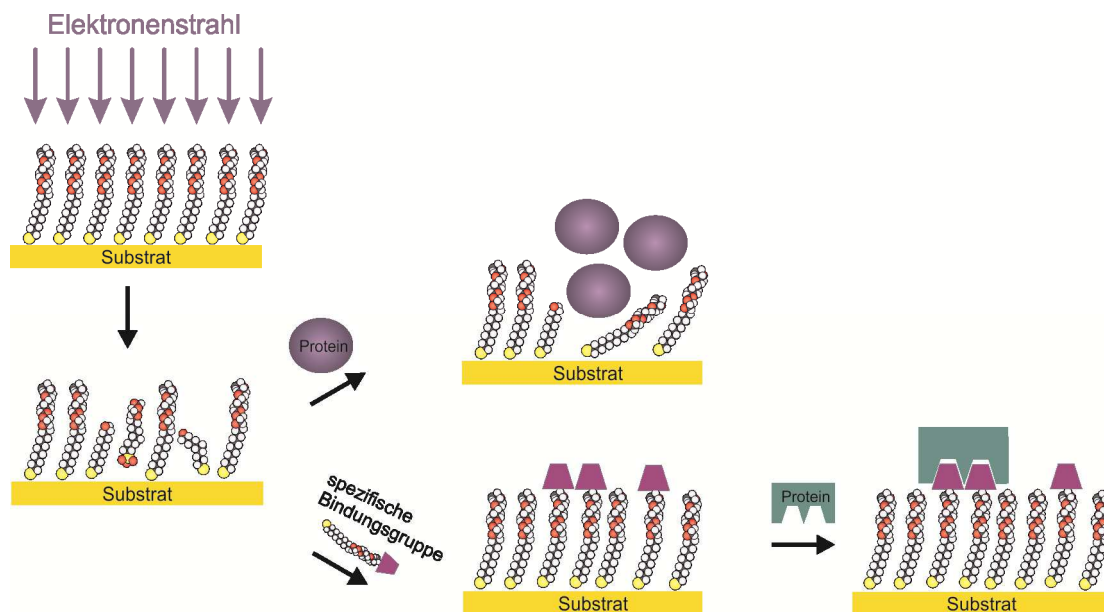


Abb. 2.8: Strukturierung eines OEG-SAMs mittels Elektronenstrahlung. Dabei kann sowohl die unspezifische Anbindung von Biomolekülen (mitte) als auch die spezifische Anbindung nach einer Austauschreaktion (IPER, rechts unten) detektiert werden.

2.6.2 Laterale Strukturierung von SAMs

Die laterale Strukturierung von Monolagen ermöglicht es, chemisch unterschiedliche Areale nebeneinander auf einer Substratoberfläche aufzubauen. Dazu werden neben klassischen Soft-Lithographie-Verfahren,^[132] bei denen die Strukturierung beispielsweise mittels Stempeln erreicht wird, vor allem strahlungsbasierte Lithographietechniken eingesetzt. Die Bestrahlung erfolgt hierbei orts aufgelöst auf Bereiche, die nur wenige Mikrometer groß sein können. Einfache geometrische Strukturen können beispielsweise mit Hilfe von Masken, durch die der Elektronenstrahl geleitet wird, erzeugt werden. Durch die Verwendung von fokussierten Strahlen und Lithographie-Programmen können jedoch auch kompliziertere Muster oder Gradienten auf die Oberfläche „geschrieben“ werden.

Bei der lateralen Strukturierung von OEG-Monolagen können proteinbindende Bereiche direkt in eine proteinrepulsive Umgebung eingebettet werden, da die OEG-Einheiten der SAM-bildenden Moleküle orts aufgelöst abgebaut werden. Dieser Prozess, der als *direct writing* bekannt ist, ermöglicht die unspezifische Adsorption von Proteinen (siehe Abbildung 2.9, Mitte).

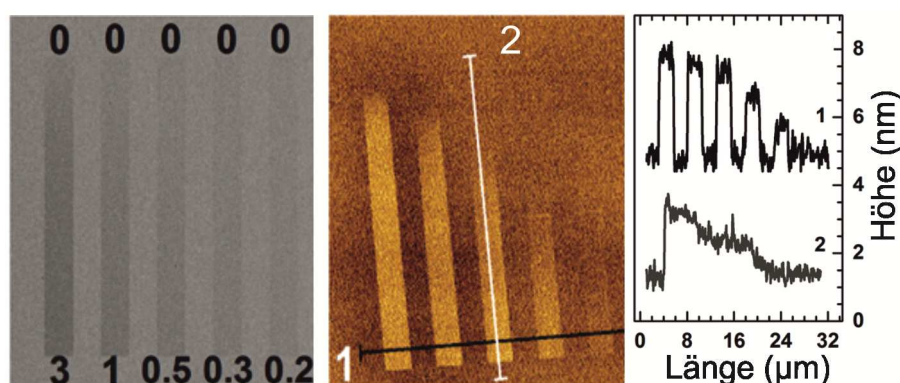


Abbildung 2.9: Elektronenstrahl-Lithographie eines OEG-SAMs: REM-Aufnahme eines gradierten Streifenmusters (links). Die einzelnen Banden sind je $2\ \mu\text{m}$ breit und die Variation der Dosis erfolgte dabei innerhalb der angegebenen Werte (in mC/cm^2). AFM-Aufnahme des Gradienten-Musters nach der Anlagerung von Albumin (mitte). Die AFM-Höhenprofile sind rechts abgebildet.^[133]

Auch strahlungsinduzierte Austauschexperimente können bei der lithographischen Strukturierung von Monolagen angewendet werden. Die photolysierten Moleküle werden häufig durch einfaches Eintauchen der bestrahlten Schichten in eine Lösung des substituierenden Moleküls ersetzt. Dabei wird die Packungsordnung, die bei der Bestrahlung des SAMs verloren ging, wieder hergestellt und es entsteht erneut eine nahezu defektfreie Monolage. Die Austauschmoleküle können so gewählt werden, dass sie eine spezifische Anbindung von verschiedenen Proteinen ermöglichen.

2.6.3 Spezifische Erkennung von Biomolekülen

Die Anbindung eines Biomoleküls an einen SAM-basierten Sensor findet häufig nach dem sogenannten Schlüssel-Schloss-Prinzip statt.^[134-141] Dabei trägt der SAM ein zu dem Analyten komplementäres Molekül als Kopfgruppe, welches so orientiert ist, dass es ohne sterische Repulsion in die Bindungstasche des Analyten passt.^[142] Einige Beispiele für eine derartige, spezifische Wechselwirkung sollen im Folgenden genauer erläutert werden.

Biotin-terminierte Monolagen

Die spezifische Anbindung der Glycoproteine Avidin und Streptavidin an Biotin ist besonders gut untersucht. Diese spezifische Wechselwirkung ermöglicht die selektive Anbindung an die Oberfläche.^[143,144] Dabei wird ein SAM-Baustein verwendet, der Biotin als Kopfgruppe trägt und in der Regel in eine Oligoethylenglycol-Matrix eingebettet ist (siehe Abbildung 2.10).^[145] Die unspezifische Anbindung anderer Proteine aus der Analytlösung kann so verhindert werden.

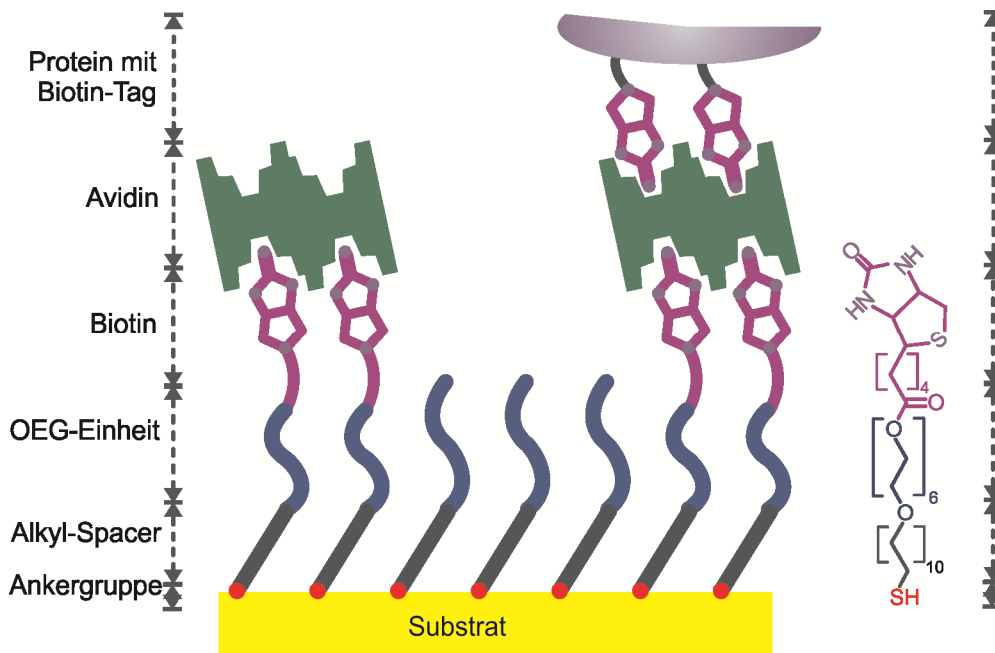


Abb. 2.10: Anbindung von Avidin an einen Biotin-terminierten, gemischten SAM. Jeweils zwei Kopfgruppen binden dabei an ein Avidin-Molekül. Die verbleibenden Bindungstaschen können auch zur Detektion von Biotin-terminierten Proteinen genutzt werden. Ein Beispiel für die Struktur eines derartigen SAM-bildenden Moleküls ist rechts dargestellt.

Avidin verfügt über vier Bindungsstellen für Biotineinheiten, aus sterischen Gründen können jedoch bei der Anbindung an eine Oberfläche in der Regel nur zwei dieser Bindungstaschen belegt werden.^[146] Die beiden anderen Bindungsstellen können allerdings genutzt werden, um weitere Biotin-Gruppen z.B. aus der Lösung zu binden. So kann ein Biotin-terminierter SAM nicht nur zur Detektion von Avidin, sondern auch von Biotin oder Biotin-terminierten Biomolekülen genutzt werden (siehe Abbildung 2.10, rechts).^[147]

Monolagen mit Übergangsmetallkomplexen

Es sind viele biochemische Prozesse bekannt, bei denen Metall-Ionen eine essentielle Rolle spielen. Viele Enzyme können nur dann ihre Funktion erfüllen,

wenn Ionen wie Kupfer(II), Nickel(II) oder Mangan(II) als Cofaktoren vorhanden sind. Diese Cofaktoren werden häufig im Inneren des Proteins durch die Imidazolgruppe der Aminosäure Histidin komplexiert.

Die komplexierenden Fähigkeiten der Histidinreste können in der Biosensorik genutzt werden. Dafür werden die Kopfgruppen eines SAMs so gestaltet, dass sie ebenfalls in der Lage sind, Metall-Ionen zu komplexieren. Ein prominentes Beispiel sind Ni^{2+} -modifizierte SAMs, welche häufig einen komplexierenden Liganden wie Nitrilotriessigsäure (NTA) als Kopfgruppe tragen (siehe Abbildung 2.11).^[148- 150]

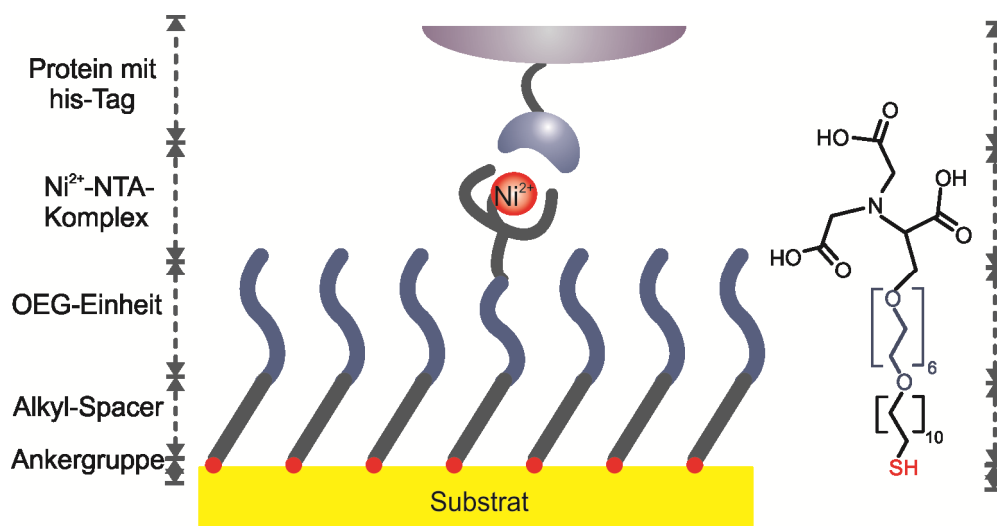


Abb. 2.11: Aufbau eines NTA-terminierten SAMs. Die Anbindung eines Polyhistidin-exponierenden Biomoleküls erfolgt durch die Ausbildung eines Ni^{2+} -Komplexes. Ein Beispiel für die Struktur eines NTA-terminierten, oberflächenaktiven Moleküls ist rechts dargestellt.

NTA-Kopfgruppen komplexieren Ni^{2+} -Ionen, sie belegen dabei jedoch nur maximal vier Koordinationsstellen.^[151] Die verbleibenden Stellen können von Histidin-Einheiten besetzt werden, so dass ein stabiler Komplex entsteht. Auf diese Weise können Proteine komplexiert werden, die mit mehreren räumlich benachbarten Histidinresten (his-Tag) ausgestattet wurden.

Monolagen mit Einzelstrang-DNA

Monolagen mit Einzelstrang-DNA als Kopfgruppe können eingesetzt werden, um spezifisch die komplementäre DNA anzubinden.^[152,153] Auch hier werden bevorzugt gemischte SAMs eingesetzt, damit der DNA-Strang für den Analyten frei zugänglich bleibt und es nicht zu Querverknüpfungen zwischen den einzelnen Kopfgruppen kommt (siehe Abbildung 2.12).

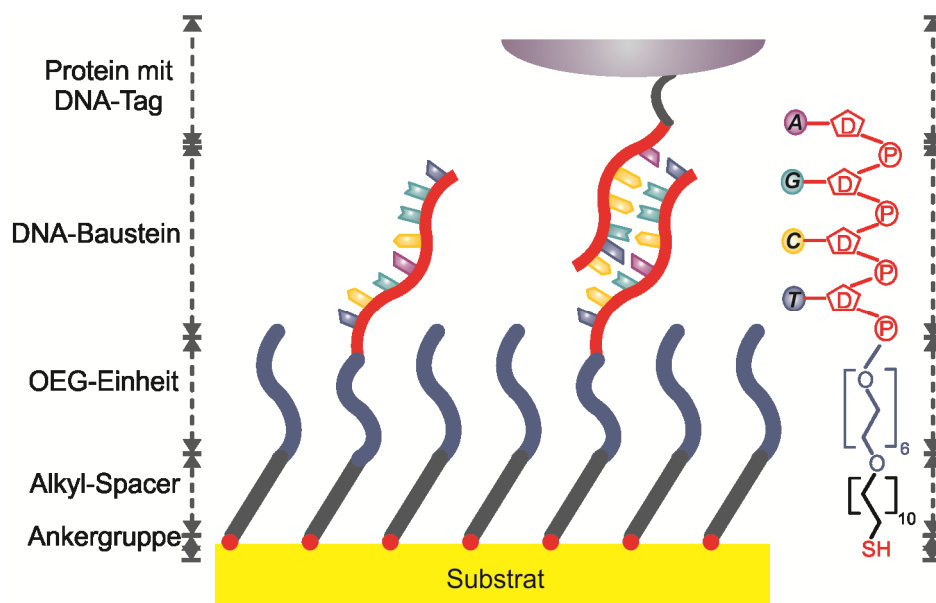


Abb. 2.12: Aufbau eines DNA-basierten Sensors, bei dem ein Einzelstrang auf der Oberfläche immobilisiert ist. Durch die Wahl eines geeigneten, gemischten SAMs kann der komplementäre Strang ungehindert anbinden. Ein Beispiel für die Struktur eines derartigen SAM-bildenden Moleküls ist rechts dargestellt.

Sogar in komplexen Probenmatrices wie z.B. Blutserum, in denen eine Vielzahl von Einzelsträngen mit unterschiedlichen Nukleotidsequenzen vorliegt, können die komplementären Stränge detektiert werden.^[154-156]

Kohlenhydrat-basierte Monolagen

Die Wechselwirkung von speziellen Proteinen, sogenannte Lektinen und Kohlenhydrat-Strukturen ist ein in der Natur oft genutzter Mechanismus.^[157-160] Dabei können verschiedene Lektin-Spezies unterschiedliche Kohlenhydrat-Strukturen binden. Diese Wechselwirkung wird in der Biosensorik ausgenutzt, um verschiedene Lektine zu detektieren. Ein klassisches Beispiel ist *Concanavalin A*, ein Lektin, das an Mannose anbindet.^[161,162] Ein Mannose-terminierter SAM kann, zusammen mit Mangan(II) als Cofaktor, als Sensor für diese Proteinklasse verwendet werden.^[163-165] Auch die Adhäsion von Bakterien an Oberflächen erfolgt häufig über die Anbindung an Kohlenhydrat-Strukturen. Vor allem Bakterien mit speziellen Fimbrien, die ein Mannose-spezifisches Lektin namens FimH besitzen,^[166] können an Mannose-terminierte SAMs anbinden (siehe Abbildung 2.13).^[167-170]

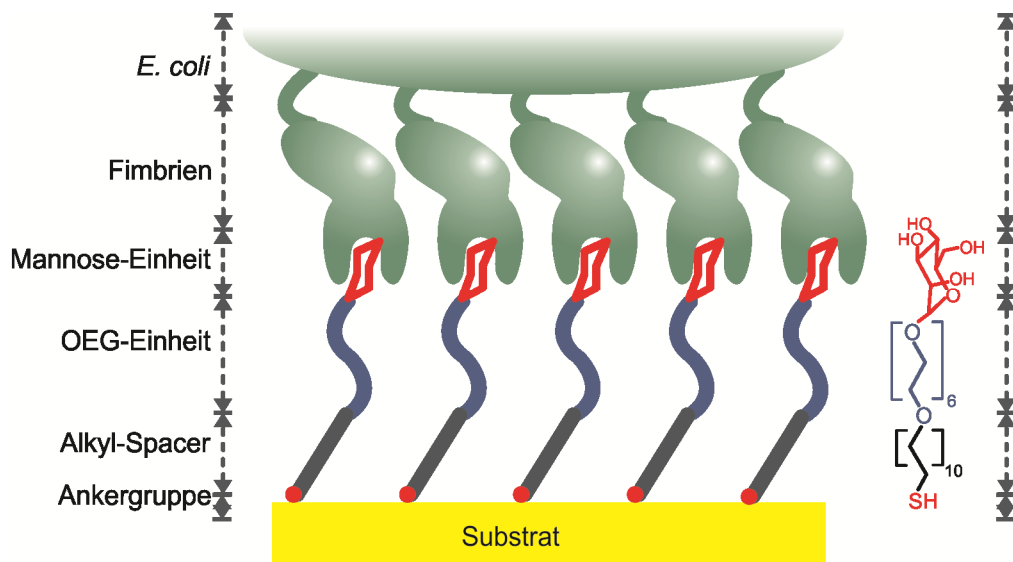


Abb. 2.13: Anbindung von *E. coli* an einen Mannose-terminierten SAM. Die Anbindung erfolgt an Fimbrien, welche über spezielle Mannose-spezifische Lektine verfügen. Ein Beispiel für die Struktur eines Mannose-terminierten, oberflächenaktiven Moleküls ist rechts dargestellt.

2.7 Biosensoren in Polyglycerol-Matrices

Viele Strategien, die bei der Herstellung von SAM-basierten Biosensoren Anwendung finden, können für die Modifizierung von biorepulsiven Polyglycerolschichten adaptiert werden. Die zahlreichen freien OH-Gruppen der Polyglycerol-Einheiten ermöglichen die Modifizierung mit sensorisch aktiven Gruppen.^[171,172] Dabei können die biorepulsiven PG-Matrices auch mit mehreren Bindungsstellen versehen werden, so dass beispielsweise zwei verschiedene Biomoleküle gleichzeitig anbinden können.

Für die Herstellung von PG-basierten Sensoren sind ebenfalls mehrere Strategien denkbar. Zum einen können Polyglycerole synthetisiert werden, die sowohl mit Ankergruppen zur Anbindung an die Oberfläche als auch mit sensorisch aktiven Molekülgruppen versehen werden. Diese Moleküle können auf der Oberfläche abgeschieden werden und es entsteht ein Biosensor, dessen Polyglycerol-Matrix die unspezifische Anbindung von Biomolekülen unterdrückt und auf den gewünschten Analyten spezifisch anspricht.^[173]

Zum anderen können bereits an die Oberfläche angebundene Polyglycerol-Beschichtungen nachträglich mit sensorisch aktiven Molekülen modifiziert werden.^[174] Die Herstellung von Sensoren, die etablierte Bindungsstellen wie Biotin oder Mannose tragen, ist dabei ebenso möglich wie der Aufbau neuer Sensortypen. So kann beispielsweise Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) an die Polyglycerolschicht angebunden werden, um, ähnlich wie NTA (Kapitel 2.6.2), Biomoleküle mit Polyhistidin-Bausteinen über einen Übergangsmetallkomplex auf der Oberfläche zu immobilisieren (siehe Abbildung 2.14).

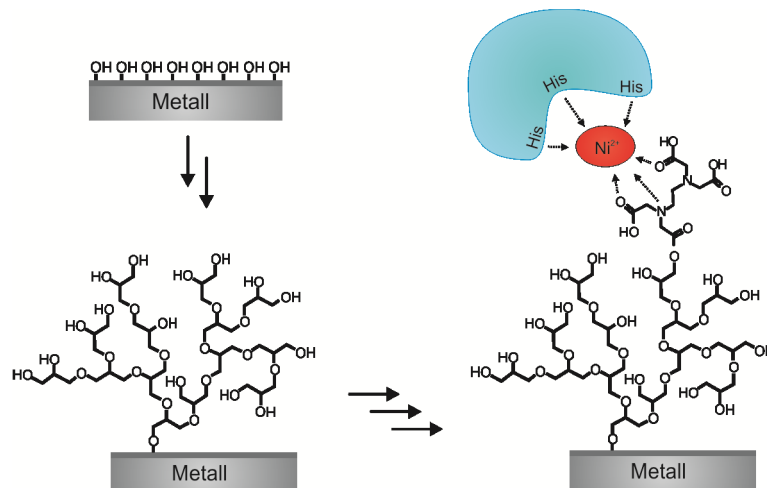


Abb. 2.14: Anbindung von EDTA an eine mit Polyglycerol modifizierte Oberfläche. Die verbliebenen Koordinationsstellen des Nickelions können verwendet werden, um Biomoleküle mit his-Tag durch Komplexierung zu binden.

Polyglycerol-beschichtete Oberflächen können mittels Elektronenstrahl- oder UV-Lithographie lateral strukturiert werden. Durch Variation der Polyglycerol-Schichtdicke sowie der Strahlungsdosis ergibt sich eine hohe Flexibilität bei der Herstellung komplexer geometrischer Strukturen.

3 Bearbeitete Projekte

3.1 Die bearbeiteten Themen im übergeordneten Zusammenhang

In dieser Arbeit werden Projekte beschrieben, die das Adsorptionsverhalten von Biomolekülen, insbesondere Proteinen, an verschiedenen Materialoberflächen untersuchen. Von besonderem Interesse sind dabei sowohl biorepulsive als auch biospezifische Beschichtungen und deren Kombinationsmöglichkeiten in der Sensorik.

Der erste Schwerpunkt der dieser Arbeit zugrunde liegenden Forschung lag auf der Beschichtung verschiedener oxidischer Oberflächen mit Polyglycerol. Ausgehend von Glycidol kann Polyglycerol an der natürlichen Passivierungsschicht von Metallen wie Stahl und Aluminium polymerisiert werden, wobei stabile und biorepulsive Beschichtungen entstehen. Die kovalente Anbindung des Polymers an die natürliche Oxidschicht des Metalls wurde dabei zunächst mit Hilfe eines Haftvermittlers ermöglicht. Dieser Haftvermittler verfügt sowohl über Siloxan-Ankergruppen, die an die Oxidschicht anbinden, als auch über Aminogruppen, die die Polymerisation von Glycidol initiieren. Bei der Charakterisierung der Polymerschichten lag der Fokus auf den biorepulsiven Eigenschaften des Systems, welche mittels Bakterientests ermittelt wurden.

Die Notwendigkeit eines Haftvermittlers für die Anlagerung von stabilen Polyglycerol-Beschichtungen an Silicium-, Aluminium- und Stahloberflächen wurde in einem weiteren Projektabschnitt untersucht. Dabei sollte die Polymerisation an der Oxidschicht durch die Erhöhung der Reaktionstemperatur erfolgen. Die direkte Anbindung der Polyglycerolschicht würde die Herstellung der Schichten deutlich vereinfachen. Durch Protein- und Bakterientests wurden die biorepulsiven Eigenschaften dieser Systeme ermittelt. Die Möglichkeit der lateralen Strukturierung der Schichten mittels Elektronenstrahl-Lithographie

wurde ebenso wie die chemische Modifizierung durch die Anbindung einer weiteren Moleküllage untersucht. Auf diese Weise können beispielsweise sensorisch aktive Bindungsstellen an die biorepulsive Oberfläche angebunden werden.

Im zweiten Teil dieser Arbeit lag der Schwerpunkt auf biorepulsiven Beschichtungen, die aus nur einer Moleküllage bestehen. Mit selbstanordnenden Monoschichten wurden dabei zunächst biorepulsive Oberflächen erzeugt und charakterisiert. Ein besonderes Augenmerk lag auf dem Verhalten der biorepulsiven Monolage gegenüber UV-Strahlung. Dabei sollte ermittelt werden, wie UV-Strahlung verschiedener Wellenlänge die Beschichtung abbaut. Diese Informationen sind notwendig, um lateral strukturierte Sensoren mittels UV-Lithographie erzeugen zu können. Von besonderem Interesse war außerdem die Zersetzung der biorepulsiven Monolage bei der Bestrahlung unter Wasser. Für den Einsatz von Lithographie-Techniken in mikrofluidischen Anlagen muss dieses Zersetzungsverhalten genau untersucht werden.

Biorepulsive Monolagen können auch verwendet werden, um gezielt Biomoleküle anzulagern. Die einzelnen Bausteine werden chemisch so modifiziert, dass sie spezifische Bindungsstellen für diese Biomoleküle darstellen. Die spezifische Anbindung eines Biomoleküls einerseits und die Repulsivität gegenüber allen anderen Molekülen andererseits ergeben die Grundlage für einen funktionierenden Biosensor. Gerade bei der Detektion von großen Biomolekülen oder Bakterien spielt jedoch nicht nur die chemische Zusammensetzung, sondern auch die Ausrichtung und Zugänglichkeit der Bindungsstelle eine entscheidende Rolle. Der Einfluss der Bindungsorientierung wurde im Rahmen dieser Arbeit ermittelt. Dazu wurden Schichten hergestellt, bei denen die Orientierung der Bindungsstelle gezielt mittels UV-Strahlung kontrolliert werden kann. Anschließende Bakterientests sollten zeigen, ob sich die Orientierungsänderung auf die Anbindung der Mikroorganismen auswirkt.

3.2 Polyglycerol-Beschichtungen

Ein bekanntes Problem in Medizin und Industrie ist die Anhaftung von Proteinen oder Bakterien an Oberflächen. Dieser Prozess, der *Biofouling* genannt wird, hat einen großen Einfluss auf die Funktionalität und Haltbarkeit von Materialien, die in Kontakt mit Wasser stehen.^[23] In der Medizin können Bakterienansiedlungen auf Implantaten oder Kathetern zu lebensbedrohlichen Infektionen führen.^[20,21] Häufig wird in solchen Fällen auf Antibiotika zurückgegriffen. Die Nebenwirkungen dieser Behandlungen sind jedoch häufig schwerwiegend, weshalb alternative Strategien zur Vermeidung von Bakterienansiedlung gesucht werden. In den letzten Jahren wurden viele Strategien entwickelt, um die Wechselwirkungen zwischen Mikroorganismen und Oberflächen zu unterdrücken.^[80] Oberflächengebundene Polyethylenglycole reduzieren die Anbindung von Proteinen oder Bakterien,^[82] sie sind jedoch anfällig für Oxidationsreaktionen und den damit verbundenen Abbauprozessen,^[175-179] was ihren Einsatz auf medizinischen Oberflächen limitiert. Polyglycerole weisen aufgrund ihrer verzweigten Struktur eine erhöhte Stabilität gegenüber Oxidationsreaktionen auf.^[180] Die Verwendung der stabileren Polyglycerole ist daher eine wirkungsvolle Alternative.

3.2.1 Anbindung von Polyglycerol an aminoterminierte Oberflächen

Viele Oberflächen eignen sich nur bedingt für die direkte Anbindung von Polyglycerol, da die Reaktivität dieser Oberflächen nicht ausreicht, um die Polymerisation von Glycidol zu initiieren. Deshalb wurde zu Beginn dieses Projekts die Polymerisation von Glycidol an aminoterminierten Oberflächen untersucht, welche durch die Modifizierung von Siliciumoberflächen mit

3-(Aminopropyl)trimethoxysilan (APTMS) hergestellt wurden (siehe Abbildung 3.2). Diese Moleküle sind bekannt für ihre Reaktivität mit vielen Materialien (Metall, Glas, Oxide) und erzeugen eine aminoterminierte Monolage auf der Oberfläche.^[181-184] Durch die Polymerisation von Glycidol an den Aminogruppen können Schichten auf Oberflächen erzeugt werden, welche die Adsorption von Bakterien unterdrücken (siehe Abbildung 3.1).

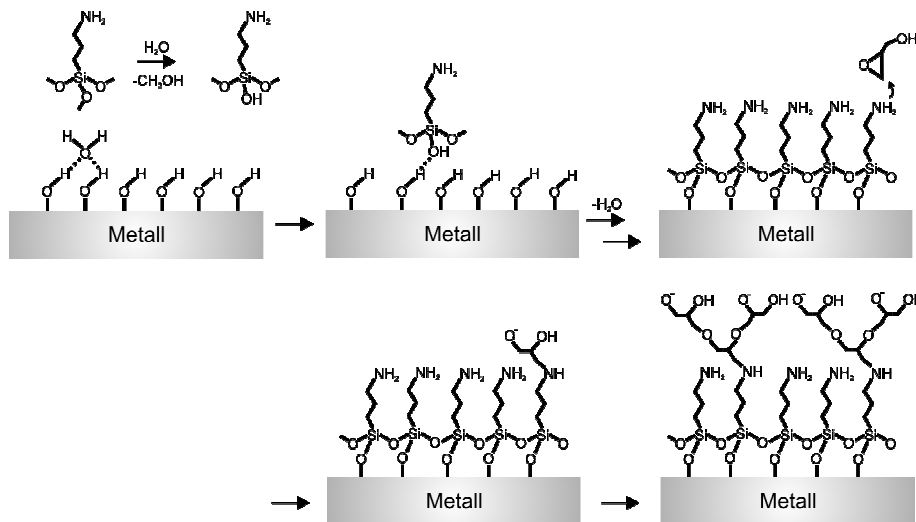


Abb. 3.1: Anbindung von (3-Aminopropyl)trimethoxysilan (APTMS) an die natürliche hydroxyterminierte Oberfläche eines Substrats. Die anschließende Polymerisation von Glycidol wird durch die exponierten Aminogruppen initialisiert.^[79]

Für dieses Projekt wurden daher zunächst die Bedingungen für eine Beschichtung von Siliciumoberflächen mit APTMS evaluiert. Die Vermeidung von Multilagen ist dabei entscheidend, um die haftvermittelnde Fähigkeit der Schicht zu garantieren. In einer Testreihe wurden Substrate unter verschiedenen Bedingungen beschichtet. Stabile Monolagen konnten aus einer 10%igen APTMS-Lösung in Toluol gewonnen werden, wobei die Beschichtung bei 26 °C über 67 Stunden erfolgte (siehe Abbildung 3.2). Für alle weiteren Experimente dienten derart erzeugte Schichten als Grundlage.

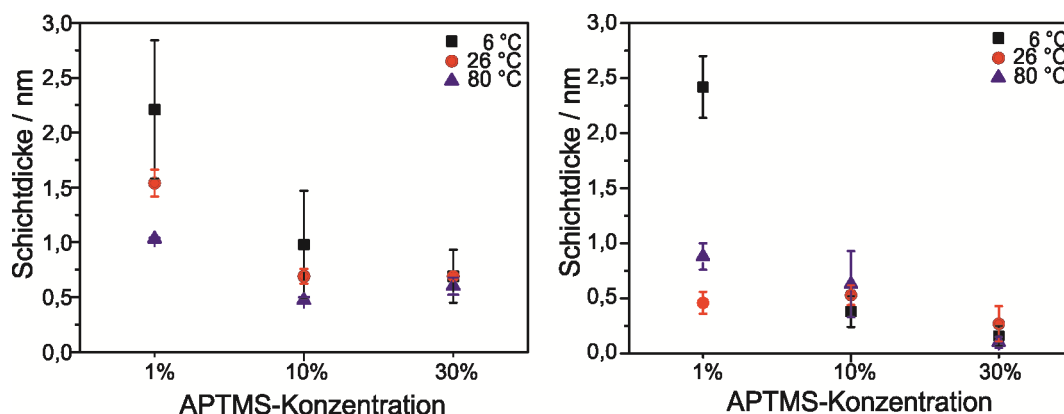


Abb. 3.2: APTMS-Schichtdicke auf Siliciumsubstraten nach der Abscheidung aus Toluol bei verschiedenen Konzentrationen und Temperaturen. Die Beschichtungsdauer beträgt 2 h (links) und 67 h (rechts).^[79]

Die Abscheidung der Polyglycerolschicht sollte aus einer 10%igen Lösung in N-Methyl-2-pyrrolidon (NMP) erfolgen. In einer Testreihe wurde zunächst die Reaktionstemperatur, die für eine erfolgreiche Beschichtung notwendig ist, ermittelt (siehe Tabelle 3.1).

Tabelle 3.1: Übersicht der untersuchten Beschichtungstemperaturen zur Herstellung stabiler PG-Schichten auf APTMS-terminierten Siliciumoberflächen. Angegeben sind neben der Schichtdicke auch der Kontaktwinkel, der im Zuge der Benetzung messbar ist (*advancing, adv.*), und der Kontaktwinkel, der bei der Entnetzung verbleibt (*receding, rec.*).^[79] Die besten Bedingungen sind hervorgehoben.

	Abscheidungsbedingung	Schichtdicke / nm	Kontaktwinkel (adv)	Kontaktwinkel (rec)
1	20 °C, 20 h	0,3 ± 0,1	46 ± 3	24 ± 4
2	20 °C, 50 h	1,3 ± 0,8	34 ± 2	17 ± 5
3	80 °C, 20 h	1,0 ± 0,2	39 ± 3	11 ± 2
4	80 °C, 50 h	1,0 ± 0,4	30 ± 7	16 ± 7
5	140 °C, 17 h	2,8 ± 0,6	30 ± 3	16 ± 4
6	140 °C, 68 h	9,6 ± 0,9	20 ± 2	8 ± 3

Als Indikator für eine stabile Beschichtung wurden dabei sowohl die ellipsometrisch bestimmte Dicke als auch der Kontaktwinkel von auf der Schicht

aufgebrachten Wassertropfen verwendet. Eine Beschichtungstemperatur von 140°C stellte sich dabei als geeignet heraus und wurde für alle nachfolgenden Experimente verwendet.

Um den Einfluss der Beschichtungszeit auf die Dicke der Polyglycerolschicht zu ermitteln, wurden die APTMS-modifizierten Substrate unterschiedlich lange mit Polyglycerol beschichtet. Die Ergebnisse dieser Testreihe zeigten eine Zunahme der PG-Schichtdicke bei zunehmender Beschichtungsdauer (siehe Abbildung 3.3). Kontaktwinkelmessungen ergaben, dass die beschichteten Oberflächen bei steigender Beschichtungszeit zunehmend hydrophiler wurden. Da stark hydrophile Oberflächen die Anbindung von Proteinen und Bakterien verhindern, ist dies ein erster Hinweis auf die Biorepulsivität der Schichten.

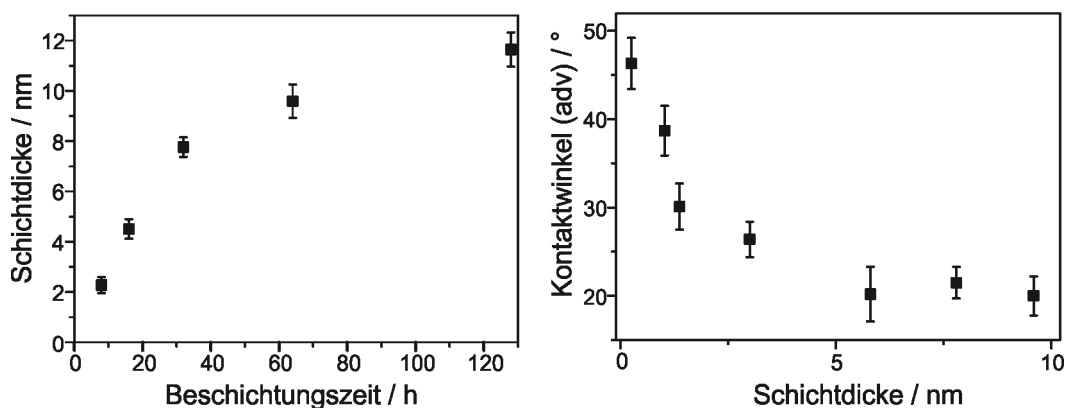


Abb. 3.3: Dicke der Polyglycerolbeschichtung in Abhängigkeit von der Beschichtungszeit (links). Mit steigender Schichtdicke sinkt der Wasser-Kontaktwinkel der Beschichtung (rechts).^[79]

Die Biorepulsivität der PG-beschichteten Oberflächen wurde in Adsorptionstests mit *E. coli*-Bakterien ermittelt. Selbst dünne Polyglycerol-Beschichtungen zeigten bei diesen Tests bereits eine deutlich geringere Bakterienanlagerung als unbeschichtete Siliciumoberflächen. Mit steigender Beschichtungszeit konnten Oberflächen erzeugt werden, die die Adhäsion der *E. coli* um bis zu 98% reduzieren (siehe Abbildung 3.4).

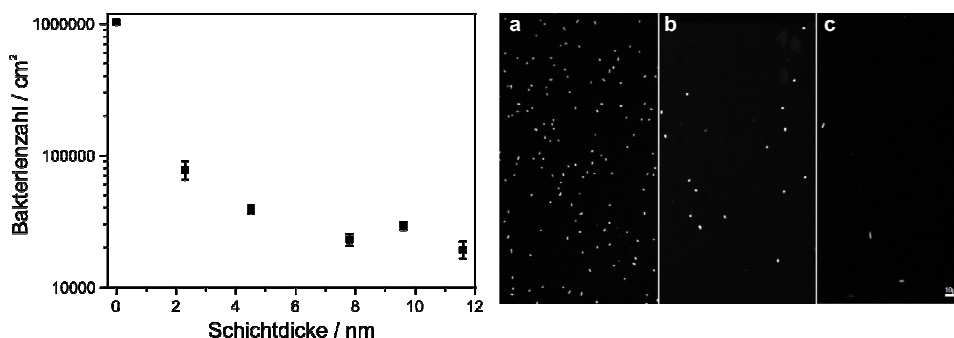


Abb 3.4: Anlagerung von *E. coli* in Abhängigkeit von der Polyglycerol-Schichtdicke (links). Lasermikroskopische Aufnahmen von *E. coli* auf unbeschichtetem Silicium (a) sowie auf Siliciumoberflächen mit einer 2,3 nm dicken (b) und einer 11,6 nm dicken (c) PG-Schicht (rechts).^[79]

Im ersten Projektabschnitt konnten somit Polyglycerolbeschichtungen, die biorepulsive Eigenschaften aufweisen, in einem zweischrittigen Prozess an Siliciumoberflächen angebunden werden. Dafür wurde eine aminoterminierte Monolage auf die Oberfläche aufgebracht, die in einem zweiten Schritt die Polymerisation von Glycidol initialisiert. Die Dicke dieser Polyglycerolschicht ist abhängig von der Beschichtungsdauer und kann die Bakterienadhäsion um bis zu 98% reduzieren.

3.2.2 Anbindung von Polyglycerol an oxidische Materialien

Die direkte Beschichtung von oxidischen Oberflächen mit Polyglycerol hätte gegenüber der in Kapitel 3.2.1 beschriebenen Methode den Vorteil, dass der Haftvermittler wegfiele, was eine Vereinfachung des Beschichtungsverfahrens bedeuten würde. Die direkte Polymerisation von Glycidol sollte im zweiten Teilprojekt entwickelt und optimiert werden. (siehe Abbildung 3.5).

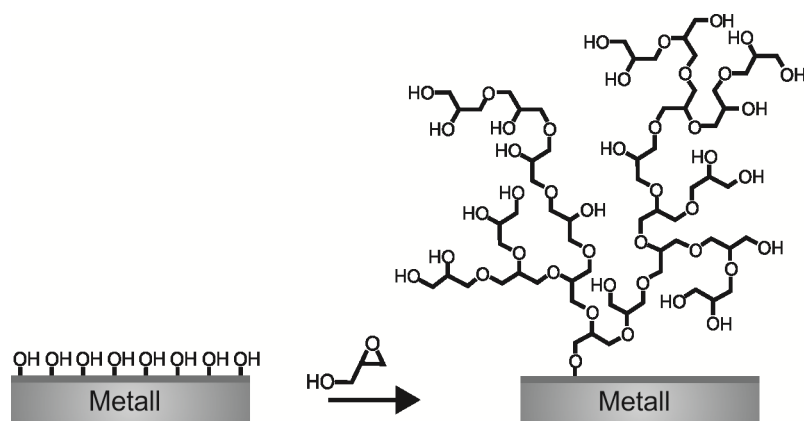


Abb. 3.5: Bei der Ringöffnungspolymerisation von Glycidol kann die Hydroxyl-terminierte Substratoberfläche als Initiator dienen. Es entsteht ein stark verzweigtes Polymer, das kovalent an die Metalloberfläche gebunden ist.^[58]

Für die Anbindung von Polyglycerol an die natürliche Oxidschicht von Materialien wie Silicium, Stahl oder Aluminium wurde zunächst ein Beschichtungsprotokoll entwickelt und optimiert. In Anlehnung an die im vorigen Kapitel vorgestellten Ergebnisse wurden 10%ige Glycidol-Lösungen in verschiedenen Lösungsmitteln (Dimethylsulfoxid (DMSO), N,N-Dimethylformamid (DMF) und N-Methyl-2-pyrrolidon (NMP)) angesetzt und bei verschiedenen Temperaturen zunächst für 24 Stunden als Beschichtungslösung verwendet (siehe Tabelle 3.2). Die besten Ergebnisse wurden mit NMP als Lösungsmittel erzielt. In einer weiteren Testreihe wurde Diisopropylethylamin (DIPEA) als Base zugesetzt, um die Polymerisation durch Deprotonierung der Hydroxyl-Gruppen zu beschleunigen. Ein positiver Effekt durch DIPEA konnte jedoch nicht beobachtet werden.

Tabelle 3.2: Schichtdicke der Polyglycerolschicht auf Aluminium nach einer Beschichtung für 24 h bei verschiedenen Temperaturen und aus verschiedenen Lösungsmitteln mit oder ohne Diisopropylethylamin (DIPEA) als Base (0,5 %).^[58]

	Lösungsmittel	Beschichtung bei 80 °C	Beschichtung bei 140 °C
1	DMSO	$-0,3 \pm 0,1$ nm	$0,1 \pm 0,1$ nm
2	DMF	$1,7 \pm 0,1$ nm	$2,1 \pm 0,1$ nm
3	NMP	$0,5 \pm 0,1$ nm	$17,6 \pm 0,3$ nm
4	DMSO + DIPEA	$-0,2 \pm 0,1$ nm	$0,3 \pm 0,1$ nm
5	DMF + DIPEA	$1,4 \pm 0,1$ nm	$2,4 \pm 0,2$ nm
6	NMP + DIPEA	$0,2 \pm 0,1$ nm	$3,1 \pm 0,3$ nm

Für alle Substratmaterialien wurden Experimente mit unterschiedlicher Beschichtungszeit durchgeführt. Dabei zeigte sich für alle Substrate ein nahezu linearer Zusammenhang zwischen der Dicke der abgeschiedenen Polyglycerolschicht und der Beschichtungszeit. Auf Siliciumsubstraten konnten bereits bei 100 °C stabile Polyglycerolschichten erzeugt werden. Testreihen bei 140 °C jedoch zeigten, dass die Polymerisation bei erhöhten Temperaturen deutlich schneller abläuft (siehe Abbildung 3.6 links).

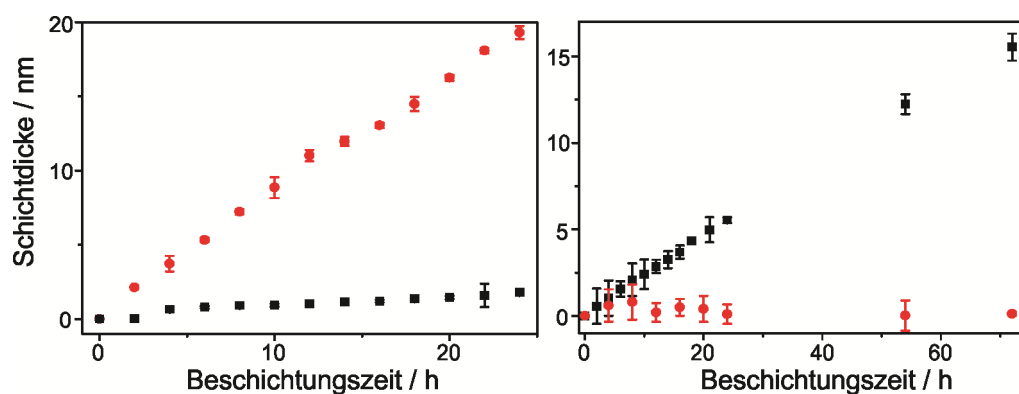


Abb. 3.6: Polyglycerol-Schichtdicke auf Silicium (links) und Stahl (rechts) in Abhängigkeit von der Beschichtungszeit bei 100 °C (schwarz) und 140 °C (rot).^[58]

Ein völlig anderes Verhalten zeigte sich bei der Beschichtung von Stahlsubstraten (siehe Abbildung 3.6 rechts). Bei 140 °C waren deutliche Korrosionsspuren auf der Stahloberfläche zu sehen, eine Quantifizierung der Polyglycerolmenge war nicht möglich. Nur durch Absenkung der Temperatur auf 100 °C konnten PG-Schichten auf Stahl erzeugt werden, ohne diesen zu korrodieren.

Die Beschichtung von Aluminiumoberflächen mit Polyglycerol erfolgt nur bei Temperaturen von 140 °C (siehe Abbildung 3.7). Der Grund hierfür liegt vermutlich in der besonders stabilen Passivierungsschicht von Aluminium. Diese Schicht muss zunächst aufgebrochen werden, um freie Hydroxyl-Gruppen für die Polymerisation von Glycidol zu erhalten.

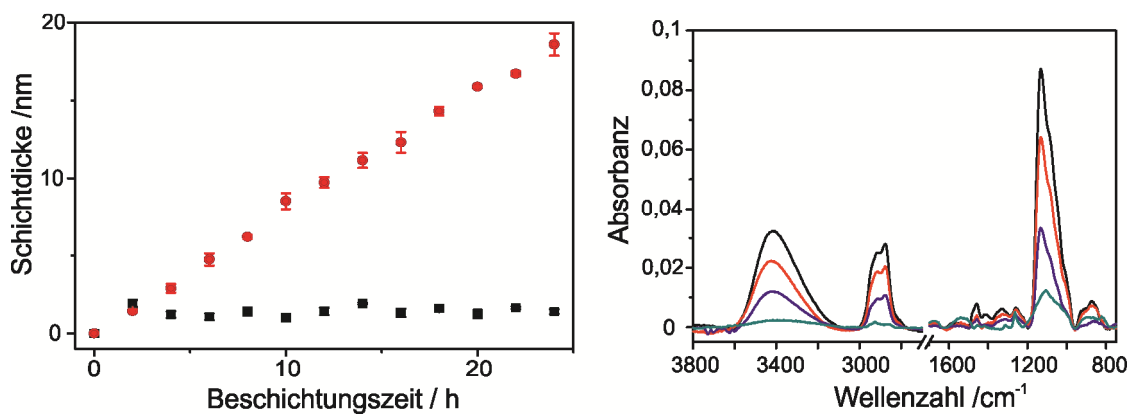


Abb. 3.7: Polyglycerol-Schichtdicke auf Aluminium in Abhängigkeit von der Beschichtungszeit bei 100 °C (schwarz) und 140 °C (rot)(links). IRRA-Spektren der PG-Schicht auf Aluminium nach 2 (türkis), 8 (blau), 18 (rot) und 24 (schwarz) Stunden (rechts).^[58]

Die Beschichtung der Substrate mit Polyglycerol kann auch mittels Oberflächen-IR-Spektroskopie verfolgt werden (siehe Abbildung 3.7 links). Signale bei 2874 cm^{-1} und 2910 cm^{-1} (C-H Streckschwingung) und bei 1180 cm^{-1} (C-O-C Streckschwingung) bestätigen die Anbindung von Polyglycerol an die Oberfläche. Ein ausgeprägtes breites Signal bei 3414 cm^{-1} kann den Hydroxyl-Streckschwingungen des ausgebildeten Polymers zugeordnet werden. Das

Spektrum zeigt keine weiteren Signale, die auf Zersetzungsprodukte oder Nebenreaktionen hinweisen. Eine nahezu lineare Zunahme der Signalintensitäten bei steigender Beschichtungszeit ist auch hier zu beobachten.

Um die biorepulsiven Eigenschaften der Polyglycerol-Beschichtung zu bestimmen, wurden Protein-Adsorptionstests auf Substraten mit unterschiedlicher PG-Schichtdicke durchgeführt. Inkubationsexperimente mit verschiedenen Proteinen (Albumin, Globulin, Fibrinogen) ergaben in allen Fällen eine deutliche Abnahme der adsorbierten Proteinmenge mit steigender Schichtdicke, bis eine vollständige Unterdrückung der Proteinabsorption nachweisbar war (siehe Abbildung 3.8, links).

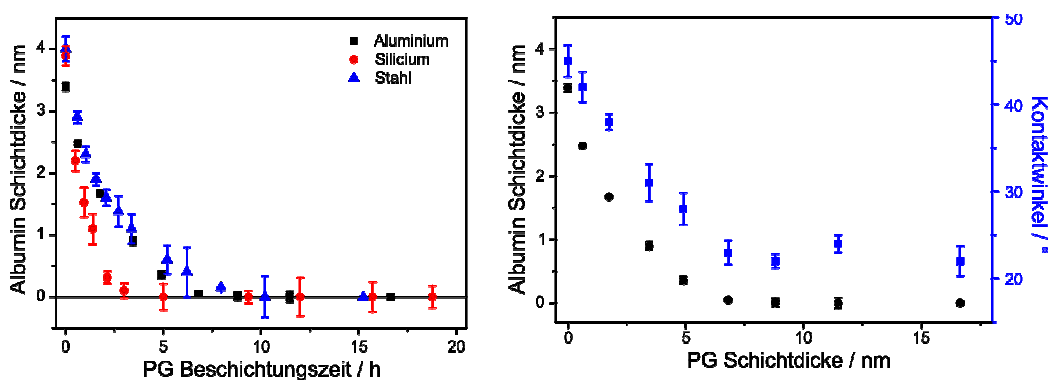


Abb. 3.8: Zusammenhang zwischen der Adsorption von Albumin und der PG-Beschichtungszeit auf verschiedenen Materialien (links). Die Abhängigkeit der Albumin-Adsorption und des Wasser-Kontaktwinkels der PG-Schichten auf Aluminium mit verschiedenen Schichtdicken sind rechts dargestellt.^[58]

Ein ähnlicher Trend wurde für den Wasser-Kontaktwinkel der Polyglycerolschichten beobachtet: Mit zunehmender Schichtdicke sinkt der Kontaktwinkel der beschichteten Oberfläche, was einem steigenden hydrophilen Charakter der Schicht entspricht (siehe Abbildung 3.8, rechts). Allgemein wird angenommen, dass solche hydrophilen Oberflächen die Anbindung von Proteinen und Bakterien verhindern.

Um die repulsiven Eigenschaften der Polyglycerolschichten gegenüber Bakterien zu überprüfen, wurden Testreihen mit *E. coli*-Bakterien durchgeführt, die ein grün fluoreszierendes Protein (GFP) exprimieren. Dazu wurden zwei unterschiedliche Schichtdicken getestet (siehe Abbildung 3.9). Zum einen wurden 5 nm dicke Polyglycerolschichten verwendet, da auf Substraten mit solchen Schichten die Adsorption von Proteinen vollständig unterdrückt wird. Zum anderen wurden Substrate mit einer 17 nm dicken PG-Schicht getestet, die nach einer Beschichtungszeit von 24 Stunden bei 140 °C erhalten werden.

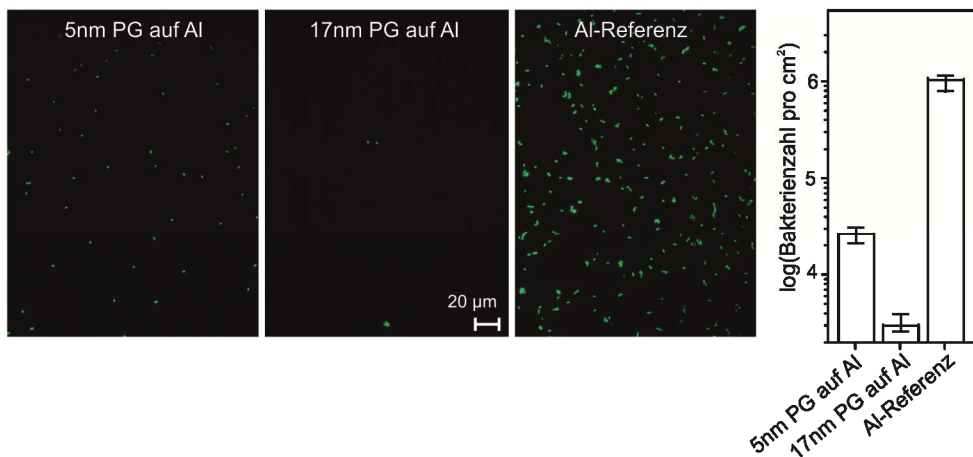


Abb. 3.9: Fluoreszenz-mikroskopische Aufnahmen von GFP exprimierenden *E. coli* auf unbehandelten Aluminiumsubstraten und Polyglycerolschichten mit 5 nm oder 17 nm Schichtdicke (links). Die Zahl der Bakterien auf diesen Substraten ist rechts dargestellt.^[58]

Die Auswertung der Bakterientests ergab, dass bereits 5 nm dicke PG-Schichten die Adsorption von Bakterien um mindestens 90% reduzieren können (Abbildung 3.9 zeigt die Daten für *E. coli* auf Aluminiumsubstraten). Die Biorepulsivität konnte durch eine dickere Polyglycerolschicht noch deutlich verbessert werden. Auf den Proben mit einer 17 nm dicken PG-Schicht konnten lediglich 0,1% der Bakterien im Vergleich zu unbehandelten Substraten nachgewiesen werden (siehe Abbildung 3.9). Diese Tests zeigen deutlich, dass eine vollständige Proteinresistenz kein ausreichendes Kriterium für die Biorepulsivität einer Oberfläche ist.

Im Rahmen dieses Projektabschnitts konnte die direkte Beschichtung von oxidischen Oberflächen mit Polyglycerol entwickelt werden. Die Aluminium-, Silicium- und Stahloberflächen wurden dafür bei erhöhter Temperatur in einer 10%igen Glycidol-Lösung in NMP beschichtet. Die Beschichtungsdauer ist ein entscheidender Faktor für die Dicke der abgeschiedenen Polyglycerolschicht und damit auch für die Biorepulsivität. Je größer die abgeschiedene Polyglycerolmenge ist, desto höher ist auch die Biorepulsivität der Schicht, wie durch Adsorptionstests mit verschiedenen Proteinen und Bakterien gezeigt werden konnte. Die Menge der adsorbierten Bakterien konnte dabei um bis zu 99,9% reduziert werden. Die Schichtdicke, bei der eine vollständige Unterdrückung der Proteinadhäsion nachgewiesen werden konnte, ist jedoch nicht ausreichend, um auch die Adsorption von Bakterien vollständig zu unterdrücken. Die Resistenz einer Oberfläche gegenüber der Adsorption von Mikroorganismen kann demnach nicht allein aufgrund von Proteinresistenzmessungen vorhergesagt werden.

3.2.3 Stabilisierung von Polyglycerolschichten durch quervernetzende Moleküle

Die hyperverzweigte Struktur von Polyglycerol ermöglicht eine dichtgepackte Beschichtung von Oberflächen. Durch die zahlreichen Etherbindungen ist sie jedoch auch anfällig für Abbauprozesse durch Umwelteinflüsse wie beispielsweise UV-Strahlung.^[185] Wird die Bindung zwischen der PG-Beschichtung und der Oxidschicht der Oberfläche zerstört, so löst sich die darauf aufgebaute verzweigte Struktur und es entstehen große Lücken in der Beschichtung. Eine Quervernetzung der einzelnen Polymerstränge könnte diesen Effekt reduzieren. Dazu eignen sich Moleküle, die mindestens zwei reaktive

Gruppen besitzen und über ein ausreichend flexibles Molekülgerüst verfügen. Die Enden der einzelnen Polyglycerolstränge sollten mit den quervernetzenden Molekülen reagieren, was zu einer gesteigerten Stabilität der gesamten Schicht führen sollte.

Um diese Stabilisierungsstrategie zu testen, wurde Ethylenglycol-diglycidylether (EGDGE, siehe Abbildung 3.10) als quervernetzendes Agens verwendet, das ein ähnliches Strukturmotiv wie Glycidol aufweist.

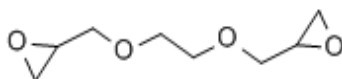


Abb. 3.10: Strukturformel von Ethylenglycol-diglycidylether (EGDGE).

Beide Moleküle weisen ähnliche Löslichkeitseigenschaften auf und eignen sich deshalb für Copolymerisations-Experimente. In einer ersten Testreihe wurden beide Moleküle als 10%ige Lösungen in NMP angesetzt und in verschiedenen Mischungsverhältnissen für die Beschichtung von Aluminiumoberflächen verwendet (siehe Abbildung 3.11).

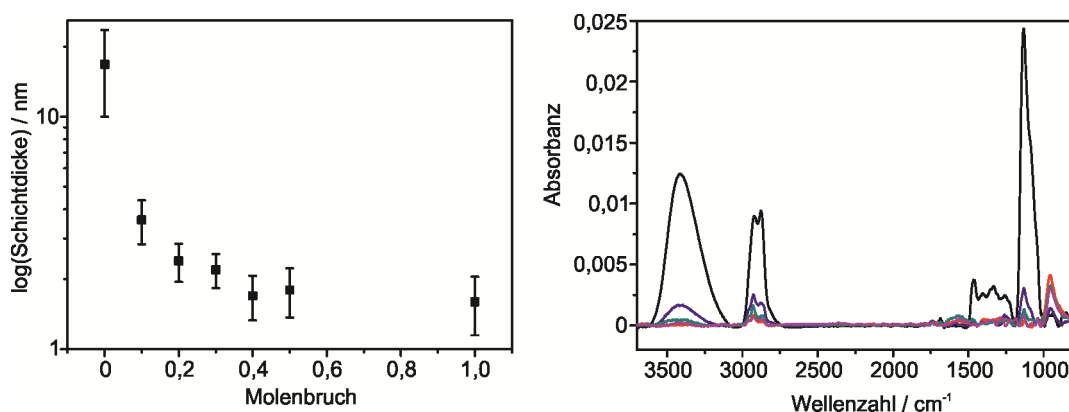


Abb. 3.11: Schichtdicke des Polyglycerol-EGDGE-Copolymers in Abhängigkeit vom Molenbruch (links). Die IRRA-Spektren der auf Aluminium abgeschiedenen Copolymere unterstützen die Ellipsometriewerte (rechts). Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind lediglich die Spektren der Molenbrüche $x=0$ (schwarz); 0,1 (blau); 0,3 (türkis); 0,5 (pink) und 1 (rot) abgebildet.

Die Mischungsverhältnisse der Monomere haben einen deutlichen Einfluss auf die Dicke der abgeschiedenen Polymerschicht. Je mehr EGDGE in der Beschichtungslösung vorhanden ist, desto kleiner ist die Dicke der abgeschiedenen Schicht. Die IRRA-Spektren der quervernetzten Schichten bestätigen diese Ergebnisse: Bereits bei einer niedrigen EGDGE-Konzentration sind die charakteristischen Signale des Polyglycerols bei 3420, 2900 und 1100 cm^{-1} nur noch in abgeschwächter Form zu sehen. Bei hohen EGDGE-Konzentrationen ist ein weiteres Signal bei 950 cm^{-1} zu erkennen, welches charakteristisch für Epoxid-Schwingungen ist (siehe Abbildung 3.11). Eine Quervernetzung scheint hier nicht stattzufinden, da die zweite Epoxidgruppe des EGDGE noch intakt ist. Die sterisch anspruchsvolle Struktur des EGDGE ist ein möglicher Grund für die deutlich niedrigeren Schichtdicken. Die Polymerisationsreaktion an der Oberfläche ist beendet, sobald aufgrund der erhöhten sterischen Hinderung durch die EGDGE-Moleküle kein weiteres Monomer anbinden kann. Dies geschieht umso häufiger, je mehr EGDGE in der Beschichtungslösung vorhanden ist. Die in Abbildung 3.11 dargestellten Werte für die Dicke der Beschichtung weisen zudem darauf hin, dass bei besonders hohen EGDGE-Konzentrationen (Molenbruch $\geq 0,4$) eine Monolage des Diepoxids abgeschieden wird (siehe Abbildung 3.12).

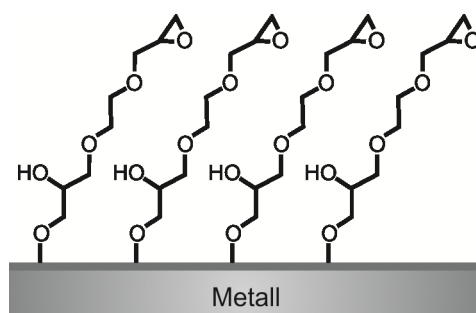


Abbildung 3.12: EGDGE-Monolage an einer oxidischen Oberfläche. Die Darstellung legt nahe, dass die bei der Ringöffnungsreaktion entstehende Hydroxyl-Gruppe sterisch zu abgeschildert ist, um ein weiteres Monomer anzulagern.

Die Copolymerisation von Glycidol mit einem Diepoxid führt also nicht zu einer erhöhten Stabilität der PG-Schicht, da unter den beschriebenen Beschichtungsbedingungen die Dicke der copolymerisierten Schichten in jedem Mischungsverhältnis deutlich zu niedrig ist, um die Adsorption von Biomolekülen zu verhindern (siehe Kapitel 3.2.2). Zudem findet keine Quervernetzung zwischen den einzelnen Polymersträngen statt.

Da die Copolymerisation nicht zum gewünschten Erfolg führt, wurde ein alternativer Ansatz zur Erhöhung der Schichtstabilität durch die nachträgliche Quervernetzung mit EGDGE in einem zweiten Beschichtungsschritt untersucht. Dabei wurde zunächst eine 5 nm dicke Polyglycerolschicht auf einem Aluminiumsubstrat polymerisiert und anschließend mit EDGDE überzogen (siehe Abbildung 3.13).

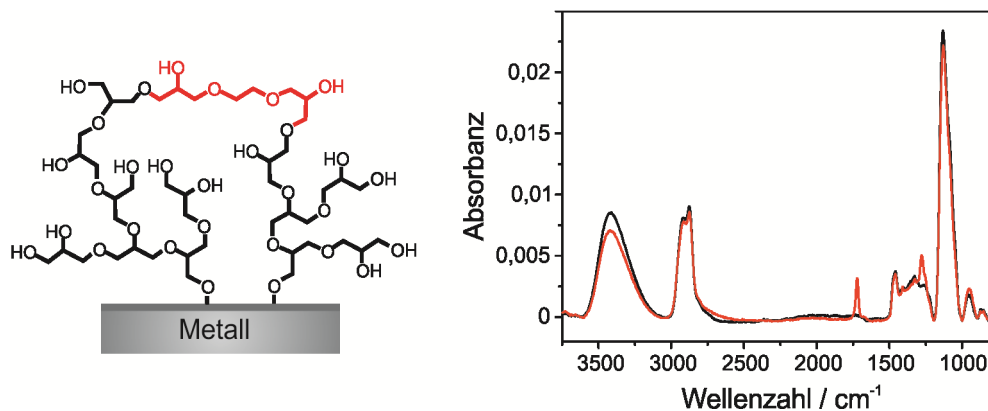


Abb. 3.13: Nachträglich mit EGDGE (rot) modifizierte Polyglycerol-Beschichtung (links). Die IR-Spektren vor (schwarz) und nach (rot) der Beschichtung mit EGDGE sind rechts abgebildet.

Die erfolgreiche Umsetzung der Polyglycerolschicht mit EGDGE kann mittels Ellipsometrie und IRRS-Spektroskopie belegt werden. Nach fünfstündiger Beschichtung in einer 10%igen EGDGE-Lösung in NMP ist die Schichtdicke um etwa 0,8 nm erhöht. Im IR-Spektrum (siehe Abbildung 3.13, rechts) sind neue

Signale bei 1250 cm^{-1} und 1750 cm^{-1} zu beobachten, die den charakteristischen Schwingungsmoden des EGDGE zugeordnet werden können. Epoxid-Schwingungen bei 950 cm^{-1} , die auf eine unvollständige Quervernetzung des Diepoxids hindeuten würden, sind nicht vorhanden.

Um zu überprüfen, ob die Umsetzung mit EGDGE zu einer höheren Stabilität der Beschichtung führt, wurden die Substrate mit UV-Strahlung bei 254 nm mit einer Dosis von 5 J/cm^2 bestrahlt. Der Abbau der mit EDGDE modifizierten Polyglycerolschicht konnte dabei ebenfalls mittels IRRA-Spektroskopie verfolgt werden (siehe Abbildung 3.14 rechts).

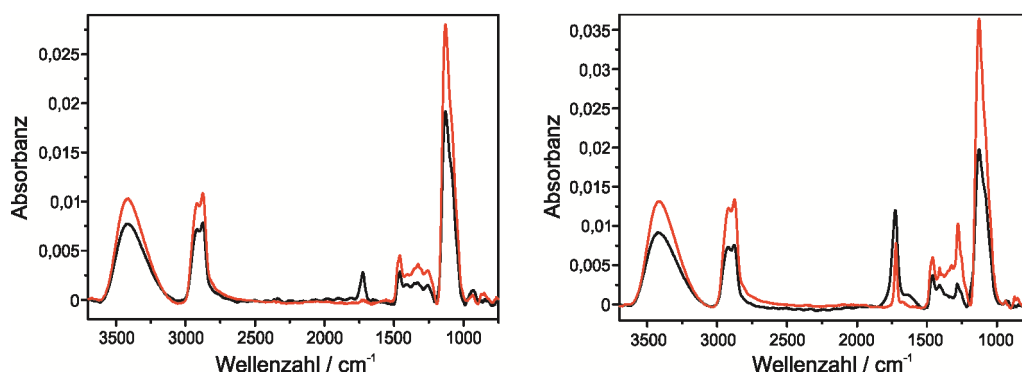


Abb. 3.14: IRRA-Spektren des UV-induzierten Abbaus mit 254 nm bei 5 J/cm^2 (schwarz) einer reinen Polyglycerolschicht (links) und einer mit EGDGE postmodifizierten PG-Schicht (rechts): Die Zersetzung der Beschichtungen sind durch die deutliche Abnahme der Signalintensität der C-O-C-Schwingung bei 1100 cm^{-1} erkennbar. Die Schwingung bei 1750 cm^{-1} deutet auf eine Carbonyl-Spezies als Zersetzungsprodukt hin. Zum Vergleich sind die IRRA-Spektren der unbelichteten Substrate rot dargestellt.

Die Auswertung der IRRA-Spektren ergab keine erhöhte Stabilität der mit EGDGE quervernetzten Polymerschichten. Analog zu den mit reinem Polyglycerol beschichteten Substraten (siehe Abbildung 3.14 rechts) ist die Zersetzung der Polymerschicht deutlich durch die Abnahme der C-O-C-Signalintensität bei 1100 cm^{-1} zu beobachten. Der Abbau dieses Signals scheint bei den modifizierten Substraten sogar noch deutlicher ausgeprägt zu sein. Die

Carbonylspezies als Zersetzungsprodukt kann in beiden Beschichtungen durch die Signale bei 1750 cm^{-1} nachgewiesen werden. Die Modifizierung der Polyglycerolschichten mit EGDGE ist daher nicht geeignet, um die Stabilität der Schicht gegenüber UV-Strahlung zu erhöhen.

Eine erhöhte Stabilität von Polyglycerolschichten durch die Copolymerisation oder Modifikation mit quervernetzenden Diepoxiden konnte im Rahmen dieses Projektabschnitts nicht beobachtet werden. In Copolymerisations-Experimenten konnten keine stabilen biorepulsiven Schichten erzeugt werden. Die Beimischung des Diepoxides verhindert die Ausbildung einer ausreichend dicken Polymerschicht. Eine erhöhte Stabilität durch die nachträgliche Modifikation von Polyglycerolschichten mit diesen quervernetzenden Molekülen konnte ebenfalls nicht nachgewiesen werden. Zukünftige Versuchsreihen sollten daher die Anwendbarkeit anderer quervernetzender Moleküle untersuchen.

3.2.4 Lithographie an Polyglycerolschichten

Mittels Elektronen- oder UV-Strahlen können hochaufgelöste geometrische Strukturen oder Gradienten auf biorepulsiven Oberflächen erzeugt werden. Für Polyethylenglycol-modifizierte Goldoberflächen sind derartige Strukturierungsmethoden bereits etabliert,^[129] aber auch andere Beschichtungen auf verschiedenen Materialien können durch geeignete lithographische Verfahren strukturiert werden.^[186]

Polyglycerol-basierte Beschichtungen haben ein hohes Potential als Basis für lithographische Anwendungen. Die Strukturierung der Oberfläche kann nicht nur durch die Wahl einer geeigneten Dosis, sondern auch durch die präzise Einstellung der Schichtdicke des Polyglycerolfilms erfolgen. Um zu untersuchen,

ob die Strukturierung von Polyglycerol mittels Elektronenstrahlen möglich ist, sollten Strukturen mit unterschiedlichen Dosen als Gradienten auf den Oberflächen erzeugt werden. Als Testmuster wurden dazu sechs Gradientenbahnen verwendet, bei denen die Dosis von 0-6 mC/cm² variiert wurde (siehe Abbildung 3.15, links).

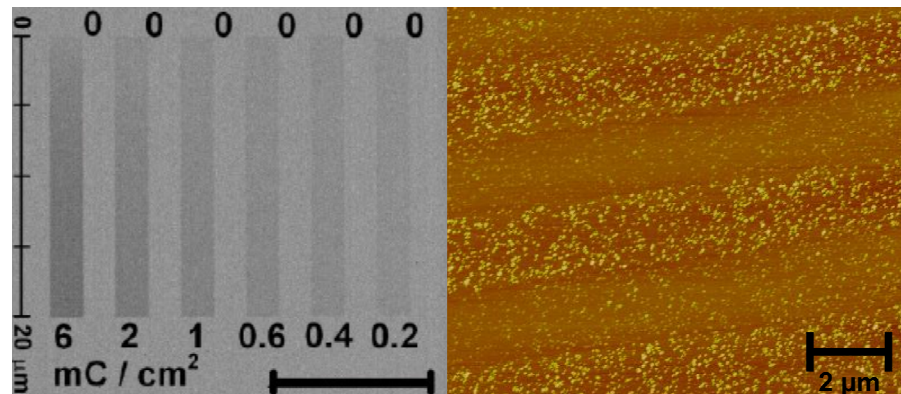


Abb. 3.15: REM-Aufnahme des Gradientenmusters, welches zur Strukturierung der Oberfläche mittels Elektronenstrahlen verwendet wurde (links). AFM-Aufnahme einer 10 nm dicken Polyglycerolschicht auf Aluminium nach der Strukturierung (rechts). Es ist deutlich zu erkennen, dass die Bestrahlung mit Elektronen zu einer glatteren Oberfläche führt.

Der Erfolg der Strukturierung der Oberfläche konnte auch mittels Rasterkraftmikroskopie nachgewiesen werden (siehe Abbildung 3.15 rechts). Die einzelnen Bahnen können eindeutig auf der Oberfläche identifiziert werden. Dabei ist deutlich eine erhöhte Rauheit der nicht bestrahlten Areale zu sehen. Auch die durch die schrittweise erhöhte Dosis erzeugten Gradienten sind im Ansatz erkennbar.

Das Konzept der lithographischen Strukturierung der Oberfläche mittels Elektronenstrahlen konnte erfolgreich auf Polyglycerolschichten angewendet werden. Zukünftige Versuchsreihen sollten die optimale Dosierung der Elektronenstrahlen in Abhängigkeit von der Dicke der Polyglycerol-

Beschichtung ermitteln, um die Anlagerung von Proteinen präzise vorhersagen zu können.

3.2.5 Modifizierung von Polyglycerolschichten

Neben dem Einsatz von strahlungsbasierten Verfahren können auch chemische Verfahren zur Anbindung verwendet werden, um spezifische Erkennungsstellen in eine Polyglycerol-Matrix einzubetten. Um derartige Bindungsstellen an die freien Hydroxyl-Gruppen der Polyglycerolschicht anzubinden, ist eine Vielzahl von Synthesestrategien denkbar. Eine dieser Strategien ist die Anbindung von sensorisch aktiven Molekülen über Veresterungsreaktionen. Entsprechende Moleküle zur Modifizierung müssen über eine Carbonsäurefunktion als potentielle Ankergruppe verfügen. Viele sensorisch aktive Moleküle, wie beispielsweise Biotin, tragen bereits Carbonsäuregruppen. Andere Erkennungsstellen können jedoch über etablierte Syntheserouten mit derartigen Funktionalitäten ausgestattet werden.

In diesem Projektabschnitt wurde untersucht, ob die Anbindung von verschiedenen sensorisch aktiven Molekülen an Polyglycerolschichten möglich ist, ohne dass die Biorepulsivität der PG-Schicht oder die Aktivität des Erkennungsmoleküls verloren geht. Dazu wurde zunächst Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) als Testmolekül verwendet. Die Anbindung von EDTA an die PG-Schicht würde die Ausbildung von Metall-Komplexen zur Detektion von Biomolekülen mit Polyhistidin-Einheiten ermöglichen (siehe Abbildung 3.16).

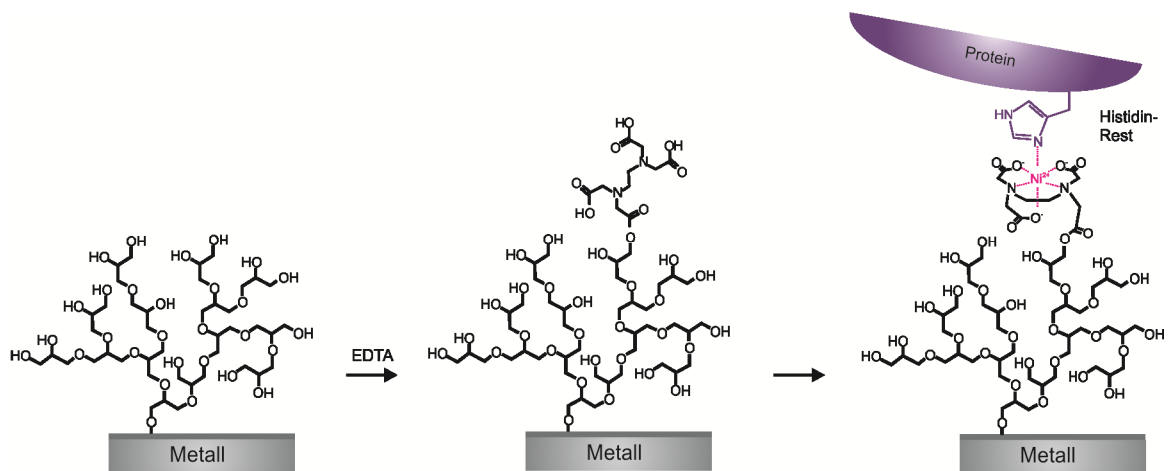


Abb. 3.16: Anbindung von EDTA an eine mit Polyglycerol modifizierte Aluminiumoberfläche. Die EDTA-terminierten Schichten können zur Detektion von Biomolekülen mit Polyhistidin-Einheiten genutzt werden, da es zur Ausbildung eines Nickel(II)-Komplexes kommt.

Für eine effektivere Anbindungsreaktion wurde eine Säuregruppe des EDTA zunächst in ein Säurechlorid überführt, um sie für die Reaktion mit den Hydroxyl-Gruppen der Polyglycerolschicht zu aktivieren. Die erfolgreiche Anbindung von EDTA konnte mittels Ellipsometrie belegt werden. Die Dicke der oberflächengebundenen Schicht steigt nach der Beschichtung mit EDTA um circa 0,7 nm an (siehe Abbildung 3.17)

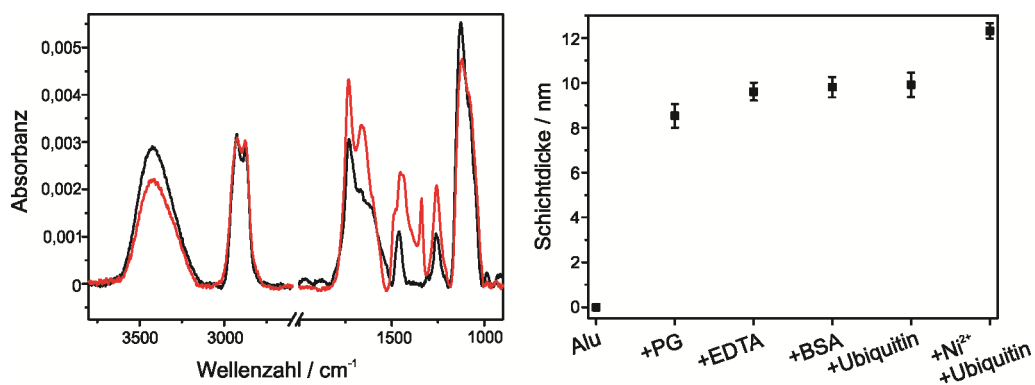


Abb. 3.17: IRRA-Spektren von Polyglycerolschichten vor (schwarz) und nach der Modifizierung mit EDTA (rot) (links). Die Entwicklung der Schichtdicke des Systems nach den einzelnen Beschichtungsschritten und Adsorptionstests ist rechts dargestellt.

Die IR-Spektren belegen die Anbindung von EDTA an die Polyglycerolschicht. Die Schwingungsbanden des EDTA bei 1724, 1648, 1420, 1262 und 1108 cm^{-1} sind nach der Modifizierung ebenso deutlich zu erkennen wie die Ester-Streckschwingung bei 1335 cm^{-1} . Dies ist ein erster Hinweis darauf, dass die Funktionalität des EDTA bei der Anbindung nicht verloren gegangen ist. Die ausgeprägten Hydroxid-Schwingungsbanden bei 3500 cm^{-1} sind auch nach der Modifizierung mit EDTA noch deutlich erkennbar. Diese Banden, die für die Anwesenheit eines Hydrogels auf der Oberfläche sprechen, sind ein Hinweis darauf, dass die biorepulsiven Eigenschaften der PG-Beschichtung weiterhin vorhanden sind.

Um die Repulsivität gegenüber unspezifischer Adhäsion zu messen, wurden die beschichteten Oberflächen dabei zunächst mit Albumin inkubiert. Anschließend wurden Adsorptionstests mit Ubiquitin, einem natürlich vorkommenden Protein, das mit einer Polyhistidin-Einheit modifiziert wurde, durchgeführt (siehe Abbildung 3.17). Die Adsorptionstests belegen die biorepulsive Funktionalität der modifizierten Polyglycerol-Beschichtung. Die spezifische Anbindung von Proteinen mit Polyhistidin-Einheit kann mittels Ellipsometrie belegt werden. Die Messungen zeigen auch, dass die Anbindung nur stattfinden kann, wenn Nickel(II)-Ionen als Zentralion anwesend sind.

Das Konzept der Modifizierung von Polyglycerol mit EDTA kann auch auf andere, sensorisch aktive Moleküle übertragen werden. In ersten Testreihen konnte auch Biotin erfolgreich an Polyglycerolschichten angebunden werden (siehe Abbildung 3.18).

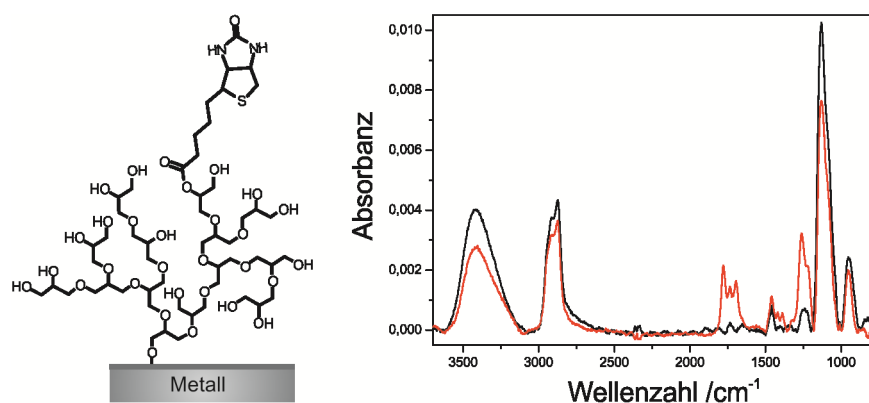


Abb. 3.18: Schematische Darstellung einer mit Biotin modifizierten Polyglycerolschicht (rechts). IRRA-Spektren von Polyglycerolschichten vor (schwarz) und nach der Modifizierung mit Biotin (rot) (links).

IR-Spektroskopische Messungen von Biotin-modifizierten Polyglycerolschichten zeigen zusätzliche Signale bei 1780, 1734, 1697, 1385, 1258 und 1221 cm^{-1} , die den Schwingungsmoden des Biotins zugeordnet werden können. Alle charakteristischen Banden des Polyglycerols sind auch nach der Modifizierung noch vorhanden, die biorepulsiven Eigenschaften der Schicht werden demnach durch die Biotin-Anbindung nicht beeinträchtigt.

Die spezifische Anbindung sensorisch aktiver Moleküle an Polyglycerolschichten konnte in diesem Teilprojekt erreicht werden. Es wurde nachgewiesen, dass die Bindungsstelle nach der Anbindung an die Oberfläche ihre Aktivität behält. Weiterführende Analysen dieser Beschichtungen sollten ebenso Bestandteil zukünftiger Forschung sein wie die Entwicklung neuer spezifischer Erkennungsmoleküle zur Anbindung an Polyglyceroloberflächen.

Artikel: Bacteria-Repulsive Polyglycerol Surfaces by Grafting Polymerization onto Aminopropylated Surfaces

Autoren: Theresa Weber, Yasmin Gies und Andreas Terfort

Institut für anorganische und analytische Chemie, Universität Frankfurt.

Erschienen in: Langmuir (ACS publications), 2012, 28, 15916–15921.

doi: 10.1021/la303541h

Artikel: Direct grafting of anti-fouling polyglycerol layers to steel and other technically relevant materials

Autoren: Theresa Weber,^a Maren Bechthold,^a Tobias Winkler,^b John Dauselt^a und Andreas Terfort^a

a) Institut für anorganische und analytische Chemie, Universität Frankfurt

b) Institut für anorganische und angewandte Chemie, Universität Hamburg

Erschienen in: Colloids and Surfaces B: Biointerfaces (Elsevier), 2013, 111, 360–366.

doi: 10.1016/j.colsurfb.2013.05.026

3.3 Stabilität von Oligoethylenglycol-Monolagen gegenüber UV-Strahlung zur gezielten Verwendung in der Lithographie

Eine der Herausforderungen der modernen Nanotechnologie ist die Entwicklung effizienter und flexibler Methoden zur Herstellung von geordneten, komplexen Proteinstrukturen. Derartige Strukturen sind von großem Interesse in der Mikrobiologie und der Medizintechnik. Sie finden Anwendung in der Untersuchung von Struktur und Funktion von Proteinen, pharmazeutischen Screening-Experimenten, der Untersuchung von Zellen und der medizinischen Diagnostik. Eine proteinabweisende Hintergrund-Matrix, welche die spezifisch proteinbindenden Bereiche umgibt, ist ein wichtiges Element derartiger Proteinstrukturen.^[187-193] Diese Matrix besteht häufig aus Oligo- oder Polyethylenglycol-Bausteinen, die als Polymer oder als SAM vorliegen und in der Regel nachträglich zwischen den proteinadsorbierenden Strukturen aufgebracht werden. Bei diesem Prozess, dem sogenannten *backfilling*, werden Masken oder Stempel verwendet, um lateral strukturierte Oberflächen zu erzeugen.^[194,195]

Eine Alternative zur *backfilling*-Strategie ist die Modifizierung einer zunächst vollständig geschlossenen Schicht aus biorepulsiven Oligoethylenglycol-Bausteinen mittels Elektronenstrahlen (siehe Kapitel 2.6.1). Durch die Bestrahlung mit Elektronen werden die Matrixmoleküle abgebaut, indem die OEG-Einheiten sowie die Bindungen der Thiolate zu der Goldoberfläche gespalten werden. Die bestrahlten Areale verlieren dabei ihre biorepulsiven Eigenschaften, weshalb sie zur unspezifischen Proteinanlagerung verwendet werden können. Auch die nachträgliche Einbringung geeigneter Erkennungsstellen ist möglich und gestattet zudem die spezifische Anlagerung von Proteinen. Mit Hilfe von Elektronenstrahlen können geometrische

Strukturen mit einer lateralen Auflösung von unter einem Mikrometer erzeugt werden (siehe Kapitel 2.6.2).

Die Strukturierung von biorepulsiven Oberflächen mittels Elektronenstrahl-Lithographie (*electron beam lithography*, EBL) bietet enorme Vorteile gegenüber dem klassischen *backfilling*-Ansatz, da die laterale Auflösung der Oberflächenstrukturen deutlich höher ist. Das System ist zudem deutlich toleranter gegenüber molekularen Funktionalitäten, wodurch viele verschiedene Moleküle und Substrate eingesetzt werden können. Da der benötigte Elektronenstrahl jedoch ausschließlich im Hochvakuum betrieben werden kann, ist diese Lithographietechnik deutlich aufwändiger als der *backfilling*-Prozess.

Der Einsatz von UV-basierten Lithographietechniken stellt daher eine Alternative zur Elektronenstrahl-Lithographie dar. Auch kurzwellige UV-Strahlung führt zur Spaltung der Etherbindung zwischen den einzelnen EG-Bausteinen.^[131] Sogar die Oxidation der Gold-Schwefel-Bindungen eines thiolat-basierten SAMs kann durch UV-Bestrahlung ermöglicht werden. Besonders vorteilhaft ist hier der geringe apparative Aufwand, da die Strukturierung unter Standardbedingungen erfolgen kann.

3.3.1 Lithographie von Oligoethylenglycol-Monolagen mit langwelliger UV-Strahlung

Im ersten Projektabschnitt wurde getestet, ob auch langwellige UV-Strahlung zur Strukturierung von OEG-haltigen Beschichtungen verwendet werden kann. Für die Fokussierung von UV-Strahlung mit Wellenlängen unter 365 nm sind spezielle Optiken aus Quarz nötig, da nur diese eine ausreichende Transparenz für UV-Strahlung besitzen. Strahlung mit Wellenlängen oberhalb von 365 nm kann dagegen durch Glaslinsen fokussiert werden, die kommerziell erhältlich und weit verbreitet sind.

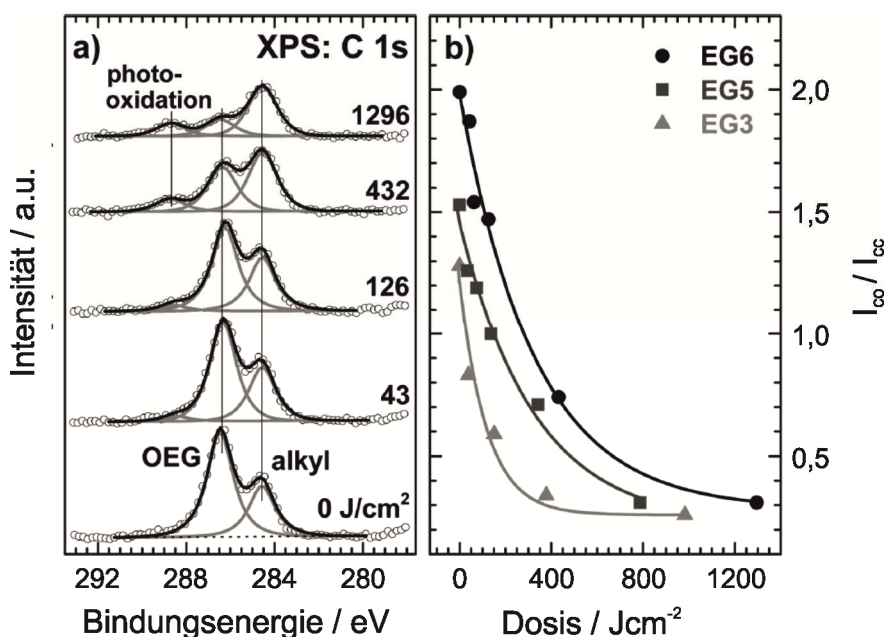


Abb. 3.20: XPS-C 1s-Signal von EG₆OH-Monolagen, die unterschiedlich stark mit UV-Licht von 390 nm Wellenlänge bestrahlt wurden (a). Die Schädigung der Monolagen, die einer Reaktion erster Ordnung entspricht, kann durch die Auswertung der Intensität der Alkyl- und OEG-Signale quantifiziert werden (b).^[196]

Das C 1s-Spektrum einer nicht mit UV-Licht bestrahlten EG₆OH-Monolage zeigt zwei charakteristische Signale bei Bindungsenergien von 284,6 und 286,4 eV, die den Alkyl(C-C)- und den OEG(C-O)-Einheiten der Monolage zugeordnet werden können (siehe Abbildung 3.20 a).^[131,197,198] Nach der Bestrahlung mit UV-Licht kann der Abbau einzelner Bindungen in den OEG-Einheiten verfolgt werden. Die entstehenden OEG-Fragmente desorbieren nach ihrer Abspaltung und sind nicht länger auf der Substratoberfläche nachweisbar. Die Intensität des Kohlenstoffsignals der C-O-Bindungen der Monolage verringert sich mit zunehmender UV-Dosis deutlich stärker als die Intensität des C-C-Signals, was auf einen bevorzugten Abbau der OEG-Einheit im Vergleich zu der Alkyleinheit des SAMs hindeutet. Mit zunehmender Strahlungsdosis können im C 1s-Spektrum auch C=O-Signale mit einer Emissionsbande von circa 289 eV nachgewiesen werden, welche die Anwesenheit von Carbonyl-Gruppen als Oxidationsprodukte belegen (siehe Abbildung 3.20 a).^[197,198] Zur Quantifizierung des Schichtabbaus durch

langwellige UV-Strahlung wurden die Intensitäten der Alkyl (C-C)-Signale und die der OEG (C-O)-Signale ermittelt (siehe Abbildung 3.20 b). Das Verhältnis dieser Signale nimmt für alle drei OEG-Monolagen mit zunehmender Bestrahlung-Dosis exponentiell ab, was der Kinetik einer Reaktion erster Ordnung entspricht.

Mit Hilfe der Signalverhältnisse und der berechneten exponentiellen Kurvenparameter kann der Wirkungsquerschnitt σ des UV-basierten Abbauprozesses bestimmt werden. Der Wirkungsquerschnitt ist ein Maß für die Wahrscheinlichkeit, dass die einfallende UV-Strahlung eine Abbaureaktion bei den Molekülen der Monolage auslöst. Die Berechnung erfolgt unter Verwendung der Formel^[199,200]

$$I = I_{sat} + (I_0 - I_{sat}) \cdot e^{-\sigma\Phi_{UV}} \quad (3.1)$$

in der I das Verhältnis der Signalintensitäten in Abhängigkeit von der UV-Dosis pro Fläche (Φ_{UV} , angegeben in J/cm²), I_0 das Signalverhältnis vor der Bestrahlung und I_{sat} das Signalverhältnis bei maximal stark belichteten Monolagen darstellt. Die Wirkungsquerschnitte der unterschiedlichen Monolagen sind in Tabelle 3.3 zusammengestellt.

Tabelle 3.3: Wirkungsquerschnitte σ des UV-basierten Abbaus der OEG-Kette bei 390 nm. Die Werte sind in 10⁻²¹ cm²/Photon angegeben.^[196]

	EG ₆ OH	EG ₅ OH	EG ₃ OH
OEG-Abbau	1,6 ± 0,7	2,1 ± 1,0	4,3 ± 2,0

Der Wirkungsquerschnitt des OEG-Abbaus sinkt, je länger die OEG-Kette ist. Ein derartiges Verhalten konnte schon beim UV-Abbau mit kurzwelligem UV-Licht beobachtet werden.^[131] Dies deutet darauf hin, dass die Effizienz des UV-

induzierten Abbaus höher ist, wenn kurz-kettige OEG-Monolagen bestrahlt werden.

Mittels XPS konnte ebenfalls gezeigt werden, dass die Energie der UV-Strahlung bei 390 nm ausreicht, um die Gold-Schwefel-Bindung zu spalten. Die Photooxidation der Thiolat-Ankergruppe erfolgt zeitgleich mit der Zersetzung der OEG-Einheiten, was anhand des S 2p-Signals untersucht werden kann (siehe Abbildung 3.21).

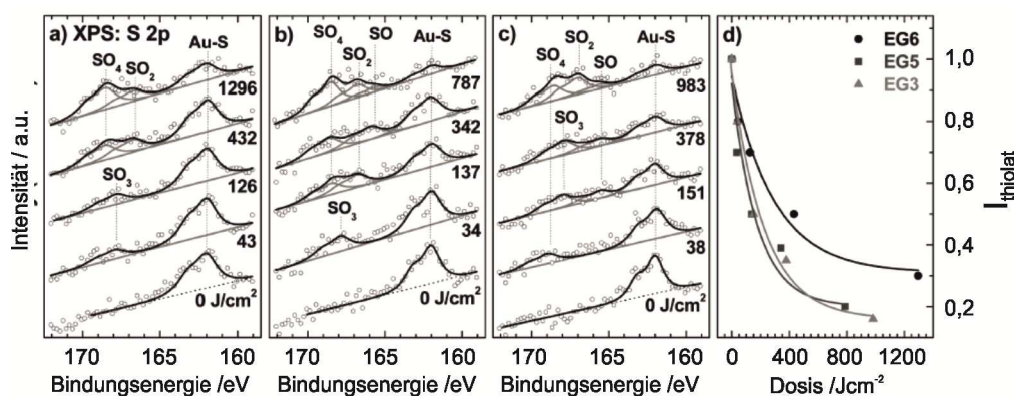


Abb. 3.21: S 2p-Signal von bestrahlten EG₆OH-(a), EG₅OH-(b), EG₃OH-(c) Monolagen. Der Abbau des Au-S-Signals bei 162 eV ist ein Maß für die Schädigung der Monolage (d).^[196]

Die Lage der S 2p_{3/2}, 2p_{1/2}-Doublets im Spektrum der unbestrahlten Monolagen bei etwa 162,0 eV belegt die Existenz einer intakten Thiolat-Gold-Bindung in einem hoch geordneten SAM.^[200,201] Für alle drei Moleküle wurde gezeigt, dass das Signal der Thiolat-Spezies mit zunehmender Bestrahlung kleiner wird und mehrere neue Doublets auftreten, deren Intensitäten mit zunehmender Bestrahlung steigen. Diese Doublets können oxidierten Schwefelspezies zugeordnet werden.^[202,203] Anhand der Signal-Integrale der Thiolat-Spezies kann auch hier ein exponentieller Trend für den Abbau der OEG-SAMs festgestellt und durch Auswertung des Trends der Wirkungsquerschnitte der Thiolsplaltung berechnet werden (siehe Tabelle 3.4).

Tabelle 3.4: Wirkungsquerschnitte des UV-basierten Abbaus der Thiolatbindung bei 390 nm. Die Werte sind in 10^{-21} cm²/Photon angegeben.^[196]

	EG ₆ OH	EG ₅ OH	EG ₃ OH
Thiolatspaltung	1,3 ± 1,0	4,1 ± 2,0	3,9 ± 2,6

Wie bei der Thiolatspaltung wurde der niedrigste Wirkungsquerschnitt bei langkettigen EG₆OH-Monolagen gemessen. Für kürzere OEG-Ketten ist der Wirkungsquerschnitt deutlich höher, allerdings unterscheiden sich EG₅OH und EG₃OH nicht signifikant.

Der Wirkungsquerschnitt für die Zersetzung der OEG-Ketten mittels langwelliger UV-Strahlung reicht aus, um Strukturen zur Anbindung von Proteinen zu erzeugen. Um die optimalen Bedingungen für die Oberflächenstrukturierung zu ermitteln, wurde der Einfluss der Strahlungsdosis auf die Adsorption von Proteinen untersucht. Dabei wurde zunächst Albumin verwendet, um die unspezifische Adsorption zu ermitteln. Die Menge des adsorbierten Proteins kann dabei anhand des charakteristischen N 1s-Signals im XP-Spektrum bestimmt werden (siehe Abbildung 3.22 links). Für alle untersuchten OEG-SAMs konnte eine Grenzdosis ermittelt werden, oberhalb der eine unspezifische Adsorption erfolgt. Diese Erkenntnisse wurden zur Strukturierung der Oberfläche verwendet (siehe Abbildung 3.22 rechts).

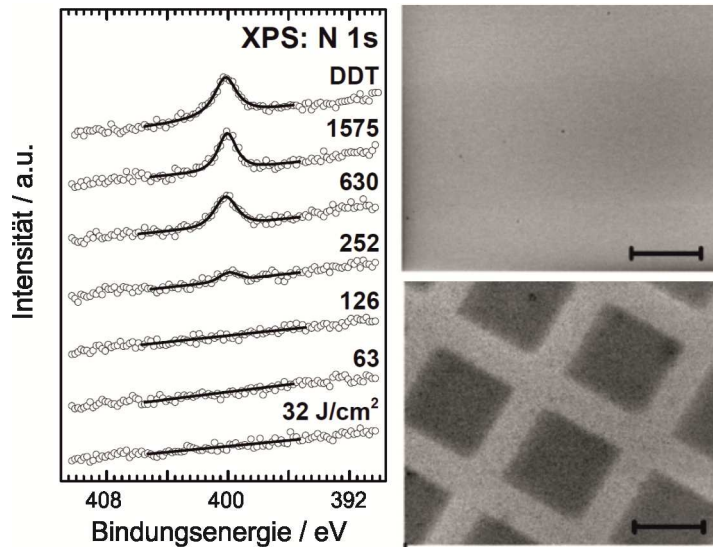


Abb. 3.22: N 1s-Signale in den XP-Spektren von EG₆OH-SAMs, die mit unterschiedlichen Dosen UV-Licht bestrahlt und anschließend in Albumin-Lösung inkubiert wurden. Ein Dodecanthiol-SAM (DDT) wurde als Referenz verwendet (links). Die EG₆OH-SAMs wurden zunächst durch eine Maske UV-belichtet und anschließend in Proteinlösung inkubiert. Bei Überschreitung der Grenzdosis ist die Strukturierung erkennbar (rechts, unten). Unterhalb der Grenzdosis (rechts, oben) findet keine Proteinadsorption statt. Größenskala 40 µm.^[196]

Auch die spezifische Adsorption von Proteinen wurde im Rahmen dieses Projektabschnitts getestet. Dazu wurden Austauschexperimente mit den bestrahlten Proben durchgeführt. Sensorisch aktive Moleküle ersetzen dabei die defekten Bausteine des SAMs und es entsteht erneut eine hochgeordnete Monolage. Als Testsystem wurden SAM-Bausteine mit Biotin-Terminierung gewählt (siehe Abbildung 3.19 d). Diese ersetzen die durch Strahlung geschädigten OEG-Bausteine im SAM und ermöglichen die gezielte Anbindung von Avidin an die Substratoberfläche (siehe Abbildung 3.23).

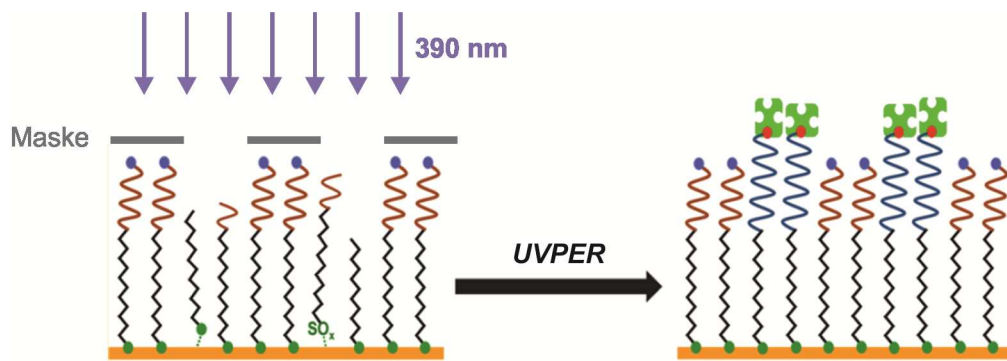


Abb. 3.23: Schematische Darstellung der Austauschreaktion (UV-promoted exchange reaction, UVPER) für die Herstellung spezifischer Adsorptionsmuster.^[196]

Die Anbindung von Avidin an bestrahlte Monolagen nach der Austauschreaktion kann bei XPS-Messungen ebenfalls über die N 1s-Signale verfolgt werden (siehe Abbildung 3.24 links). Bei diesen Experimenten zeigte sich, dass die Bestrahlungsdosis deutlich geringer gewählt werden kann als bei den entsprechenden unspezifischen Strukturierungen. Die Austauschreaktionen scheinen demnach grundsätzlich auch bei deutlich weniger geschädigten Monolagen möglich zu sein.

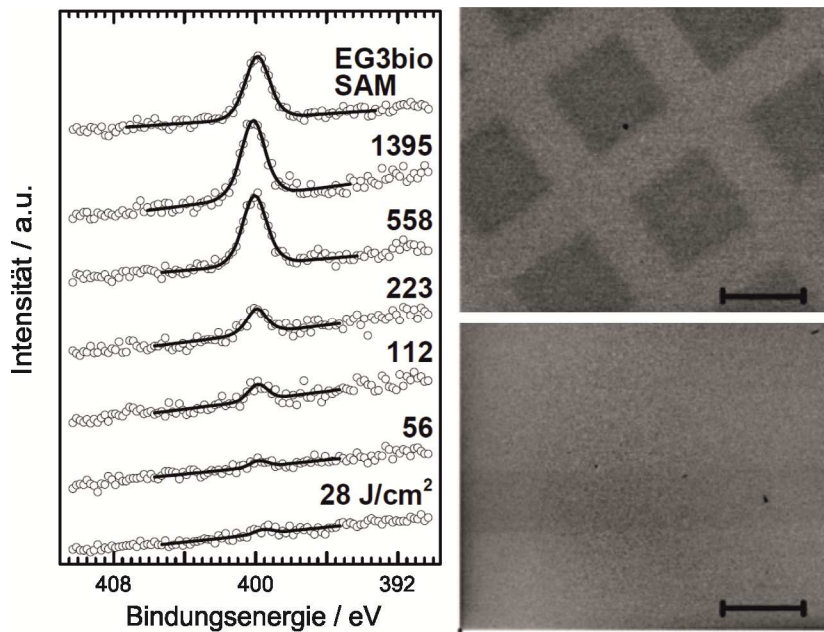


Abb. 3.24: N 1s-Signal nach der Austauschreaktion der bestrahlten EG₆OH-SAMs mit einem Biotin-terminierten SAM-Baustein und anschließender Avidin-Inkubation. Als Referenz ist ein vollständig Biotin-terminierter SAM gezeigt (links). Strukturierung der EG₆OH- (rechts, oben) und EG₃OH- SAMs (rechts, unten) durch eine Maske und spezifische Adsorption von Avidin nach der Austauschreaktion mit Biotin-terminierten OEG-Derivaten. Auf EG₃OH-Monolagen sind keine Proteinstrukturen erkennbar, da die Oligoethylenglycol-Ketten zu kurz sind, um ausreichend stabil gegen Austauschreaktionen zu sein. Größenbalken: 40 μm .^[196]

Bei der Strukturierung der EG₆OH-Monolagen zeigten sich deutlich die proteinbedeckten (Abbildung 3.24, dunkel) und proteinfreien Flächen (hell), während auf EG₃OH-Monolagen keine Proteinstrukturen erkennbar sind. Die Oligoethylenglycol-Ketten sind zu kurz, um ausreichend stabil gegen Austauschreaktionen zu sein, weshalb die Adsorption von Avidin auf der gesamten Substratfläche erfolgt.

Zusammenfassend konnte im ersten Projektabschnitt gezeigt werden, dass auch langwellige UV-Strahlung geeignet ist, um OEG-SAMs kontrolliert zu strukturieren. Dies konnte für OEG-SAMs mit drei verschiedenen Kettenlängen gezeigt werden. Die Etherbindung der Ethylenglycol-Einheiten wird dabei vorrangig geschädigt. Es kommt zu Oxidations- und Abspaltungsreaktionen, die

die Biorepulsivität des SAMs zerstören. Zusätzlich treten Photooxidations-Reaktionen an der Thiolat-Ankergruppe auf, welche die Ablösung des gesamten SAM-Bausteins zur Folge haben. Die unspezifische Adsorption von Proteinen erfolgt, wenn ausreichend Ethylenglycol-Einheiten abgebaut sind. Hier kann für jede OEG-Monolage eine Grenzdosis ermittelt werden, unterhalb derer kein adsorbiertes Protein detektiert werden kann. Bereits unterhalb dieser Grenzdosis können jedoch Austauschmoleküle eingeführt werden, die die spezifische Proteinanbindung ermöglichen.

Die gewonnenen Ergebnisse bestätigen die Annahme, dass die Herstellung von spezifischen Proteinstrukturen durch UV-Strahlung mit 390 nm Wellenlänge möglich ist. Mit einem geeigneten Lithographieaufbau sollten auch komplizierte geometrische Strukturen wie beispielsweise Gradienten erzeugt werden können. Die große Wellenlänge der verwendeten UV-Strahlung ermöglicht zudem die Verwendung von kommerziell erhältlichen optischen Aufbauten und LEDs.

3.3.2 Abbau von Oligoethylenglycol-Monolagen mittels UV-Strahlung unter Wasser

Im zweiten Projektabschnitt richtete sich der Fokus auf die potentielle Integration der UV-Lithographie in mikrofluidische Aufbauten. Die Strukturierung der Oberfläche und die Anlagerung von Biomolekülen könnten konsekutiv in einem apparativen Aufbau erfolgen. Auch die schrittweise Erzeugung von verschiedenen, nebeneinander angeordneten, sensorisch aktiven Feldern könnte computergesteuert erfolgen und direkt analysiert werden.

Bisher wurden OEG-terminierte SAMs mittels UV-Strahlung nur an Luft strukturiert, da die Anwesenheit von molekularem Sauerstoff als Co-Reaktand für die Oxidation der Ethylenglycol-Bausteine und der Thiol-Gruppen nötig

schien.^[204-206] Um komplexe, mehrstufige Strukturen mittels Mikrofluidik zu erzeugen, müsste die UV-Lithographie jedoch auch unter Wasser möglich sein. Der Gehalt von gelöstem Sauerstoff in Wasser liegt bei Raumtemperatur lediglich bei 8-9 mg/dm³.^[207] Daher sollte während dieses Projektabschnitts zunächst getestet werden, ob der Abbau der OEG-Kopfgruppe auch bei deutlich reduzierter Sauerstoffmenge möglich ist. Dazu wurden die beschichteten Substrate durch einen geschlossenen Wasserfilm hindurch mit UV-Strahlung bei 254 nm belichtet.

Mittels IR- und XP-Spektroskopie konnte nachgewiesen werden, dass es auch unter Wasser zu einem Abbau der OEG-Einheit kommt (siehe Abbildung 3.25).

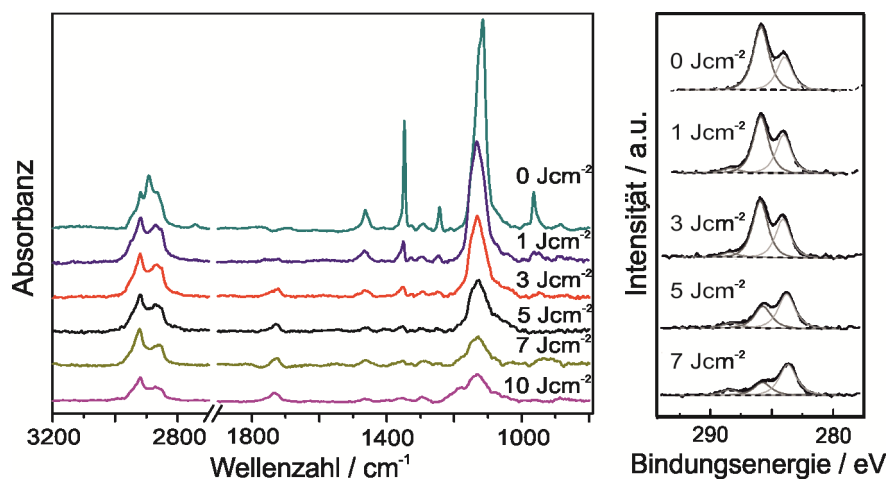


Abb.3.25: IR-Spektren von EG₆OH-Monolagen vor und nach der Belichtung mit UV-Strahlung (links). C 1s-Spektren (rechts) der belichteten Monolagen. Der Abbau der OEG-Einheiten ist deutlich erkennbar.^[208]

Die IR-Spektren zeigen die Abnahme der OEG-Schwingungsbanden bei 964, 1244, 1348, 1463 und vor allem bei 1120 cm⁻¹. Zusätzlich ist schon bei kleinen Belichtungs Dosen der deutliche Abbau der Signale bei 2892 cm⁻¹ zu sehen, die den C-H-Schwingungen der helical angeordneten OEG-Segmente zugeordnet werden kann.^[209] Das Verschwinden dieses Signals belegt, dass bereits kleine Strahlungs Dosen die Konformation der OEG-Ketten deutlich beeinflussen. Mit

zunehmender Belichtungs-dosis erscheint ein weiteres Signal bei 1730 cm^{-1} , was auf die Entstehung von Carbonyl-Spezies in der Monolage hindeutet. Auch die Intensität der Schwingungsbande bei 2919 cm^{-1} , die den symmetrischen C-H-Schwingungen der hochgeordneten Alkylketten zugeordnet werden können, verringert sich mit zunehmender Bestrahlung. Dies ist ein Hinweis darauf, dass die Gold-Schwefel-Bindung unter Wasser oxidiert und das abgelöste Molekül weggespült wird. Der Abbau der OEG-Einheiten scheint jedoch deutlich schneller abzulaufen als die Spaltung der Thiolat-Bindung. Dies bestätigen auch die gemessenen Photoelektronenspektren. Die Intensitäten der C 1s-Signale der OEG-Einheiten bei 286 eV verringern sich deutlich schneller als die der Alkylsignale bei 283 eV . Dies bestätigt, dass der Abbau der OEG-Einheiten der dominante Prozess beim UV-induzierten Abbau der OEG-Monolagen ist.

Der Abbau der OEG-Monolagen kann mittels Ellipsometrie verfolgt werden. Die gemessenen Schichtdicken nehmen mit zunehmender Bestrahlung merklich ab (siehe Abbildung 3.26). Im Vergleich zum OEG-Abbau an Luft ist der Abbau unter Wasser deutlich verlangsamt. Um den Einfluss des Sauerstoffs genauer zu untersuchen, wurden auch Belichtungsexperimente in sauerstofffreiem Wasser durchgeführt. Auch hier konnte eindeutig der Abbau der Schicht nachgewiesen werden (siehe Abbildung 3.26 links, grüne Datenpunkte). Dies zeigt, dass der UV-induzierte Schichtabbau der OEG-Monolage auch in Abwesenheit von molekularem Sauerstoff erfolgt.

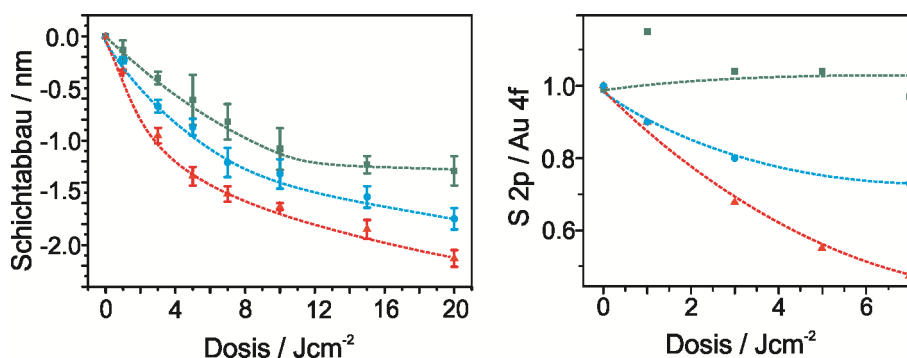


Abb. 3.26: UV-basierter Abbau der EG₆OH-Monolagen bei der Bestrahlung mit UV-Licht an Luft (rot), unter Wasser (blau) und unter sauerstofffreiem Wasser (grün). Links: Abnahme der Schichtdicke der Monolage. Rechts: Verlauf des S 2p-Signals.^[208]

Auch wenn unter allen getesteten Belichtungsbedingungen der Abbau der OEG-Monolage nachgewiesen kann, zeigen sich doch deutliche Unterschiede im Abbauverhalten. Zunächst fällt auf, dass der Abbau unter sauerstofffreiem Wasser noch langsamer als unter sauerstoffhaltigem Wasser ist und schließlich, nachdem circa 65% der Schicht abgebaut sind, stagniert. Dieses Verhalten wird durch die gemessenen XP-Spektren bestätigt. Anhand der S 2p-Signale kann belegt werden, dass die Thiolat-Menge auf der Oberfläche während der Belichtung unter sauerstofffreiem Wasser unverändert bleibt (siehe Abbildung 3.26 rechts). Daraus lässt sich schließen, dass molekularer Sauerstoff ein notwendiger Co-Reaktand für die Oxidation der Gold-Schwefel-Bindung ist. Der Abbau der OEG-Kette kann jedoch auch ohne Sauerstoff erfolgen. Die IR-Spektren zeigen, dass die OEG-Bausteine des SAMs in Abwesenheit von Sauerstoff nahezu vollständig abgebaut werden. Auf der Oberfläche verbleibt eine Schicht, deren Verhalten und spektroskopische Daten sich sehr an denen einer Undecanthiolat-Monolage (HS-(CH₂)₁₁-OH, MUD) annähern (siehe Abbildung 3.27). In Abwesenheit von molekularem Sauerstoff liegt die asymmetrische Streckschwingung der Alkylkette bei 2920 cm⁻¹, was einer hochgeordneten Monolage entspricht. Bei der Bestrahlung in Anwesenheit von molekularem Sauerstoff verschiebt sich dieses Signal deutlich in Richtung

höherer Wellenzahlen, was auf eine erhöhte Unordnung des Systems hindeutet (siehe Abbildung 3.27). Zusätzlich erscheint eine Carbonyl-Schwingungsbande bei 1720 cm^{-1} , die bei der Bestrahlung in Abwesenheit von Sauerstoff nicht zu sehen ist.

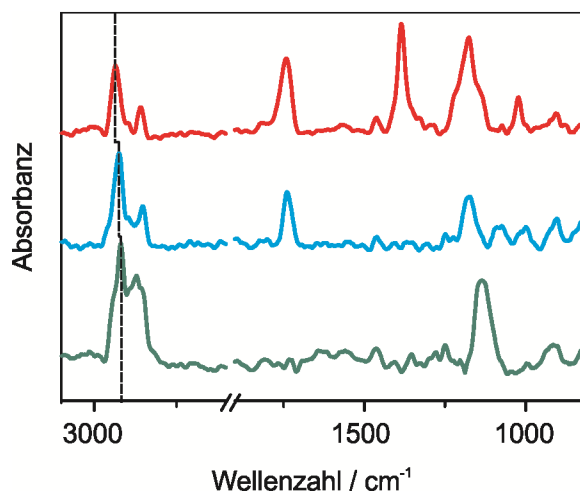


Abb. 3.27: IR-Spektren von OEG-Monolagen nach der Bestrahlung mit UV-Licht (20 Jcm^{-2}) an Luft (rot), unter Wasser (blau) und unter sauerstofffreiem Wasser (grün). Die Verschiebung der C-H-Schwingungen bei 2900 cm^{-1} ist deutlich erkennbar.^[208]

Neben den Messungen mittels IR- und XP-Spektroskopie-Experimenten unterstützen auch Proteinadsorptions-Experimente diese Erkenntnis. Albumin adsorbiert ähnlich effektiv an die unter Wasser bestrahlten Substrate wie an die an Luft belichteten Substrate. Es findet keine Proteinadsorption statt, bis eine Grenzdosis überschritten ist, danach zeigt sich ein exponentieller Anstieg der Proteinmenge auf der Oberfläche. Die Bestrahlungsdosis muss bei der Belichtung unter Wasser etwas höher sein, um die Adsorption von Proteinen zu ermöglichen (siehe Abbildung 3.28 links). Dies liegt vermutlich am verzögerten Abbauverhalten unter Wasser durch die geringe Sauerstoff-Menge. Bei ausreichend hoher Strahlungsdosis zeigt die nun vollständig zerstörte Schicht ein ähnliches Adsorptionsverhalten wie ein unbeschichtetes Goldsubstrat (siehe Abbildung 3.28).

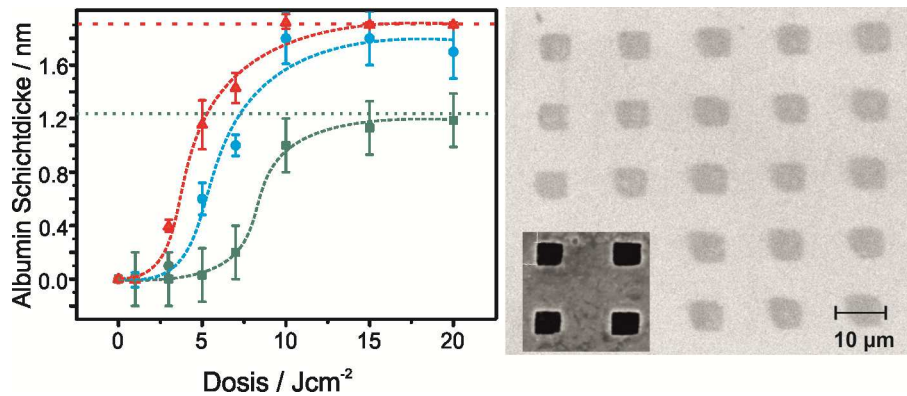


Abb. 3.28: Links: Anlagerung von Albumin an OEG-Monolagen nach der Belichtung an Luft (rot), unter Wasser (blau) und unter sauerstofffreiem Wasser (grün). In Gegenwart von Sauerstoff nähert sich das Adsorptionsverhalten auf den belichteten Monolagen dem Adsorptionsverhalten auf unbeschichtetem Gold (rote horizontale Linie). In Abwesenheit von Sauerstoff ist der Grenzwert für hohe Dosen identisch mit den Adsorptionswerten von Albumin auf Mercaptoundecanol (grüne horizontale Linie). Rechts: elektronenmikroskopische Aufnahmen einer unter sauerstofffreiem Wasser strukturierten Monolage nach der Inkubation mit Albumin. Der Bildeinschub zeigt eine Aufnahme der zur Strukturierung verwendeten Maske.^[208]

Dies ist bei den in Abwesenheit von Sauerstoff belichteten OEG-Monolagen nicht der Fall. Auch bei sehr hohen Strahlungsdosen ist die Menge an adsorbiertem Protein auf der verbleibenden Monolage deutlich geringer als auf unbeschichtetem Gold. Stattdessen wird eine Proteinmenge erreicht, wie sie auf Mercaptoundecanol-SAMs nachgewiesen werden kann (siehe Abbildung 3.28 links). Die laterale Strukturierung der Oberfläche kann dennoch auch unter sauerstofffreiem Wasser erfolgen, sofern die Belichtungsdosis oberhalb der Grenzdosis liegt. Nach der Belichtung durch eine Maske und der Inkubation in Albumin-Lösung kann die erzeugte Struktur mittels Rasterelektronen-Mikroskopie nachgewiesen werden (siehe Abbildung 3.28 rechts).

Die photochemisch induzierte Modifizierung von OEG-terminierten Monolagen unter Wasser ermöglicht die direkte Einstellung der Schichteigenschaften, vor allem der Biorepulsivität. Die Beobachtung, dass die An- bzw. Abwesenheit von molekularem Sauerstoff zu zwei unterschiedlichen Abbaumechanismen führt,

kann für die Feinabstimmung der Oberflächenbeschaffenheit genutzt werden (siehe Abbildung 3.29).

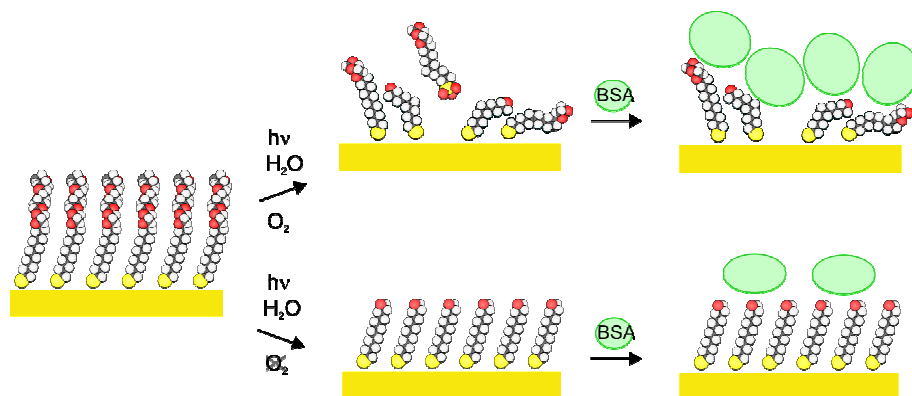


Abb. 3.29: Mechanismus des UV-induzierten Abbaus unter Wasser. Während der Abbau der OEG-Einheiten auch ohne Sauerstoff stattfindet, ist die Oxidation der Thiolat-Gruppe nur in Anwesenheit von Sauerstoff möglich. Der gelöste Sauerstoff beeinflusst so den Schichtabbau und damit auch die Anlagerung von Proteinen.^[208]

Ein Beispiel dafür, wie die Oberflächenbeschaffenheit durch die verschiedenen Abbaumechanismen gezielt geändert werden kann, ist die *UV promoted exchange reaction* (UVPER). Für dieses Verfahren (siehe Kapitel 3.3.1) ist die Spaltung der Thiolat-Gold-Bindung von großem Vorteil, da so ein effektiver Austausch stattfinden kann. UVPER-Experimente unter sauerstoffhaltigem Wasser zeigen, dass die Bestrahlung der OEG-Monolagen und der anschließende Austausch der defekten Moleküle durch ein Mannose-terminiertes Molekül möglich sind. Dazu werden die Monolagen durch eine Maske mit 25 μm großen Öffnungen mit 3 Jcm^{-2} belichtet. Bei der anschließenden Inkubation des Substrats in einer Lösung mit Mannose-haltigen SAM-Bausteinen für 30 Minuten (0,1 mM in DMF, siehe Abbildung 3.30) werden die defekten Moleküle ersetzt.

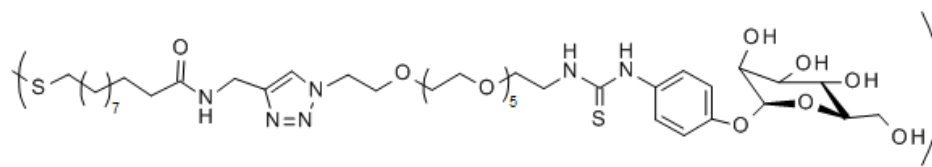


Abbildung 3.30: Für die Austauschreaktion verwendetes OEG-Mannose Derivat (Bis- $\{N$ -[20-(p -(α -D-mannopyranosyloxy)-phenylthiourea-hexaethylenglycolyl]-1H-[1,2,3]-triazol-4-yl-methyl] $\}$ -11,11'-disulphandiyl-diundecansäurediamid).

Durch die anschließende Inkubation in fluoreszenzmarkiertem Concanavalin A, einem Protein, das spezifische Wechselwirkungen mit Mannose-Derivaten eingeht, kann die Strukturierung der Monolage unter dem Fluoreszenz-Mikroskop sichtbar gemacht werden (siehe Abbildung 3.31).

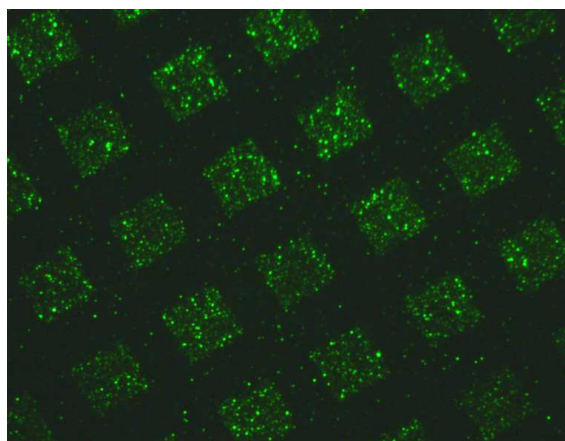


Abb. 3.31: Fluoreszenz-mikroskopische Aufnahme einer OEG-Monolage auf Gold, welche durch ein $25\ \mu\text{m}$ Netz mit $3\ \text{Jcm}^{-2}$ belichtet wurde. Die durch die Belichtung beschädigten Moleküle wurden durch OEG-Mannose-Derivate ersetzt, welche als spezifische Bindungsstelle für Fluoreszenz-markiertes Concanavalin A dienen.

Die in Abbildung 3.31 gezeigte Aufnahme belegt, dass auch unter Wasser spezifische Bindungsstellen mittels *UVPER* in einen OEG-SAM eingebettet werden können. Unter sauerstofffreiem Wasser konnten bei vergleichbaren Bestrahlungsdosen jedoch keine Strukturen erzeugt werden. Dies ist ein Hinweis darauf, dass der Austausch der bestrahlten Moleküle bedeutend besser funktioniert, wenn auch die Thiolat-Gold-Bindung gespalten wird.

Artikel: Application of Long Wavelength Ultraviolet Radiation for Modification and Patterning of Protein-Repelling Monolayers

Autoren: Y. L. Jeyachandran,^a Theresa Weber,^b Andreas Terfort^b und Michael Zharnikov^a

- a) Angewandte physikalische Chemie, Universität Heidelberg
- b) Institut für anorganische und analytische Chemie, Universität Frankfurt

Erschienen in: Journal of Physical Chemistry C (ACS publications), 2013, 117, 5824-5830.

doi: 10.1021/jp400028

Artikel: UV-mediated tuning of surface biorepulsivity in aqueous environment

Autoren: Theresa Weber,^a Nikolaus Meyerbröker,^{a,b} Nuruzzaman Khan Hira,^b Michael Zharnikov^b und Andreas Terfort^a

- a) Institut für anorganische und analytische Chemie, Universität Frankfurt
- b) Angewandte physikalische Chemie, Universität Heidelberg

Erschienen in: Chemical Communications (RSC publications), 2014, 50, 4325-4327.

doi: 10.1039/c4cc00982g

3.4 Orientierungsabhängigkeit von Kohlenhydrat-Liganden für die Adhäsion von Bakterien an Oberflächen

Ein wichtiger Mechanismus für die Adhäsion von Bakterien an die Zelloberflächen ihrer Wirtszellen ist die spezifische Bindung zu den an der Wirtsoberfläche befindlichen Kohlenhydraten.^[210] Um diese Kohlenhydrate zu erkennen, besitzen Bakterien spezielle adhäsive Organellen, so genannte Fimbrien, welche in vielen hundert Kopien an der Zelloberfläche der Bakterien exprimiert werden.^[211] Die Anbindung erfolgt dabei über Proteine des Lektin-Typs, die an den Fimbrien exponiert werden.^[212]

Vor allem virulente Bakterien besitzen sogenannte Typ-1-Fimbrien. Diese Fimbrien besitzen ein Lektin namens FimH, das α -D-Mannose-spezifische Bindungen eingeht.^[210,213,214] Die Anbindung dieses Proteins an den Kohlenhydrat-Liganden ist, wie bei allen Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen, abhängig von dessen Konstitution und Konfiguration. Bakterien binden jedoch auch an die Glycocalyx, eine komplexe Glykokonjugat-Schicht, die die Zellen umgibt und keine offensichtliche supramolekulare Struktur oder Faltung besitzt. Der Mechanismus dieser Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkung in einer derart ungeordneten Umgebung ist bis heute nicht vollständig aufgeklärt.

Für die detaillierte Erforschung der Kohlenhydrat-Spezifität von Lektinen eignen sich synthetische glycolysierte Oberflächen, so genannte *Glycoarrays*.^[215-219] Für die Untersuchung der Konfigurationsabhängigkeit der Lektin-Bindung wurden Glycoarrays entwickelt, welche die Kontrolle der Orientierung von oberflächengebundenen Kohlenhydrat-Liganden ermöglichen.^[220] Dazu wurden OEG-Alkanthiole hergestellt, die eine Kopfgruppe mit einer Azobenzol-Mannose-Einheit tragen. Azobenzol-Derivate sind bekannt für ihre

hervorragenden photochromen Eigenschaften, welche eine reversible Photoisomerisierung der azobenzolischen-N=N-Doppelbindung im biologischen Kontext erlauben (siehe Abbildung 3.32).^[221-223]

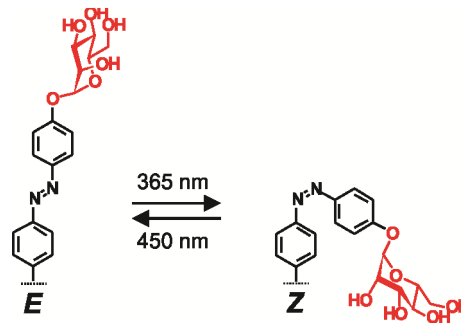


Abb. 3.32: Reversibel schaltbare Azobenzol-Mannose-Einheit. Die Photoisomerisierung der azobenzolischen-N=N-Doppelbindung kann bei 365 nm (in *Z*-Stellung) und 450 nm (in *E*-Stellung) erfolgen.

Die spezifische Konfigurationsänderung durch die *E/Z*-Isomerisierung wurde bereits verwendet, um die Form von Bindungsstellen für die *on/off*-Schaltung in biologischen Systemen zu justieren.^[224-227] Wenn ein azobenzolhaltiges Molekül an eine Oberfläche gebunden ist, verändert sich bei der Isomerisierung die Orientierung der exponierten Phenyl-Ringe und von allem, was daran gebunden ist.^[228]

In diesem Projektabschnitt sollte gezeigt werden, dass eine derartige unterschiedliche Orientierung des Liganden in einer inerten Umgebung die Zellerkennung verändern kann, ohne den Liganden selbst zu ändern. Dafür wurde die Konfiguration von α -D-Mannosyl-Einheiten, deren Orientierung durch oberflächengebundenen Azobenzol vorgegeben ist, variiert und die spezifische Adhäsion von *E. coli* mit Typ-1-Fimbrien untersucht.

In früheren Studien konnte bereits gezeigt werden, dass sich Azobenzol-Mannose-Derivate als gute Liganden für das Typ-1-Lektin FimH eignen.^[229,230] Im

Rahmen dieses Projektabschnitts wurden Computersimulationen des Docking-Experiments durchgeführt, die belegen, dass die *E*- und *Z*-Form des mit α -D-Mannose modifizierten Azobenzol-Derivats gleich gut von FimH erkannt werden. Bereits veröffentlichte experimentelle Studien, die zeigen, dass beide Isomere der Azobenzol-Mannose in Lösung die gleiche Fähigkeit zur Unterdrückung der *E.coli*-Adhäsion an Mannan-beschichtete Oberflächen haben, unterstützen diese Berechnungen.^[229] Die FimH-vermittelte Bakterienadhäsion an eine Azobenzol-Mannose-Monolage stellt demnach ein ideales System zur Untersuchung des Effekts der Reorientierung von oberflächengebundenen Kohlenhydrat-Liganden dar. Für die Herstellung eines derartigen Glyco-SAMs wurde ein Azobenzol-Mannose-Derivat synthetisiert, welches aus einer Thiolat-Ankergruppe für die Anbindung an die Goldoberfläche und einer Alkylkette für die Ausbildung einer hochgeordneten Monolage besteht.^[231] Zusätzlich enthält das Molekül eine Oligoethylenglycol-Kette für die Unterdrückung der unspezifischen Zelladhäsion, eine photoschaltbare Azobenzol-Gruppe und einen α -D-Mannose Liganden (siehe Abbildung 3.33, Mitte).

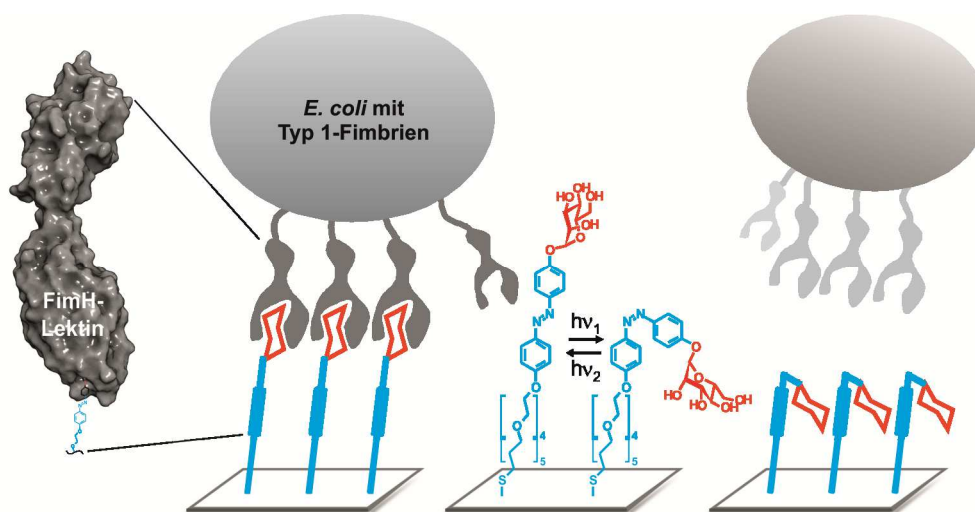


Abb. 3.33: Adhäsion eines *E. coli*-Bakteriums mit Typ-1-Fimbrien, vermittelt durch das Fimbrien-Protein FimH. Für die Kontrolle der Orientierung werden die Liganden in Form eines azobenzolhaltigen SAMs auf einer Oberfläche angebunden. Ein OEG-Baustein erzeugt eine hydrophile Umgebung und unterdrückt die unspezifische Zelladhäsion. Die reversible *E/Z*-Photoisomerisierung erfolgte mittels Licht zweier verschiedener Wellenlängen. Das Größenverhältnis des FimH-Lektins und des SAM-Bausteins ist links maßstabsgetreu dargestellt.^[232]

Es konnten dichtgepackte Filme des Azobenzol-Mannose-Derivats aus ethanolischer Lösung auf Goldoberflächen erzeugt werden, wie Ellipsometrie und Oberflächen-IR-Spektroskopie zeigen. Ellipsometrische Messungen ergaben eine Schichtdicke von 3,91 nm. Basierend auf der Länge des Moleküls (4,7 nm) kann somit ein Kippwinkel von 16° angenommen werden. Im IRRA-Spektrum (siehe Abbildung 3.34) entspricht das Signal bei 2919 cm⁻¹ (asymmetrische CH₂-Schwingung) einer hochgeordneten Alkylkette in *all-trans*-Konformation.^[233,234] Das Signal bei 1350 cm⁻¹ (*wagging mode*) kann der *gauche*-Konformation um die -CH₂CH₂-Bindung in der Ethylenglycol-Kette zugeordnet werden und ist typisch für Konformationen mit bioresistenten Eigenschaften.^[209]

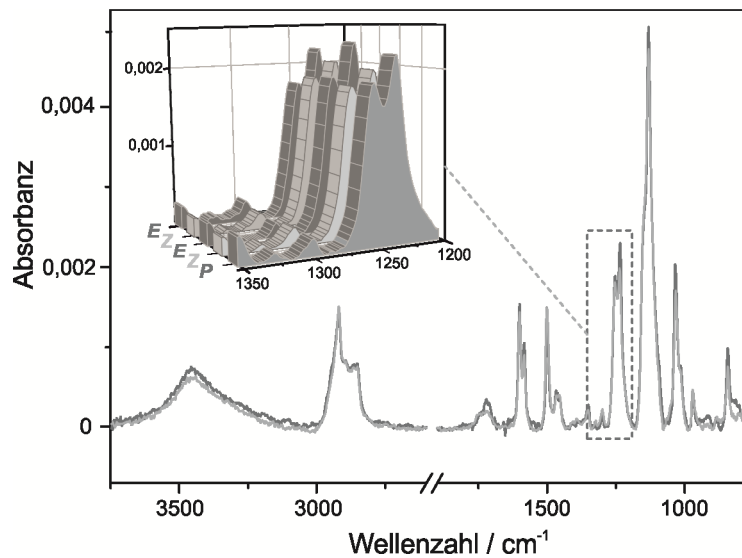


Abb. 3.34: IRRA-Spektren der Glyco-SAMs auf Gold. Während der Schaltungen variieren die Intensitäten vieler IR-Signale. Besonders deutlich zeigt sich dies am Signal bei ca. 1240 cm^{-1} (siehe Bildeinschub). *P* – unbestrahlter SAM, *Z* – SAM nach Bestrahlung mit 365 nm Licht (2 J cm^{-2}), *E* – SAM nach der Bestrahlung bei 450 nm (Dosis: 100 J cm^{-2}).^[232]

Die Intensität von Schwingungsbanden in IRRA-Spektren hängt stark von der Orientierung der oberflächengebundenen Moleküle ab.^[235] Dieser Effekt kann genutzt werden, um die reversible Photoschaltung der Orientierung des Glycomoleküls zu verfolgen.^[220] Die Intensitätsänderung verschiedener Signale im IRRA Spektrum (siehe Abbildung 3.34) belegt die *E*→*Z* Isomerisierung bei der Bestrahlung mit UV-Licht (365 nm , 2 J/cm^2). Besonders deutlich zeigt sich dies am Signal bei 1240 cm^{-1} , das der Aryl-(O-Mannosyl)-Schwingung und somit auch der Orientierung des Liganden zugeordnet werden kann (siehe Bildeinschub in Abbildung 3.34). Bei der erneuten Bestrahlung der Monolagen mit Licht bei 450 nm (100 J/cm^2) wandelt sich das IR-Spektrum zurück und die Signale erreichen ihre ursprüngliche Intensität. Diese Bestrahlungszyklen können mehrfach wiederholt werden, ohne dass das System geschädigt wird.

Der Einfluss der Orientierungsänderung des photoschaltbaren Glyco-SAMs auf die Zelladhäsion wurde in einer Bakterienadhäsions-Testreihe ermittelt (siehe Abbildung 3.35). Dafür wurde ein *E. coli* Stamm mit Typ-1-Fimbrien, welcher

zusätzlich grün fluoreszierendes Protein (GFP) exprimiert (Stamm pPKL1162),^[236] verwendet. Die Inkubationszeit der Testsubstrate wurde auf 30 Minuten begrenzt, um sekundäre Erkennungsmechanismen (z. B. *pinhole etching*) zu minimieren. Bei diesen Experimenten zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen den *E*- und *Z*-konfigurierten Glyco-SAMs.

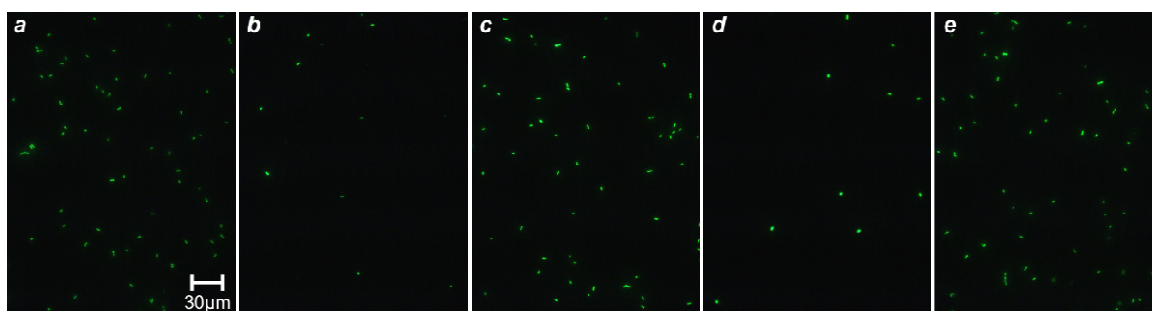


Abb. 3.35: Adhäsion von *E. coli* vor (a), nach *E*→*Z* (b) und nach *Z*→*E* (c) Isomerisierung. Zusätzlich ist ein zweiter Isomerisierungs-Zyklus abgebildet (d und e).^[232]

Die durch die Kohlenhydratliganden vermittelte Adhäsion der *E. coli* ist etwa 13mal höher (etwa 100000 Zellen/cm²) als die Adhäsion auf unbeschichteten Goldsubstraten, da es hier lediglich zu unspezifischer Adhäsion kommt.^[231] Wird der Glyco-SAM mit Licht bei 365 nm bestrahlt, so verringert sich die Adhäsivität der *E. coli* um den Faktor 5 (etwa 18000 Zellen/cm², siehe Abbildung 3.35). Es ist ein deutlicher Zusammenhang zwischen der Orientierung der immobilisierten α -D-Mannose-Liganden und den Adhäsionseigenschaften der entsprechenden Oberfläche zu sehen. Die Adhäsion der *E. coli* an beide Isomere korreliert zusätzlich mit der Intensität der IR-Schwingung bei 1240 cm⁻¹ (siehe Abbildung 3.36).

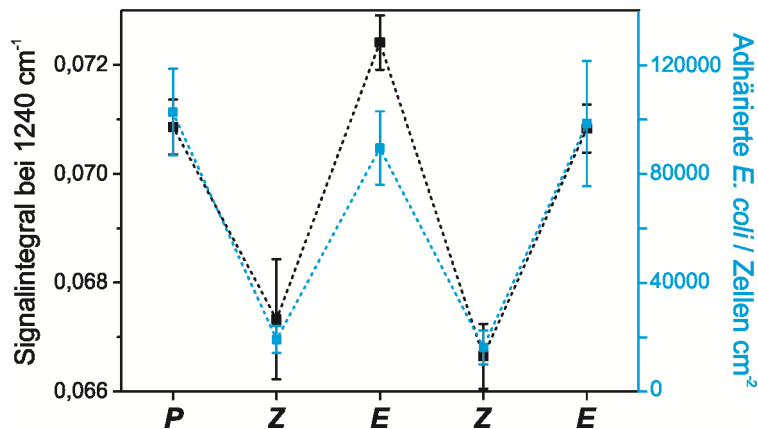


Abb. 3.36: Bakterienadhäsion an einen Glyco-SAM auf Gold während zwei $E \rightarrow Z \rightarrow E$ -Isomerisierungs-Zyklen (P bezeichnet das unbestrahlte E-Isomer). Die alternierende Anzahl der adhärirten *E. coli*-Zellen ist grau dargestellt und gemeinsam mit dem Integral des IR-Signals bei 1240 cm^{-1} (schwarz; siehe Abbildung 3.32) abgebildet. Für beide Messgrößen wird der gleiche alternierende Trend sichtbar. Dies weist darauf hin, dass die Stärke der Bakterienadhäsion mittels Orientierungsänderung der Kohlenhydrat-Liganden geschaltet werden kann.^[232]

Da sich die Konfiguration der Azobenzol-Gruppe nicht auf die Bindungsaffinität des FimH-Lektins zur α -D-Mannose auswirkt, können die in Abbildung 3.36 dargestellten Ergebnisse als erster Nachweis für die Orientierungsabhängigkeit eines Liganden in biologischen Systemen angeführt werden.

Die Verwendung eines Mannose-terminierten Azobenzol-SAMs als Testsystem ermöglicht die Reorganisation der Bindungsstellen durch einen externen Stimulus (Licht) und erlaubt so den Vergleich zwischen Erkennung und Bindung in verschiedenen Stadien. Derartige Testsysteme ähneln den Prozessen an der Oberfläche einer Glycocalyx, da angenommen werden muss, dass auch hier Reorganisationsschritte für die Kohlenhydrat-Erkennung erforderlich sind.

Artikel: Switching of bacterial adhesion to a glycosylated surface by reversible reorientation of the carbohydrate ligand

Autoren: Theresa Weber,^a Vijayanand Chandrasekaran,^b Insa Stamer,^b Mikkil B. Thygesen,^c Andreas Terfort^a und Thisbe K. Lindhorst^b

- a) Institut für anorganische und analytische Chemie, Universität Frankfurt
- b) Otto Diels Institut für Organische Chemie, Universität Kiel
- c) CARB Centre, Department of Chemistry, University of Copenhagen

Erschienen in: Angewandte Chemie International Edition (Wiley VCH), 2014, 53, 14583-14586.

doi: 10.1002/anie.201410966

Schaltung bakterieller Adhäsion auf glycosylierten Oberflächen durch reversible Reorientierung der Kohlenhydratliganden

Erschienen in: Angewandte Chemie (Wiley VCH), 2014, 126, 14812-14815.

doi: 10.1002/ange.201410966

4 Zusammenfassung

In dieser Arbeit werden Projekte beschrieben, in denen das Adsorptionsverhalten von Proteinen und Bakterien an verschiedene Materialoberflächen manipuliert wird. Im Fokus stehen sowohl biorepulsive als auch biospezifische Beschichtungen sowie deren Kombinationsmöglichkeiten.

Durch die Reaktion verschiedener oxidischer Oberflächen mit Glycidol konnten biorepulsive Polyglycerolschichten erzeugt werden. Für die Herstellung dieser Polyglycerolschichten wurden zwei unterschiedliche Verfahren entwickelt und untersucht. Das erste Verfahren beinhaltete die Verwendung eines aminoterminierten Haftvermittlers zur Initiierung der Glycidol-Polymerisation, während im zweiten Verfahren die direkte Polymerisation von Glycidol an die oxidierende Oberfläche untersucht wurde.

Die erste Methode beruht auf der Bildung einer aminoterminierten Monolage auf Siliciumoberflächen, an der in einem zweiten Schritt die Polymerisation von Glycidol durchgeführt wird. Die Beschichtungsbedingungen für diese Monolage und die Bedingungen für die Glycidol-Polymerisation wurden im Hinblick auf die biorepulsiven Eigenschaften optimiert. Die Dicke der angebundenen Polyglycerolschicht ist abhängig von der Beschichtungsdauer, wobei die dicksten Schichten bis zu 98% der Bakterienadhäsion unterdrücken können (siehe Abbildung 4.1).

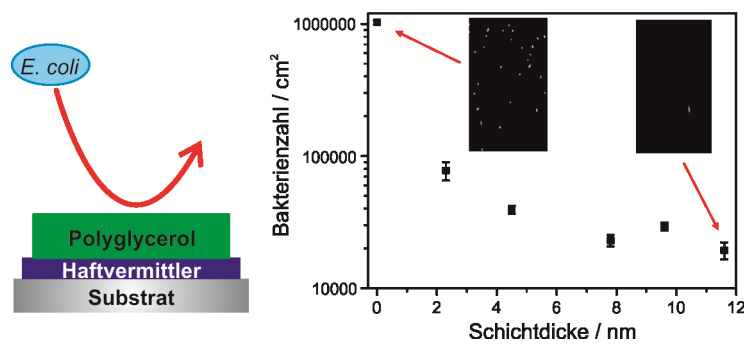


Abb. 4.1: Schematische Darstellung einer biorepulsiven Polyglycerolschicht, die über einen Haftvermittler an eine Oberfläche angebunden wurde (links). Die Dicke der Polyglycerolschicht ist maßgeblich für deren Biorepulsivität (rechts).^[79]

Das zweite Verfahren ist die direkte Anbindung von stabilen Polyglycerol-Beschichtungen an Silicium-, Aluminium- oder Stahloberflächen. Die Polymerisation erfolgt an der Oxidschicht der Materialien und verzichtet somit auf die Verwendung eines Haftvermittlers. Die Beschichtungsdauer ist entscheidend für die Dicke der abgeschiedenen Polyglycerolschicht. Je größer die abgeschiedene Polyglycerolmenge ist, desto höher ist die Biorepulsivität der Schicht, was durch Adsorptionstests mit Proteinen und Bakterien ermittelt wurde. Die Schichtdicke, bei der eine vollständige Unterdrückung der Proteinadhäsion nachgewiesen werden konnte, ist jedoch nicht ausreichend, um auch die Adsorption von Bakterien vollständig zu unterdrücken. Die Resistenz einer Oberfläche gegenüber der Adsorption von Mikroorganismen kann demnach nicht allein aufgrund von Proteinresistenz-Messungen vorhergesagt werden.

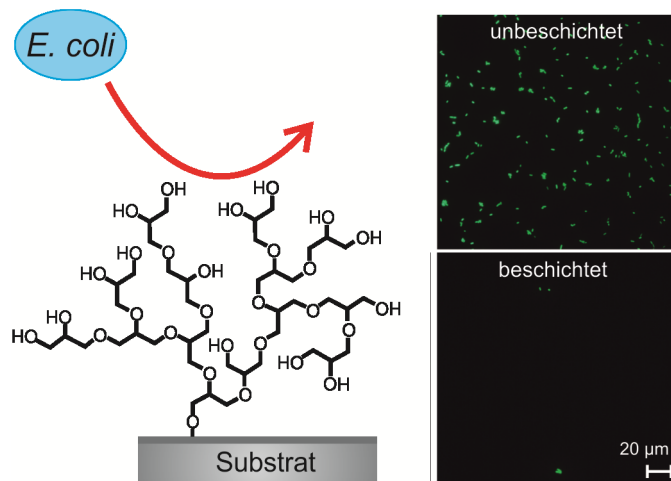


Abb. 4.2: Schematische Darstellung einer mit Polyglycerol beschichteten Oberfläche (links). Lichtmikroskopische Aufnahmen von *E. coli* auf unbeschichteten und beschichteten Substraten belegen die biorepulsive Wirkung des Polyglycerols (rechts).^[58]

Direkt an der Oberfläche polymerisierte Polyglycerolschichten eignen sich besonders gut für die nachträgliche Modifizierung. So konnten beispielsweise mittels Elektronenstrahlen laterale Strukturierungen der Polyglycerol-beschichteten Oberflächen zur unspezifischen Proteinanlagerung erfolgreich durchgeführt werden. Aufgrund ihrer freien Hydroxyl-Gruppen eignen sich Polyglycerolschichten zur nachträglichen chemischen Modifizierung. Sensorisch aktive Moleküle wie Ethylendiamintetraessigsäure oder Biotin konnten im Rahmen dieser Arbeit erfolgreich an Polyglycerolschichten angebunden werden. Die Aktivität der Bindungsstellen nach der Anbindung an die Oberfläche konnte dabei durch spezifische Erkennungsereignisse nachgewiesen werden.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurden selbstanordnende Monoschichten mit Oligoethylenglycol (OEG)-Kopfgruppen und Thiolat-Ankergruppen verwendet, um lateral strukturierbare, biorepulsive Schichten auf Gold zu erzeugen. Es wurde untersucht, ob derartige OEG-Monolagen kontrolliert durch langwelliges UV-Licht (390 nm) abgebaut werden können, um proteinbindende und proteinrepulsive Bereiche auf einer Substratoberfläche zu generieren. Die

Bestrahlung mit UV-Licht bewirkte die Oxidation und Abspaltung der Ethylenglycol-Einheiten. Die unspezifische Adsorption von Proteinen kann erfolgen, wenn ausreichend Ethylenglycol-Einheiten abgebaut sind. Zusätzlich konnten Photooxidations-Reaktionen an der Thiolat-Ankergruppe nachgewiesen werden, welche die Ablösung des gesamten SAM-Bausteins zur Folge haben. Durch einen geeigneten Versuchsaufbau konnten geometrische Proteinstrukturen zwischen biorepulsiven Bereichen auf der Oberfläche erzeugt und nachgewiesen werden (siehe Abbildung 4.3).

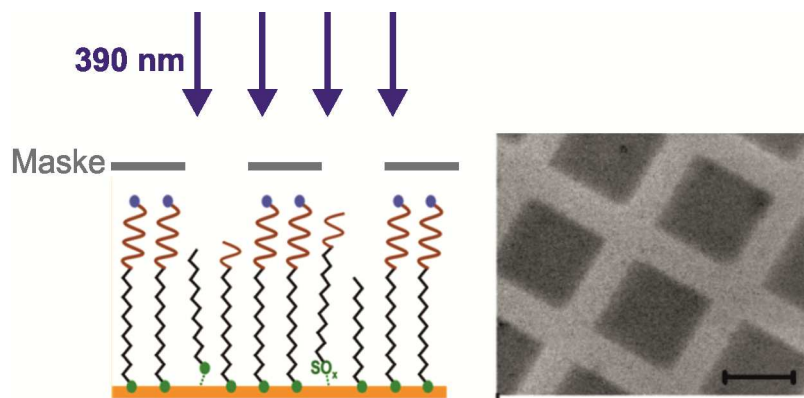


Abb. 4.3: Bestrahlung einer OEG-Monolage mit UV-Licht durch eine Maske zur Herstellung lateraler strukturierter Oberflächen (links). Elektronenmikroskopische Aufnahme der strukturierten Oberfläche nach der Anlagerung von Protein-Molekülen (rechts).^[196]

Für den Einsatz von Lithographie-Techniken in mikrofluidischen Anlagen wurde das Abbauverhalten der biorepulsiven Monolage bei der Bestrahlung unter Wasser untersucht. Dazu wurden OEG-Monolagen durch einen geschlossenen Wasserfilm mit UV-Strahlen belichtet. Auch unter Wasser kommt es zu einem Abbau der Ethylenglycol-Einheiten und der Thiolat-Bindung. Die Belichtung in sauerstofffreiem Wasser zeigte, dass die Spaltung der Thiolat-Bindung nicht ohne Sauerstoff als Co-Reaktand möglich ist. In Abwesenheit von molekularem Sauerstoff kommt es lediglich zur Spaltung der Etherbindung zwischen den Ethylenglycol-Einheiten (siehe Abbildung 4.4). Die Beobachtung, dass die An- bzw. Abwesenheit von molekularem Sauerstoff zu zwei unterschiedlichen

Abbaumechanismen führt, kann für die Feinabstimmung der Oberflächenbeschaffenheit und somit der Proteinanlagerung genutzt werden.

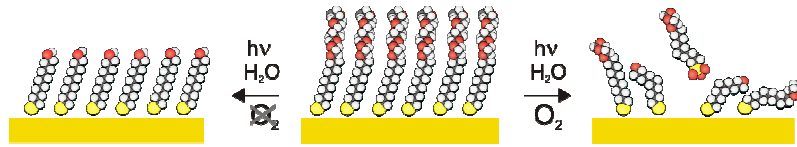


Abb. 4.4: Abbau einer OEG-Monolage bei der Bestrahlung mit UV-Licht durch einen sauerstoffhaltigen (rechts) und einen sauerstofffreien Wasserfilm (links).^[208]

Biorepulsive OEG-Monolagen können auch dazu verwendet werden, um gezielt bestimmte Biomoleküle anzulagern. Dazu können die Monolagen mit Erkennungsstellen ausgestattet werden, welche die spezifische Anbindung einer Biomolekül-Spezies ermöglichen. Gerade bei der Detektion von großen Biomolekülen oder Mikroorganismen spielt jedoch nicht nur die chemische Zusammensetzung, sondern auch die Ausrichtung der Bindungsstelle eine entscheidende Rolle. Der Einfluss der Bindungsorientierung wurde im Rahmen dieser Arbeit ermittelt. Dazu wurde die Anbindung von *E. coli*-Bakterien, die über Mannose-spezifische Erkennungs-Proteine (Lektine) verfügen, an Mannose-terminierte Monolagen untersucht. Dafür wurden Moleküle verwendet, die neben einer Mannose-Einheit als Bindungsstelle auch eine Azobenzol-Gruppe tragen. Die N=N-Bindung dieser Azobenzol-Gruppe konnte durch die Bestrahlung der Monolage mit UV-Licht in das Z-Isomer überführt werden, wodurch sich die Orientierung des Phenylrings und der daran gebundenen Mannose-Kopfgruppe ändert. Bakterien-Adhäsionstests zeigten, dass sich die Orientierung der Mannose-Einheit auf die Anbindung der Bakterien auswirkt (siehe Abbildung 4.5). Die Einführung einer Azobenzol-Gruppe in das Testsystem ermöglicht die strahlungsinduzierte reversible Schaltung der Konformation und eröffnet so die Möglichkeit des Vergleichs zwischen Bindung/Erkennung in verschiedenen Stadien.

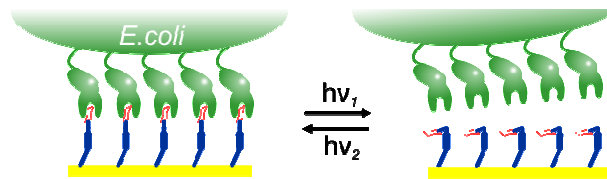


Abb. 4.5: Die Orientierung der Mannose-Bindungseinheit entscheidet darüber, ob *E. coli* Bakterien, die über Mannose-spezifische Erkennungseinheiten verfügen, an eine beschichtete Oberfläche adhäreren. Die Orientierungsänderung der Mannose-Einheiten erfolgt durch die Bestrahlung der Monolage mit Licht verschiedener Wellenlängen.^[232]

Im Rahmen dieser Arbeit wurden neuartige Methoden zur Herstellung, Charakterisierung und Strukturierung biorepulsiver und biosensorischer Schichten entwickelt. Die dadurch gewonnenen Erkenntnisse sind von bedeutender wissenschaftlicher Relevanz und ermöglichen die potentielle industrielle Anwendung der entwickelten Methoden im Kontext der Material- und Biotechnologie sowie der Nanofabrikation.

5 Literaturverzeichnis

- [1] M. O'Toole, K. T. Lau, R. Shepherd, C. Slater, D. Diamond, Determination of Phosphate using a Highly Sensitive Paired Emitter-Detector Diode Photometric Flow Detector, *Anal. Chim. Acta*, **2007**, 597, 290-294.
- [2] Z. Gao, F. Chao, Z. Chao, G. Li, Detection of staphylococcal enterotoxin C employing a piezoelectric crystal immunosensor, *Sens. Actuators B*, **2000**, 66, 193-196.
- [3] I. Willner, B. Willner, Functional nanoparticle architectures for sensoric, optoelectronic, and bioelectronic applications, *Pure Appl. Chem.* **2002**, 74, 1773-1783.
- [4] F. G. Barth, J. A. C. Humphrey, T. W. Secomb, *Sensors and Sensing in Biology and Engineering*, Springer, Wien, **2003**.
- [5] A. Ulman, Formation and Structure of Self-Assembled Monolayers, *Chem. Rev.*, **1996**, 96, 1533-1554.
- [6] J. Rickert, T. Weiss, W. Göpel, Self-assembled monolayers for chemical sensors: molecular recognition by immobilized supramolecular structure, *Sens. Actuators B*, **1996**, 31, 45-50.
- [7] C. D. Bain, G. M. Whitesides, E. B. Troughton, Y. Tao, J. Evall, R. G. Nuzzo, Formation of Monolayer Films by the Spontaneous Assembly of Organic Thiols from Solution onto Gold, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 321-335.
- [8] B. Zdyrko, I. Luzinov, Polymer Brushes by the "Grafting to" Method, *Macromol. Rapid Commun.* **2011**, 32, 859-869.
- [9] M. Khan, W. T. S. Huck, Hyperbranched polyglycidol on Si/SiO₂ surfaces via surface-initiated polymerization. *Macromolecules*, **2003**, 36, 5088-5093.
- [10] P. J. Yeh, R. K. Kainthan, Y. Zou, M. Chiao, J. N. Kizhakkedathu, Self-assembled monothiol-terminated hyperbranched polyglycerols on a gold surface: A comparative study on the structure, morphology, and protein adsorption characteristics with linear poly(ethylene glycol)s. *Langmuir*, **2008**, 24, 4907-4916.
- [11] E. A. Vogler, Structure and reactivity of water at biomaterial surfaces, *Adv. Coll. Interf. Sci.* **1998**, 74, 69-117.

- [12] R. R. Seigel, P. Harder, R. Dahint, M. Grunze, F. Josse, M. Mrksich, G. M. Whitesides, On-Line Detection of Nonspecific Protein Adsorption at Artificial Surfaces, *Anal. Chem.* **1997**, 69, 3321-3332.
- [13] C. F. Wertz, M. M. Santore, Adsorption and Relaxation Kinetics of Albumin and Fibrinogen on Hydrophobic Surfaces: Single-Species and Competitive Behavior, *Langmuir*, **1999**, 15, 8884-8894.
- [14] K. E. Michael, V. N. Vernekar, B. G. Keselowsky, J. C. Meredith, R. A. Latour, A. J. Garcia, Adsorption and Relaxation Kinetics of Albumin and Fibrinogen on Hydrophobic Surfaces: Single-Species and Competitive Behavior, Adsorption-Induced Conformational Changes in Fibronectin Due to Interactions with Well-Defined Surface Chemistries, *Langmuir*, **2003**, 19, 8033-8040.
- [15] M. D. Mager, V. LaPointe, M. M. Stevens, Exploring and exploiting chemistry at the cell surface, *Nature Chemistry*, **2011**, 3, 582-589.
- [16] M. M. Fletcher, *Microbial adhesion to surfaces*, Ellis Horwood, Chichester, **1980**, 197-210.
- [17] T. R. Neu, K. C. Marshall, Bacterial Polymers: Physicochemical Aspects of Their Interactions at Interfaces, *J. Biomater. App.* **1990**, 5, 107-135.
- [18] R. G. Chapman, E. Ostuni, M. N. Liang, G. Meluleni, E. Kim, L. Yan, G. Pier, H. S. Warren, G. M. Whitesides, Polymeric Thin Films That Resist the Adsorption of Proteins and the Adhesion of Bacteria, *Langmuir*, **2001**, 17, 1225-1233.
- [19] M. Habash, G. J. Reid, Microbial Biofilms: Their Development and Significance for Medical Device-Related Infections, *J. Clin. Pharmacol.* **1999**, 39, 887-898.
- [20] J. M. Schierholz, J. Beuth, Implant infections: a haven for opportunistic bacteria. *J. Hosp. Infect.* **2001**, 49, 87-93.
- [21] G. Cheng, H. Xue, G. Li, S. Jiang, Integrated antimicrobial and nonfouling hydrogels to inhibit the growth of planktonic bacterial cells and keeps the surface clean, *Langmuir*, **2010**, 26, 10425-10428.
- [22] A. Razatos, Y. L. Ong, F. Boulay, D. L. Elbert, J. A. Hubbel, M. M. Sharma, G. Georgiou, Force Measurements between Bacteria and Poly(ethylene glycol)-Coated Surfaces, *Langmuir*, **2000**, 16, 9155-9158.

- [23] T. Vladkova, Surface engineering for non-toxic biofouling control (review), *J. Univ. Chem. Technol. Metall.* **2007**, 42, 239-256.
- [24] C. A. Alves, E. L. Smith, M. D. Porter, Atomic Scale Imaging of Alkanethiolate Monolayers at Gold Surfaces with Atomic Force Microscopy. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 1222-1227.
- [25] H. J. Himmel, C. Wöll, Herstellung organischer Dünnschichten, *Chem. unserer Zeit*, **1998**, 6, 294-301.
- [26] M. Himmelhaus, F. Eisert, M. Buck, M. Grunze, Self-Assembly of *n*-Alkanethiol Monolayers. A Study by IR-Visible Sum Frequency Spectroscopy (SFG), *J. Phys. Chem. B*, **2000**, 104, 576-584.
- [27] P. E. Laibinis, G. M. Whitesides, D. L. Allara, Y.T. Tao, A. N. Parikh, R. G. Nuzzo, Comparison of the Structures and Wetting Properties of Self-Assembled Monolayers of *n*-Alkanethiols on the Coinage Metal Surfaces, Cu, Ag, Au, *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, 113, 7152-7167.
- [28] E. Delamarche, B. Michel, C. Gerber, D. Anselmetti, H. J. Güntherodt, H. Wolf, H. Ringsdorf, Real-Space Observation of Nanoscale Molecular Domains in Self-Assembled Monolayers, *Langmuir*, **1994**, 10, 2869-2871.
- [29] F. Schreiber, Structure and growth of self-assembling monolayers, *Prog. Surf. Sci.*, **2000**, 65, 151-256.
- [30] M. D. Porter, T. B. Bright, D. L. Allara, C. E. D. Chidsey, Spontaneously Organized Molecular Assemblies. 4. Structural Characterization of *n*-Alkyl Thiol Monolayers on Gold by Optical Ellipsometry, Infrared Spectroscopy, and Electrochemistry, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 109, 3559-3568.
- [31] K. D. Truong, P. A. Rowntree, Formation of Self-Assembled Butanethiol Monolayers on Au Substrates: Spectroscopic Evidence for Highly Ordered Island Formation in Sub-Monolayer Films, *J. Phys. Chem.*, **1996**, 100, 19917-19926.
- [32] S. Song, S. Ren, J. Wang, S. Yang, J. Zhang, Preparation and Tribological Study of a Peptide-Containing Alkylsiloxane Monolayer on Silicon, *Langmuir*, **2006**, 22, 6010-6015.

- [33] A. Glaser, J. Foisner, H. Hoffman, G. Friedbacher, Investigation of the Role of the Interplay between Water and Temperature on the Growth of Alkylsiloxane Submonolayers on Silicon, *Langmuir*, **2004**, 20, 5599-4604.
- [34] K. Bierbaum, M. Kinzler, C. Wöll, M. Grunze, G. Hähner, S. Heid, F. Effenberger, A Near Edge X-ray Absorption Fine Structure Spectroscopy and X-ray Photoelectron Spectroscopy Study of the Film Properties of Self-Assembled Monolayers of Organosilanes on Oxidized Si(100), *Langmuir*, **1995**, 11, 512-518.
- [35] Z. Yang, J. A. Galloway, H. Yu, Protein Interactions with Poly(ethylene glycol) Self-Assembled Monolayers on Glass Substrates: Diffusion and Adsorption, *Langmuir*, **1999**, 15, 8405-8411.
- [36] J. G. Van Alsten, Self-Assembled Monolayers on Engineering Metals: Structure, Derivatization, and Utility, *Langmuir*, **1999**, 15, 7605-7614.
- [37] U. Harm, R. Bügler, W. Fürbeth, Novel protective coatings for steel based on a combination of self-assembled monolayers and conducting polymers, *Macromol. Symp.* **2002**, 187, 1-11.
- [38] A. Raman, M. Dubey, I. Gouzman, E. S. Gawalt, Formation of Self-Assembled Monolayers of Alkylphosphonic Acid on the Native Oxide Surface of SS316L *Langmuir*, **2006**, 22, 6469-6472.
- [39] B. Adolphi, E. Jähne, G. Busch, X. Cai, Characterization of the adsorption of ω -(thiophene-3-yl alkyl) phosphonic acid on metal oxides with AR-XPS, *Anal. Bioanal. Chem.* **2004**, 379, 646-652.
- [40] C. Yee, G. Kataby, A. Ulman, T. Prozorov, H. White, A. King, M. Rafailovich, J. Sokolov, A. Gedanken, Self-Assembled Monolayers of Alkanesulfonic and -phosphonic Acids on Amorphous Iron Oxide Nanoparticles, *Langmuir*, **1999**, 15, 7111-7115.
- [41] M. Chockalinga, A. Magenau, S. G. Parker, M. Parviz, S. R. C. Vivekchand, K. Gaus, J. J. Gooding, Biointerfaces on Indium-Tin Oxide Prepared from Organophosphonic Acid Self-Assembled Monolayers, *Langmuir*, **2014**, 30, 8509-8515.
- [42] E. Hoque, J. A. DeRose, G. Kulik, P. Hoffmann, H. J. Mathieu, B. Bhushan, Alkylphosphonate Modified Aluminum Oxide Surfaces, *J. Phys. Chem. B*, **2006**, 110, 10855-10861.

- [43] C. M. Whelan, M. Kinsella, L. Carbonell, H. M. Ho, K. Maex, Corrosion inhibition by self-assembled monolayers for enhanced wire bonding on Cu surfaces, *Microel. Eng.* **2003**, 70, 551-557.
- [44] S. Flink, F. C. J. M. van Veggel, D. N. Reinhoudt, Sensor Functionalities in Self-Assembled Monolayers, *Adv. Mater.* **2000**, 12, 1315-1328.
- [45] A. Barfidokht, J. J. Gooding, Approaches Toward Allowing Electroanalytical Devices to be Used in Biological Fluids, *Electroanalysis*, **2014**, 26, 1182–1196.
- [46] M. Mrksich, A surface chemistry approach to studying cell adhesion, *Chem. Soc. Rev.* **2000**, 29, 267-273.
- [47] K. L. Prime, G. M. Whitesides, Adsorption of Proteins onto Surfaces Containing End-Attached Oligo(ethylene oxide): A Model System Using Self-Assembled Monolayers, *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 10714-10721.
- [48] K. L. Prime, G. M. Whitesides, Self-Assembled Organic Monolayers: Model Systems for Studying Adsorption of Proteins at Surfaces, *Science*, **1991**, 252, 1164-1167.
- [49] K. Feldman, G. Hähner, N. D. Spencer, Probing Resistance to Protein Adsorption of Oligo(ethylene glycol)-Terminated Self-Assembled Monolayers by Scanning Force Microscopy, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 10134-10141.
- [50] S. W. Lee, P. E. Laibinis, Protein-resistant coatings for glass and metal oxide surfaces derived from oligo(ethylene glycol)-terminated alkyltrichlorosilanes, *Biomaterials*, **1998**, 19, 1669-1675.
- [51] N. Xia, Y. Hu, D. W. Grainger, D. G. Castner, Functionalized Poly(ethylene glycol)-Grafted Polysiloxane Monolayers for Control of Protein Binding, *Langmuir*, **2002**, 18, 3255-3262.
- [52] F. Meiners, J. H. Ross, I. Brand, A. Buling, M. Neumann, P. J. Köster, J. Christoffers, G. Wittstock, Modification of silicon oxide surfaces by monolayers of an oligoethylene glycol-terminated perfluoroalkyl silane, *Coll. Surf. A*, **2014**, 449, 31-41.
- [53] S. Lee, P. E. Laibinis, Protein-resistant coatings for glass and metal oxide surfaces derived from oligo(ethylene glycol)-terminated alkyltrichlorosilanes, *Biomaterials*, **1998**, 19, 1669-1675.

- [54] S. Jon, J. Seong, A. Khademhosseini, T. T. Tran, P. E. Laibinis, R. Langer, Construction of Nonbiofouling Surfaces by Polymeric Self-Assembled Monolayers, *Langmuir*, **2003**, 19, 9989-9993.
- [55] S. Herrwerth, W. Eck, S. Reinhardt, M. Grunze, Factors that Determine the Protein Resistance of Oligoether Self-Assembled Monolayers - Internal Hydrophilicity, Terminal Hydrophilicity, and Lateral Packing Density, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 9359-9366.
- [56] E. J. Vandenberg, Polymerization of glycidol and its derivatives: A new rearrangement polymerization, *J. Polym. Sci. A*, **1985**, 23, 915-949.
- [57] S. R. Sandler, F. R. Berg, Room temperature polymerization of glycidol, *J. Polym. Sci. A*, **1966**, 4, 1253-1259.
- [58] T. Weber, M. Bechthold, T. Winkler, J. Dauselt, A. Terfort, Direct grafting of anti-fouling polyglycerol layers to steel and other technically relevant materials, *Coll. Surf. B*, **2013**, 111, 360-366.
- [59] C. Siegers, M. Biesalski, R. Haag, Self-Assembled Monolayers of Dendritic Polyglycerol Derivatives on Gold That Resist the Adsorption of Proteins, *Chem. Eur. J.* **2004**, 10, 2831-2838.
- [60] M. Wyszogrodzka, R. Haag, Synthesis and Characterization of Glycerol Dendrons, Self-Assembled Monolayers on Gold: A Detailed Study of Their Protein Resistance, *Biomacromolecules*, **2009**, 10, 1043-1054.
- [61] K. Knop, R. Hoogenboom, D. Fischer, U. S. Schubert, Poly(ethylene glycol) in drug delivery: Pros and cons as well as potential alternatives. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 6288-6308.
- [62] D. Wilms, S. Striba, H. Frey, Hyperbranched polyglycerols: From the controlled synthesis of biocompatible polyether polyols to multipurpose applications. *Acc. Chem. Res.* **2010**, 43, 129-141.
- [63] A. Zill, A. L. Rutz, R. E. Kohman, A. M. Alkilany, C. J. Murphy, H. Kong, S. C. Zimmermann, Clickable polyglycerol hyperbranched polymers and their application to gold nanoparticles and acid-labile nanocarriers, *Chem. Commun.* **2011**, 47, 1279-1281.

- [64] M. Weinhart, T. Becherer, N. Schnurbusch, K. Schwibbert, H. Kunte, R. Haag, Linear and Hyperbranched Polyglycerol Derivatives as Excellent Bioinert Glass Coating Materials *Adv. Eng. Mater.* **2011**, 13, 501-510.
- [65] S. Tosatti, S. M. Depaul, A. Askendal, S. VandeVondele, J. A. Hubbell, P. Tengvall, M. Textor, Peptide functionalized poly(L-lysine)-g-poly(ethylene glycol) on titanium: resistance to protein adsorption in full heparinized human blood plasma, *Biomaterials*, **2003**, 24, 4949-4958.
- [66] E. Moore, B. Delalat, R. Vasani, G. McPhee, H. Thissen, N. H. Voelcker, Surface-Initiated Hyperbranched Polyglycerol as an Ultralow-Fouling Coating on Glass, Silicon, and Porous Silicon Substrates, *ACS Appl. Mater. Interf.* **2014**, 6, 15243-15252.
- [67] L. Wang, K. G. Neoh, E. T. Kang, B. Shuter, S. Wang, Superparamagnetic Hyperbranched Polyglycerol-Grafted Fe₃O₄ Nanoparticles as a Novel Magnetic Resonance Imaging Contrast Agent: An In Vitro Assessment, *Adv. Funct. Mater.* **2009**, 19, 2615-2622.
- [68] L. Zhou, C. Gao, W. Xu, Robust Fe₃O₄/SiO₂-Pt/Au/Pd Magnetic Nanocatalysts with Multifunctional Hyperbranched Polyglycerol Amplifiers, *Langmuir*, **2010**, 26, 11217-11225.
- [69] S. K. Oh, Y. Niu, R. M. Crooks, Size-Selective Catalytic Activity of Pd Nanoparticles Encapsulated within End-Group Functionalized Dendrimers, *Langmuir*, **2005**, 21, 10209-10213.
- [70] D. Nordmeyer, P. Stumpf, D. Gröger, A. Hofmann, S. Enders, S. B. Riese, J. Dervede, M. Taupitz, U. Rauch, R. Haag, E. Rühl, C. Graf, Iron oxide nanoparticles stabilized with dendritic polyglycerols as selective MRI contrast agents, *Nanoscale*, **2014**, 6, 9646-9654.
- [71] A. Thomas, H. Bauer, A. Schilman, K. Fischer, W. Tremel, H. Frey, The “Needle in the Haystack” Makes the Difference: Linear and Hyperbranched Polyglycerols with a Single Catechol Moiety for Metal Oxide Nanoparticle Coating, *Macromolecules* **2014**, 47, 4557–4566.
- [72] A. Boulares-Pender, A. Prager, S. Reichelt, C. Elsner, M. R. Buchmeiser, Functionalization of Plasma-Treated Polymer Surfaces with Glycidol, *J. Appl. Polym. Sci.* **2011**, 121, 2543-2551.

- [73] Q. Wei, T. Becherer, P. M. Noeske, I. Grunwald, R. Haag, A Universal Approach to Crosslinked Hierarchical Polymer Multilayers as Stable and Highly Effective Antifouling Coatings, *Adv. Mater.* **2014**, 26, 2688-2693
- [74] Q. Wei, T. Becherer, R. Mutihac, P. M. Noeske, F. Paulus, R. Haag, I. Grunwald, Multivalent Anchoring and Cross-Linking of Mussel-Inspired Antifouling Surface Coatings, *Biomacromolecules*, **2014**, 15, 3061-3071.
- [75] F. Grasset, N. Saito, D. Lia, D. Park, I. Sakaguchi, N. Ohashi, H. Haneda, T. Roisnel, S. Mornet, E. Duguet, Surface modification of zinc oxide nanoparticles by aminopropyltriethoxysilane, *J. Alloys Compd.* **2003**, 360, 298-311.
- [76] A. R. Morrill, D. T. Duong, J. Lee, M. Moskovits, Imaging 3-aminopropyltriethoxysilane self-assembled monolayers on nanostructured titania and tin (IV) oxide nanowires using colloidal silver nanoparticles, *Chem. Phys. Lett.* **2009**, 473, 116-119.
- [77] Y. Xie, C. A. S. Hill, Z. Xiao, H. Militz, C. Mai, Silane coupling agents used for natural fiber/polymer composites: A review, *Composites, Part A*, **2010**, 41, 806-819.
- [78] Y. Lin, J. Jin., M. Song, Preparation and characterisation of covalent polymer functionalized graphene oxide, *J. Mater. Chem.* **2011**, 21, 3455-3461.
- [79] T. Weber, Y. Gies, A. Terfort. Bacteria-Repulsive Polyglycerol Surfaces by Grafting Polymerization onto Aminopropylated Surfaces, *Langmuir*, **2012**, 28, 15916-15921.
- [80] C. Mao, Y. Qiu, H. Sang, H. Mei, A. Zhu, J. Shen, S. Lin, Various approaches to modify biomaterial surfaces for improving hemocompatibility, *Adv. Colloid Interface Sci.* **2004**, 110, 5-17.
- [81] D. J. Vanderah, G. Valincius, C. W. Meuse, Self-Assembled Monolayers of Methyl 1-Thiahexa(ethylene oxide) for the Inhibition of Protein Adsorption, *Langmuir*, **2002**, 18, 4674-4680.
- [82] N. P. Desai, J. A. Hubbel, Solution technique to incorporate polyethylene oxide and other water soluble polymers into surfaces of polymeric biomaterial, *Biomaterials*, **1991**, 12, 144-153.
- [83] N. Xia, Y. Hu, D. W. Grainger, D. G. Castner, Functionalized Poly(ethylene glycol)-Grafted Polysiloxane Monolayers for Control of Protein Binding, *Langmuir*, **2002**, 18, 3255-3262.

- [84] L. Dalsin, L. Lin, S. Tosatti, J. Vörös, M. Textor, P. B. Messersmith, Protein Resistance of Titanium Oxide Surfaces Modified by Biologically Inspired mPEG-DOPA, *Langmuir*, **2005**, 21, 640-646.
- [85] V. Zoulalian, S. Monge, S. Zürcher, M. Textor, J. J. Robin, S. Tosatti, *J. Phys. Chem. B*, Functionalization of Titanium Oxide Surfaces by Means of Poly(alkyl-phosphonates), **2006**, 110, 25603-25605.
- [86] F. Khalil, E. Franzmann, J. Ramcke, O. Dakischew, K. S. Lips, A. Reinhardt, P. Heisig, W. Maison, Biomimetic PEG-catecholates for stabile antifouling coatings on metal surfaces: Applications on TiO₂ and stainless steel, *Coll. Surf. B*, **2014**, 117, 185-192.
- [87] S. Pasche, S. M. De Paul, J. Vörös, N. D. Spencer, M. Textor, Poly(L-lysine)-graft-poly(ethylene glycol) Assembled Monolayers on Niobium Oxide Surfaces: A Quantitative Study of the Influence of Polymer Interfacial Architecture on Resistance to Protein Adsorption by ToF-SIMS and in Situ OWLS, *Langmuir*, **2003**, 19, 9216-9225.
- [88] M. S. Wagner, S. Pasche, D. G. Castner, M. Textor, Characterization of Poly(L-lysine)-graft-Poly(ethylene glycol)Assembled Monolayers on Niobium Pentoxide Substrates Using Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry and Multivariate Analysis, *Anal. Chem.*, **2004**, 76, 1483-1492.
- [89] P. J. Molino, B. Zhang, G. G. Wallace, T. W. Hanks, Surface modification of polypyrrole/biopolymer composites for controlled protein and cellular adhesion, *Biofouling*, **2013**, 29, 1155-1167.
- [90] C. Su, R. Yuan, Y. Chen, T. Lin, H. Chien, C. Hsieh, W. Tsai, C. Chang, H. Chen, A facile approach toward protein-resistant biointerfaces based on photodefinable poly-p-xylylene coating, *Coll. Surf. B*, **2014**, 116, 727-733.
- [91] A. T. Neffe, M. v. Ruesten-Lange, S. Braune, K. Lützow, T. Roch, K. Richau, A. Krüger, T. Becherer, A. F. Thünemann, F. Jung, R. Haag, A. Lendlein, Multivalent grafting of hyperbranched oligo- and polyglycerols shielding rough membranes to mediate hemocompatibility, *J. Mater. Chem. B*, **2014**, 2, 3626–3635.
- [92] Y. Chen, Y. Chang, R. Lee, W. Li, A. Chinnathambi, S. A. Alharbi, G. Hsiue, Adjustable Bioadhesive Control of PEGylated Hyperbranch Brushes on Polystyrene

- Microplate Interface for the Improved Sensitivity of Human Blood Typing, *Langmuir*, **2014**, 30, 9139–9146.
- [93] C. Pale-Grosdemange, E. S. Simon, K. L. Prime, G. M. Whitesides, Formation of Self-Assembled Monolayers by Chemisorption of Derivatives of Oligo(ethylene glycol) of Structure $\text{HS}(\text{CH}_2)_{11}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_m\text{OH}$ on Gold, *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, 113, 12-20.
- [94] R. Singhvi, A. Kumar, G. P. Lopez, G. N. Stephanopoulos, D. C. Wang, G. M. Whitesides, D. E. Ingber, Engineering Cell Shape and Function, *Science*, **1994**, 264, 696-698.
- [95] S. Jo, K. Park, Surface modification using silanated poly(ethylene glycol)s, *Biomaterials*, **2000**, 21, 605-616.
- [96] H. S. Sundaram, X. Han, A. K. Nowinski, J. Ella-Menye, C. Wimbish, P. Marek, K. Senecal, S. Jiang, One-Step Dip Coating of Zwitterionic Sulfobetaine Polymers on Hydrophobic and Hydrophilic Surfaces, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2014**, 6, 6664-6671.
- [97] M. Beyer, T. Felgenhauer, F. R. Bischoff, F. Breitling, V. Stadler, A novel glass slide-based peptide array support with high functionality resisting non-specific protein adsorption, *Biomaterials*, **2006**, 27, 3505-3514.
- [98] J. Murray, D. Nowak, L. Pukenas, R. Azhar, M. Guilloit, C. Wälti, K. Critchley, S. Johnson, R. S. Bon, Solid phase synthesis of functionalised SAM forming alkanethiol-oligoethyleneglycols, *J. Mater. Chem. B*, **2014**, 2, 3741-3744.
- [99] H. Ma, M. Wells, T. P. Beebe, Jr., A. Chilkoti, Surface-Initiated Atom Transfer Radical Polymerization of Oligo(ethylene glycol) Methyl Methacrylate from a Mixed Self-Assembled Monolayer on Gold, *Adv. Funct. Mater.*, **2006**, 16, 640-648.
- [100] T. Hayashi, Y. Tanaka, Y. Koide, M. Tanaka, M. Hara, Mechanism underlying bioinertness of self-assembled monolayers of oligo(ethyleneglycol)-terminated alkanethiols on gold: protein adsorption, platelet adhesion, and surface forces, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2012**, 14, 10196-10206.
- [101] A. J. Perstin, M. Grunze, Computer Simulation of Water near the Surface of Oligo(ethylene glycol)-Terminated Alkanethiol Self-Assembled Monolayers, *Langmuir*, **2000**, 16, 8829-8841.

- [102] A. J. Pertsin, T. Hayashi, M. Grunze, Grand Canonical Monte Carlo Simulations of the Hydration Interaction between Oligo(ethylene glycol)-Terminated Alkanethiol Self-Assembled Monolayers, *J. Phys. Chem B*, **2002**, 106, 12274-12281.
- [103] C. Dicke, G. J. Hähner, Interaction between a Hydrophobic Probe and Tri(ethylene glycol)-Containing Self-assembled Monolayers on Gold Studied with Force Spectroscopy in Aqueous Electrolyte Solution, *J. Phys. Chem. B*, **2002**, 106, 4450-4456.
- [104] M. Goel, E. N. G. Marsh, Z. Chen, N. L. Abbott, Comparison of the Influence of Humidity and D-Mannitol on the Organization of Tetraethylene Glycol-Terminated Self-Assembled Monolayers and Immobilized Antimicrobial Peptides, *Langmuir*, **2014**, 30, 7143-7151.
- [105] P. Hader, M. Grunze, J. H. Waite, Interaction of the Adhesive Protein Mefp-I and Fibrinogen with Methyl and Oligo(Ethylene Glycol)-terminated Self-assembled Monolayers, *J. Adhes.* **2000**, 73, 161-177.
- [106] X. Liu, R. Huang, R. Su, W. Qi, L. Wang, Z. He, Grafting Hyaluronic Acid onto Gold Surface to Achieve Low Protein Fouling in Surface Plasmon Resonance Biosensors, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2014**, 6, 13034-13042.
- [107] S. Chen, L. Liu, S. Jiang, Strong Resistance of Oligo(phosphorylcholine) Self-Assembled Monolayers to Protein Adsorption, *Langmuir*, **2006**, 22, 2418-2421.
- [108] V. A. Tegoulia, W. Rao, A. T. Kalambur, J. F. Rabolt, S. L. Cooper, Surface Properties, Fibrinogen Adsorption, and Cellular Interactions of a Novel Phosphorylcholine-Containing Self-Assembled Monolayer on Gold, *Langmuir*, **2001**, 17, 4396-4404.
- [109] Y. Chang, S. Chen, Z. Zhang, S. Jiang, Highly Protein-Resistant Coatings from Well-Defined Diblock Copolymers Containing Sulfobetaines, *Langmuir*, **2006**, 22, 2222-2226.
- [110] W. K. Cho, B. Kong, I. S. Choi, Highly Efficient Non-Biofouling Coating of Zwitterionic Polymers: Poly((3-(methacryloylamino)propyl)-dimethyl(3-sulfopropyl)-ammonium hydroxide), *Langmuir*, **2007**, 23, 5678-5682.
- [111] Z. Zhang, S. Chen, Y. Chang, S. Jiang, Surface Grafted Sulfobetaine Polymers via Atom Transfer Radical Polymerization as Superlow Fouling Coatings, *J. Phys. Chem. B*, **2006**, 110, 10799- 10804.

- [112] M. Hederos, P. Konradsson, B. Liedberg, Synthesis and Self-Assembly of Galactose-Terminated Alkanethiols and Their Ability to Resist Proteins, *Langmuir*, **2005**, 21, 2971-2980.
- [113] Y. Y. Luk, M. Kato, M. Mrksich, Self-Assembled Monolayers of Alkanethiolates Presenting Mannitol Groups Are Inert to Protein Adsorption and Cell Attachment, *Langmuir*, **2000**, 16, 9604-9608.
- [114] F. Paulus, R. Schulze, D. Steinhilber, M. Zieringer, I. Steinke, P. Welker, K. Licha, S. Wedepohl, J. Dervede, R. Haag, The Effect of Polyglycerol Sulfate Branching On Inflammatory Processes, *Macromol. Biosci.* **2014**, 14, 643-654.
- [115] E. Lojou, P. Bianco, Assemblies of dendrimers and proteins on carbon and gold electrodes, *Bioelectrochem.* **2006**, 69, 237-247.
- [116] K. Bonroy, J. M. Friedt, F. Frederix, W. Laureyn, S. Langerock, A. Campitelli, M. Sára, G. Borghs, B. Goddeeris, P. Declerck, Realization and Characterization of Porous Gold for Increased Protein Coverage on Acoustic Sensors, *Anal. Chem.* **2004**, 76, 4299-4306.
- [117] E. D. Kaufman, J. Belyea, M. C. Johnson, Z. M. Nicholson, J. L. Ricks, P. K. Shah, M. Bayless, T. Pettersson, Z. Feldotö, E. Blomberg, P. Claesson, S. Franzen, Probing Protein Adsorption onto Mercaptoundecanoic Acid Stabilized Gold Nanoparticles and Surfaces by Quartz Crystal Microbalance and ζ -Potential Measurements, *Langmuir*, **2007**, 23, 6053-6062.
- [118] P. N. Mashazi, K. I. Ozoemena, T. Nyokong, Tetracarboxylic acid cobalt phthalocyanine SAM on gold: Potential applications as amperometric sensor for H₂O₂ and fabrication of glucose biosensor, *Electrochim. Acta*, **2006**, 52, 177-186.
- [119] R. S. Freire, L. T. Kubota, Application of self-assembled monolayer-based electrode for voltammetric determination of copper, *Electrochim. Acta*, **2004**, 49, 3795-3800.
- [120] M. Farré, E. Martínez, J. Ramón, A. Navarro, J. Radjenovic, E. Mauriz, L. Lechuga, M. P. Marco, D. Barceló, Part per trillion determination of atrazine in natural water samples by a surface plasmon resonance immunosensor, *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, 388, 207-214.
- [121] S. K. Arya, A. K. Prusty, S. P. Singh, P. R. Solanki, M. K. Pandey, M. Datta, B. D. Malhotra, Cholesterol biosensor based on N-(2-aminoethyl)-3-aminopropyl-trimethoxysilane self-assembled monolayer, *Anal. Biochem.* **2007**, 363, 210-218.

- [122] A. K. M. Kafi, D. Y. Lee, S. H. Park, Y. S. Kwon, Development of a peroxide biosensor made of a thiolated-viologen and hemoglobin-modified gold electrode, *Microchem. J.* **2007**, 85, 308-313.
- [123] S. Hong, T. Kang, J. Moon, S. Oh, J. Yi, Surface plasmon resonance analysis of aqueous copper ions with amino-terminated self-assembled monolayers, *Coll. Surf. A*, **2007**, 292, 264-270.
- [124] J. Robertus, W. R. Browne, B. L. Feringa, Dynamic control over cell adhesive properties using molecular-based surface engineering strategies, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, 39, 354-378.
- [125] C. Boozer, J. Ladd, S. Chen, Q. Yu, J. Homola, S. Jiang, DNA Directed Protein Immobilization on Mixed ssDNA/Oligo(ethylene glycol) Self-Assembled Monolayers for Sensitive Biosensors, *Anal. Chem.* **2004**, 76, 6967-6972.
- [126] K. E. Nelson, L. Gamble, L. S. Jung, M. S. Boeckl, E. Naemi, S. L. Golledge, T. Sasaki, D. G. Castner, C. T. Campbell, P. S. Stayton, Surface Characterization of Mixed Self-Assembled Monolayers Designed for Streptavidin Immobilization, *Langmuir*, **2001**, 17, 2807-2816.
- [127] D. J. Kim, K. K. Koo, Influence of Alkyl Chain Length of Biotin Terminated n-Alkanethiolate SAMs on a Molecular Recognition between Streptavidin and Biotin, *J. Ind. Eng. Chem.* **2004**, 10, 920-926.
- [128] M. Schäferling, M. Riepl, P. Pavlickova, H. Paul, D. Kambhampati, B. Liedberg, Functionalized Self-Assembled Monolayers on Gold as Binding Matrices for the Screening of Antibody-Antigen Interactions, *Microchim. Acta*, **2003**, 142, 193-203.
- [129] T. Winkler, N. Ballav, H. Thomas, M. Zharnikov, A. Terfort, Micrometer-Scale Protein-Resistance Gradients by Electron-Beam Lithography, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 7238-7241.
- [130] N. Ballav, A. Shaporenko, S. Krakert, A. Terfort, M. Zharnikov, Tuning the Exchange Reaction between a Self-assembled Monolayer and Potential Substituents by Electron Irradiation, *J. Phys. Chem. C*, **2007**, 111, 7772-7782.

- [131] Y. L. Jeyachandran, A. Terfort, M. Zharnikov, Controlled Modification of Protein-Repelling Self-Assembled Monolayers by Ultraviolet Light: The Effect of the Wavelength, *J. Phys. Chem. C*, **2012**, 116, 9019-9028.
- [132] M. Mrksich, G. M. Whitesides, Patterning self-assembled monolayers using microcontact printing: a new technology for biosensors?, *Trends Biotechnol.* **1995**, 13, 228-235.
- [133] Y. L. Jeyachandran, M. Zharnikov, Fabrication of Protein Patterns on the Basis of Short-Chain Protein-Repelling Monolayers, *J. Phys. Chem. C*, **2013**, 117, 2920-2925.
- [134] H. Kim, S. Lee, Y. Sohn, H. Ryu, S. Jeong, Preparation of a Sensing Membrane for C-Reactive Protein, *Macromol. Symp.* **2007**, 249-250, 71-75.
- [135] S. Herrwerth, T. Rosendahl, C. Feng, J. Fick, W. Eck, M. Himmelhaus, R. Dahint, M. Grunze, Covalent Coupling of Antibodies to Self-Assembled Monolayers of Carboxy-Functionalized Poly(ethylene glycol): Protein Resistance and Specific Binding of Biomolecules, *Langmuir*, **2003**, 19, 1880-1887.
- [136] B. Bonanni, A. R. Bizzarri, S. Cannistraro, Optimized Biorecognition of Cytochrome *c* 551 and Azurin Immobilized on Thiol-Terminated Monolayers Assembled on Au(111) Substrates, *J. Phys. Chem. B*, **2006**, 110, 14574-14580.
- [137] Y. Kwon, Z. Han, E. Karatan, M. Mrksich, B. K. Kay, Antibody Arrays Prepared by Cutinase-Mediated Immobilization on Self-Assembled Monolayers, *Anal. Chem.*, **2004**, 76, 5713-5720.
- [138] R. Dahint, M. Grunze, F. Josse, J. Renken, Acoustic Plate Mode Sensor for Immunochemical Reactions, *Anal. Chem.* **1995**, 66, 2888-2892.
- [139] J. Lahiri, L. Isaacs, B. Grzybowski, J. D. Carbeck, G. M. Whitesides, Biospecific Binding of Carbonic Anhydrase to Mixed SAMs Presenting Benzenesulfonamide Ligands: A Model System for Studying Lateral Steric Effects, *Langmuir*, **1999**, 15, 7186-7198.
- [140] M. Mrksich, J. R. Grunwell, G. M. Whitesides, Biospecific Adsorption of Carbonic Anhydrase to Self-Assembled Monolayers of Alkanethiolates That Present Benzenesulfonamide Groups on Gold, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 12009-12010.
- [141] B. Oh, N. Huang, W. Chen, J. H. Seo, P. Chen, T. T. Cornell, T. P. Shanley, J. Fu, K. Kurabayashi, Integrated Nanoplasmonic Sensing for Cellular Functional Immunoanalysis Using Human Blood, *ACS Nano*, **2014**, 8, 2667-2676.

- [142] D. Liu, Y. Xie, H. Shao, X. Jiang, Using Azobenzene-Embedded Self-Assembled Monolayers To Photochemically Control Cell Adhesion Reversibly, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 4406-4408.
- [143] L. M. Bonanno, L. A. DeLouise, Steric Crowding Effects on Target Detection in an Affinity Biosensor, *Langmuir*, **2007**, 23, 5817-5823.
- [144] V. H. Pérez-Luna, M. J. O'Brien, K. A. Opperman, P. D. Hampton, G. P. López, L. A. Klumb, P. S. Stayton, Molecular Recognition between Genetically Engineered Streptavidin and Surface-Bound Biotin, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 6469-6478.
- [145] K. Uchida, H. Otsuka, M. Kaneko, K. Kataoka, Y. Nagasaki, *Anal. Chem.* **2005**, 77, 1075-1080.
- [146] C. Rosano, P. Arosio, M. Bolognesi, The X-ray three-dimensional structure of avidin, *Biomol. Eng.* **1999**, 16, 5-12.
- [147] N. Huang, J. Vörös, S. M. De Paul, M. Textor, N. D. Spencer, Biotin-Derivatized Poly(L-lysine)-g-poly(ethylene glycol): A Novel Polymeric Interface for Bioaffinity Sensing, *Langmuir*, **2002**, 18, 220-230.
- [148] R. E. Baltus, K. S. Carmon, L. A. Luck, Quartz Crystal Microbalance (QCM) with Immobilized Protein Receptors: Comparison of Response to Ligand Binding for Direct Protein Immobilization and Protein Attachment via Disulfide Linker, *Langmuir*, **2007**, 23, 3880-3885.
- [149] B. Sigal, C. Bamdad, A. Barberis, J. Strominger, G. M. Whitesides, A Self-Assembled Monolayer for the Binding and Study of Histidine-Tagged Proteins by Surface Plasmon Resonance, *Anal. Chem.* **1996**, 68, 490-497.
- [150] S. A. Trammell, L. Wang, J. M. Zullo, R. Shashidhar, N. Lebedev, Orientated binding of photosynthetic reaction centers on gold using Ni-NTA self-assembled monolayers, *Biosens. Bioelectron.* **2004**, 19, 1649-1655.
- [151] E. Hochuli, H. Döbeli, A. Schacher, New metal chelate adsorbent selective for proteins and peptides containing neighbouring histidine residues, *J Chromatogr.* **1987**, 411, 177-184.

- [152] Ó. A. Loaiza, S. Campuzano, M. López-Berlanga, M. Pedrero, J. M. Pingarrón, Development of a DNA Sensor Based on Alkanethiol Self-Assembled Monolayer-Modified Electrodes, *Sensors*, **2005**, 5, 344-363.
- [153] R. Y. Lai, D. S. Seferos, A. J. Heeger, G. C. Bazan, K. W. Plaxco, Comparison of the Signaling and Stability of Electrochemical DNA Sensors Fabricated from 6- or 11-Carbon Self-Assembled Monolayers, *Langmuir*, **2006**, 22, 10796-10800.
- [154] C. Y. Lee, L. J. Gamble, D. W. Grainger, D. G. Castner, Mixed DNA/oligo(ethylene glycol) functionalized gold surfaces improve DNA hybridization in complex media, *Biointerphases*, **2006**, 1, 82-92.
- [155] J. Niu, W. Knoll, Electrochemically Addressable Functionalization and Parallel Readout of a DNA Biosensor Array, *Anal. Chem.* **2007**, 79, 2695-2702.
- [156] M. N. Khan, M. Zharnikov, Fabrication of ssDNA/Oligo(ethylene glycol) Monolayers by Promoted Exchange Reaction with Thiol and Disulfide Substituents, *J. Phys. Chem. C*, **2014**, 118, 3093-3101.
- [157] Z. I. Zhi, A. K. Powell, J. E. Turnbull, Fabrication of Carbohydrate Microarrays on Gold Surfaces: Direct Attachment of Nonderivatized Oligosaccharides to Hydrazide-Modified Self-Assembled Monolayers, *Anal. Chem.* **2006**, 78, 4786-4793.
- [158] N. Shirahata, T. Yonezawa, Y. Miura, K. Kobayashi, K. Koumoto, Patterned Adsorption of Protein onto a Carbohydrate Monolayer Immobilized on Si, *Langmuir*, **2003**, 19, 9107-9109.
- [159] D. D. Schlereth, R. P. H. Kooyman, Self-assembled monolayers with biospecific affinity for lactate dehydrogenase for the electroenzymatic oxidation of lactate, *J. Electroanal. Chem.* **1997**, 431, 285-295.
- [160] D. Dechtrirat, N. Gajovic-Eichelmann, F. Wojcik, L. Hartmann, F. F. Bier, F. W. Scheller, Electrochemical displacement sensor based on ferroceneboronic acid tracer and immobilized glycan for saccharide binding proteins and *E. coli*, *Biosens. Bioelectron.* **2014**, 58, 1-8.
- [161] C. Hone, A. H. Haines, D. A. Russell, Rapid, Quantitative Colorimetric Detection of a Lectin Using Mannose-Stabilized Gold Nanoparticles, *Langmuir*, **2003**, 19, 7141-7144.

- [162] D. A. Mann, M. Kanai, D. J. Maly, L. L. Kiessling, Probing Low Affinity and Multivalent Interactions with Surface Plasmon Resonance: Ligands for Concanavalin A, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 10575-19582.
- [163] E. A. Smith, W. D. Thomas, L. L. Kiessling, R. M. Corn, Surface Plasmon Resonance Imaging Studies of Protein-Carbohydrate Interactions, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 6140-6148.
- [164] C. R. Yonzon, E. Jeoung, S. Zou, G. C. Schatz, M. Mrksich, R. P. Van Duyne, Comparative Analysis of Localized and Propagating Surface Plasmon Resonance Sensors: The Binding of Concanavalin A to a Monosaccharide Functionalized Self-Assembled Monolayer, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 12669-12676.
- [165] D. Dechtrirat, N. Gajovic-Eichelmann, F. F. Bier, F. W. Scheller, Hybrid Material for Protein Sensing Based on Electrosynthesized MIP on a Mannose Terminated Self-Assembled Monolayer, *Adv. Funct. Mater.* **2014**, 24, 2233-2239.
- [166] G. Waksman, S.J. Hultgren, Structural biology of the chaperone–usher pathway of pilus biogenesis, *Nat. Rev. Microbiol.* **2009**, 7, 765-774.
- [167] H. Lis, N. Sharon, Lectins as Molecules and as Tools, *Annu. Rev. Biochem.* **1986**, 55, 35-67.
- [168] M. S. Donnenberg, Pathogenic strategies of enteric bacteria, *Nature*, **2000**, 406, 768-774.
- [169] Z. Shen, M. Huang, C. Xiao, Y. Zhang, X. Zeng, P. G. Wang, Nonlabeled Quartz Crystal Microbalance Biosensor for Bacterial Detection Using Carbohydrate and Lectin Recognitions, *Anal. Chem.* **2007**, 79, 2312-2319.
- [170] X. Qian, S. J. Metallo, I. S. Choi, H. Wu, M. N. Liang, G. M. Whitesides, Arrays of Self-Assembled Monolayers for Studying Inhibition of Bacterial Adhesion, *Anal. Chem.* **2002**, 74, 1805-1810.
- [171] M. Hellmund, H. Zhou, O. Samsonova, P. Welker, T. Kissel, R. Haag, Functionalized Polyglycerol Amine Nanogels as Nanocarriers for DNA, *Macromol. Biosci.* **2014**, 14, 1215-1221.

- [172] P. Dey, M. Adamovski, S. Friebe, A. Badalyan, R. Mutihac, F. Paulus, S. Leimkühler, U. Wollenberger, R. Haag, Dendritic Polyglycerol–Poly(ethylene glycol)-Based Polymer Networks for Biosensing Application, *ACS Appl. Mater. Interf.* **2014**, 6, 8937-8941.
- [173] E. Moore, B. Delalat, R. Vasani, H. Thissen, N. H. Voelcker, Patterning and Biofunctionalization of Antifouling Hyperbranched Polyglycerol Coatings, *Biomacromolecules*, **2014**, 15, 2735-2743.
- [174] Q. Wei, T. Becherer, S. Angioletti-Uberti, J. Dzubiella, C. Wischke, A. T. Neffe, A. Lendlein, M. Ballauff, R. Haag, Protein Interactions with Polymer Coatings and Biomaterials, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 8004-8031.
- [175] C. Crouzet, C. Decker, J. Marchal, Caractérisation de réactions primaires de dégradation oxydante au cours de l'autoxydation des poly(oxyéthylène)s à 25°C: étude en solution aqueuse avec amorçage par radiolyse du solvant, *Macromol. Chem.* **1976**, 177, 145-157.
- [176] R. Hamburger, E. Azaz, M. Donbrow, Autoxidation of polyoxyethylenic non-ionic surfactants and of polyethylene glycols, *Pharm. Acta Helv.* **1975**, 50, 10-17.
- [177] W. Gerhardt, C. Martens, Zur Oxydation von Polyethylenoxiden und Polyethylenoxidethern; die Bildung von Acetaldehyd bei der Oxidation von Diethylenglycol mit Sauerstoff, *Z. Chem.* **1985**, 25, 143
- [178] T. Talarico, A. Swank, C. Privalle, Autoxidation of pyridoxalated hemoglobin polyoxyethylene conjugate, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1998**, 250, 354-358.
- [179] S. Sharma, R. W. Johnson, A. Desai, Evaluation of the stability of nonfouling ultrathin poly(ethylene glycol) films for silicon-based microdevices, *Langmuir*, **2004**, 20, 348-356.
- [180] R. K. Kainthan, J. Janzen, E. Levin, D. V. Devine, D. E. Brooks, Biocompatibility testing of branched and linear polyglycidol, *Biomacromolecules*, **2006**, 7, 703-709.
- [181] A. R. Morrill, D. T. Duong, J. Lee, M. Moskovits, Imaging 3-aminopropyltriethoxysilane self-assembled monolayers on nanostructured titania and tin (IV) oxide nanowires using colloidal silver nanoparticles. *Chem. Phys. Lett.* **2009**, 473, 116-119.
- [182] F. Grasset, N. Saito, D. Lia, D. Park, I. Sakaguchi, N. Ohashi, H. Haneda, T. Roisnel, S. Mornet, E. Duguet, Surface modification of zinc oxide nanoparticles by aminopropyltriethoxysilane. *J. Alloys Compd.* **2003**, 360, 298-311.

- [183] Y. Lin, J. Jin., M. Song, Preparation and characterisation of covalent polymer functionalized graphene oxide, *J. Mater. Chem.* **2011**, 21, 3455-3461.
- [184] Y. Xie, C. A. S. Hill, Z. Xiao, H. Militz, C. Mai, Silane coupling agents used for natural fiber/polymer composites: A review, *Composites, Part A*, **2010**, 41, 806-819.
- [185] A. Utrata-Wesołek, R. Trzcińska, K. Galbas, B. Trzebicka, A. Dworak, Photodegradation of polyglycidol in aqueous solutions exposed to UV irradiation, *Polym. Degrad. Stab.* **2011**, 96, 907-918.
- [186] S. A. Alang Ahmad, L. S. Wong, E. ul-Haq, J. K. Hobbs, G. J. Leggett, J. Micklefield, Protein Micro- and Nanopatterning Using Aminosilanes with Protein-Resistant Photolabile Protecting Groups, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 2749-2759.
- [187] M. Mrksich, C. S. Chen, Y. Xia, L. E. Dike, D. E. Ingber, G. M. Whitesides, Controlling cell attachment on contoured surfaces with self-assembled monolayers of alkanethiolates on gold, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1996**, 93, 10775-10778.
- [188] E. Delamarche, A. Bernard, H. Schmid, B. Michel, H. Biebuyck, Patterned Delivery of Immunoglobulins to Surfaces Using Microfluidic Networks, *Science*, **1997**, 276, 779-781.
- [189] A. S. Blawas, W. M. Reichert, Protein patterning, *Biomaterials*, **1998**, 19, 595-609.
- [190] G. MacBeath, S. L. Schreiber, Printing Proteins as Microarrays for High-Throughput Function Determination, *Science*, **2000**, 289, 1760-1763.
- [191] J. R. Kenseth, J. A. Harnisch, V. W. Jones, M. D. Porter, Investigation of Approaches for the Fabrication of Protein Patterns by Scanning Probe Lithography, *Langmuir*, **2001**, 17, 4105-4112.
- [192] K. B. Lee, S. J. Park, C. A. Mirkin, J. C. Smith, M. Mrksich, Protein Nanoarrays Generated By Dip-Pen Nanolithography, *Science*, **2002**, 295, 1702-1705.
- [193] J. Gu, C. M. Yam, S. Li, C. Cai, Nanometric Protein Arrays on Protein-Resistant Monolayers on Silicon Surfaces, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 8098-8099.
- [194] A. Turchanin, A. Tinazli, M. El-Desawy, H. Großmann, M. Schnietz, H. H. Solak, R. Tampe, A. Götzhäuser, Molecular Self-Assembly, Chemical Lithography, and Biochemical Tweezers: A Path for the Fabrication of Functional Nanometer-Scale Protein Arrays, *Adv. Mater.* **2008**, 20, 471-477.
- [195] Y. Xia, G. M. Whitesides, Soft Lithography, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 550-575.

- [196] Y. L. Jeyachandran, T. Weber, A. Terfort, M. Zharnikov, Application of Long Wavelength Ultraviolet Radiation for Modification and Patterning of Protein-Repelling Monolayers, *J. Phys. Chem. C*, **2013**, 117, 5824-5830.
- [197] M. Montague, R. E. Ducker, K. S. L. Chong, R. J. Manning, F. J. M. Rutten, M. C. Davies, G. J. Leggett, Fabrication of Biomolecular Nanostructures by Scanning Near-Field Photolithography of Oligo(ethylene glycol)-Terminated Self-Assembled Monolayers. *Langmuir*, **2007**, 23, 7328-7337.
- [198] R. E. Ducker, S. Janusz, S. Sun, G. J. Leggett, One-Step Photochemical Introduction of Nanopatterned Protein-Binding Functionalities to Oligo(ethylene glycol)-Terminated Self-Assembled Monolayers, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 14842-14843.
- [199] C. Olsen, P. A. Rowntree, Bond-Selective Dissociation of Alkanethiol Based Self-Assembled Monolayers Adsorbed on Gold Substrates, Using Low-Energy Electron Beams, *J. Chem. Phys.* **1998**, 108, 3750-3765.
- [200] M. Zharnikov, S. Frey, K. Heister, M. Grunze, Modification of Alkanethiolate Monolayers by Low Energy Electron Irradiation: Dependence on Substrate and on Length and Isotopic Composition of Alkyl Chains, *Langmuir*, **2000**, 16, 2697-2705.
- [201] K. Heister, M. Zharnikov, M. Grunze, L. S. O. Johansson, Adsorption of Alkanethiols and Biphenylthiols on Au and Ag Substrates: A High-Resolution X-ray Photoelectron Spectroscopy Study, *J. Phys. Chem. B*, **2001**, 105, 4058-4061.
- [202] D. A. Hutt, G. J. Leggett, Influence of Adsorbate Ordering on Rates of UV Photooxidation of Self-Assembled Monolayers, *J. Phys. Chem.* **1996**, 100, 6657-6662.
- [203] M. C. Wang, J. D. Liao, C. C. Weng, R. Klauser, A. Shaporenko, M. Grunze, M. Zharnikov, Modification of Aliphatic Monomolecular Films by Free Radical-Dominant Plasma: The Effect of the Alkyl Chain Length and the Substrate, *Langmuir*, **2003**, 19, 9774-9780.
- [204] N. J. Brewer, S. Janusz, K. Critchley, S. D. Evans, G. J. Leggett, Photooxidation of self-assembled monolayers by exposure to light of wavelength 254 nm: a static SIMS study, *J. Phys. Chem. B*, **2005**, 109, 11247-11256.

- [205] N. J. Brewer, R. E. Rawsterne, S. Kothari, G. J. Leggett, Oxidation of self-assembled monolayers by UV light with a wavelength of 254 nm, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 4089-4090.
- [206] G. Qin, C. Cai, Oxidative degradation of oligo(ethylene glycol)-terminated monolayers, *Chem. Commun.* **2009**, 34, 5112-5114.
- [207] *Handbook of Chemistry and Physics*, ed. D. R. Lide, CRC Press, Boca Raton, 85th edn, **2004**, 8-88.
- [208] T. Weber, N. Meyerbröcker, N. K. Hira, M. Zharnikov, A. Terfort, UV-mediated tuning of surface biorepulsivity in aqueous environment, *Chem. Commun.* **2014**, 50, 4325-4327.
- [209] P. Harder, M. Grunze, R. Dahint, G. M. Whitesides, P. E. Laibinis, Molecular Conformation in Oligo(ethylene glycol)-Terminated Self-Assembled Monolayers on Gold and Silver Surfaces Determines Their Ability To Resist Protein Adsorption, *J. Phys. Chem. B*, **1998**, 102, 426-436.
- [210] M. D. Mager, V. LaPointe, M. M. Stevens, Exploring and exploiting chemistry at the cell surface, *Nature Chemistry*, **2011**, 3, 582-589.
- [211] P. Klemm, M. A. Schembri, Bacterial adhesins: function and structure, *Int. J. Med. Microbiol.* **2000**, 290, 27-35.
- [212] N. Sharon, H. Lis, Lectins as Cell Recognition Molecules, *Science*, **1989**, 246, 227-234.
- [213] B. Ernst, J. L. Magnani, From carbohydrate leads to glycomimetic drugs, *Nat. Rev. Drug Discovery*, **2009**, 8, 661-677.
- [214] M. Hartmann, T. K. Lindhorst, The Bacterial Lectin FimH, a Target for Drug Discovery – Carbohydrate Inhibitors of Type 1 Fimbriae-Mediated Bacterial Adhesion, *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 20, 3583-3609.
- [215] J. E. Turnbull, R. A. Field, Emerging glycomics technologies, *Nat. Chem. Biol.* **2007**, 3, 74-77.
- [216] M. Kleinert, T. Winkler, A. Terfort, T. K. Lindhorst, A modular approach for the construction and modification of glyco-SAMs utilizing 1,3-dipolar cycloaddition, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, 6, 2118-2132.
- [217] T. Horlacher, P.H. Seeberger, Carbohydrate arrays as tools for research and diagnostics, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, 37, 1414-1422.

- [218] N. Laurent, J. Voglmeir, S. L. Flitsch, Glycoarrays - tools for determining protein-carbohydrate interactions and glycoenzyme specificity, *Chem. Commun.* **2008**, 37, 4400-4412.
- [219] Y. Liu, A. S. Palma, T. Feizi, Carbohydrate microarrays: key developments in glycobiology, *Biol. Chem.* **2009**, 390, 647-656.
- [220] V. Chandrasekaran, H. Jacob, F. Petersen, K. Kathirvel, F. Tucek, T. K. Lindhorst, Synthesis and Surface-Spectroscopic Characterization of Photoisomerizable glyco-SAMs on Au(111), *Chem. Eur. J.* **2014**, 20, 8744-8752.
- [221] M. M. Russew, S Hecht, Photoswitches: From Molecules to Materials, *Adv. Mater.* **2010**, 22, 3348-3360.
- [222] W. Szymanski , J. M. Beierle , H. A. V. Kistemaker , W. A. Velema , B. L. Feringa, Reversible Photocontrol of Biological Systems by the Incorporation of Molecular Photoswitches, *Chem. Rev.* **2013**, 113, 6114-6178.
- [223] J. Robertus, W. R. Browne, B. L. Feringa, Dynamic control over cell adhesive properties using molecular-based surface engineering strategies, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, 39, 354-378.
- [224] P. M. Mendes, Cellular nanotechnology: making biological interfaces smarter, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 9207-9218.
- [225] G. Hayashi, M. Hagihara, C. Dohno, K. Nakatani, Photoregulation of a Peptide-RNA Interaction on a Gold Surface, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 8678-8679.
- [226] D. Pearson, A. J. Downard, A. Muscroft-Taylor, A. D. Abell, Reversible Photoregulation of Binding of r-Chymotrypsin to a Gold Surface, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 14862-14863.
- [227] J. Auernheimer, C. Dahmen, U. Hersel, A. Bausch, H. Kessler, Photoswitched Cell Adhesion on Surfaces with RGD Peptides, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 16107-16110.
- [228] V. Chandrasekaran, H. Jacob, F. Petersen, K. Kathirvel, F. Tucek, T. K. Lindhorst, Synthesis and surface-spectroscopic characterization of photoisomerizable glyco-SAMs on Au(111), *Chem. Eur. J.* **2014**, 20, 8744-8752.
- [229] M. Hartmann, H. Papavlassopoulos, V. Chandrasekaran, C. Grabosch, F. Beiroth, T. K. Lindhorst, C. Röhl, Inhibition of bacterial adhesion to live human cells: Activity and cytotoxicity of synthetic mannosides, *FEBS Lett.* **2012**, 586, 1459-1465.

- [230] V. Chandrasekaran, K. Kolbe, F. Beiroth, T. K. Lindhorst, Synthesis and testing of the first azobenzene mannobioside as photoswitchable ligand for the bacterial lectin FimH, *Beilstein J. Org. Chem.* **2013**, 9, 223-233.
- [231] C. Grabosch, M. Kind, Y. Gies, F. Schweighöfer, A. Terfort, T. K. Lindhorst, A 'dual click' strategy for the fabrication of bioselective, glycosylated self-assembled monolayers as glycocalyx models, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, 11, 4006-4015.
- [232] T. Weber, V. Chandrasekaran, I. Stamer, M. B. Thygesen, A. Terfort, T. K. Lindhorst, Switching of Bacterial Adhesion to a Glycosylated Surface by Reversible Reorientation of the Carbohydrate Ligand, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 14583-14586.
- [233] R. A. MacPhail, H. L. Strauss, R. G. Snyder, C. A. Elliger, C-H Stretching Modes and the Structure of n-Alkyl Chains. 2. Long, All-Trans Chains, *J. Phys. Chem.* **1984**, 88, 334-341.
- [234] R. G. Snyder, H. L. Strauss, C. A. Elliger, C-H Stretching Modes and the Structure of n-Alkyl Chains. 1. Long, Disordered Chains, *J. Phys. Chem.* **1982**, 86, 5145-5150.
- [235] R. G. Greenler, Infrared Study of Adsorbed Molecules on Metal Surfaces by Reflection Techniques, *J. Chem. Phys.* **1966**, 44, 310-314.
- [236] A. Reisner, J. A. J. Haagensen, M. A. Schembri, E. L. Zechner, S. Molin, Development and maturation of Escherichia coli K-12 biofilms, *Mol. Microbiol.* **2003**, 48, 933-946.

6 Erläuterungen zur Nomenklatur

Die in dieser Arbeit verwendeten Moleküle sind aus Gründen der besseren Verständlichkeit nicht nach der gültigen IUPAC-Nomenklatur benannt.

Besonders die Monomere der selbstanordnenden Monolagen sind zur besseren Leserlichkeit abgekürzt:

EG _x OH:	HS(CH ₂) ₁₁ (OCH ₂ CH ₂) _x OH
DDT:	HS(CH ₂) ₁₁ CH ₃ , Dodecanthiol
MUA:	HS(CH ₂) ₁₁ OH, Mercaptoundecanol

Zudem werden folgende Abkürzungen verwendet:

AFM:	Atomic Force Microscopy (Rasterkraftmikroskopie)
DMF:	N,N-Dimethylformamid
DNA:	Desoxy Ribonucleic Acid
EBL:	<i>electron beam lithography</i>
EDTA:	Ethylendiamintetraessigsäure
EG:	Ethylenglycol-Einheit
EGDGE:	Ethylenglycol-diglycidylether
IPER:	<i>irradiation induced exchange reaction</i>
IR:	Infrarot
IRRAS:	<i>infrared reflection adsorption spectroscopy</i>
OEG:	Oligoethylenglycol (-OCH ₂ CH ₂ -)
PEG:	Polyethylenglycol
PG:	Polyglycerol
QCM:	<i>quartz crystal microbalance</i>
SAM:	Self-Assembled Monolayer
UV:	Ultraviolett
XPS:	<i>X-ray photoelectron spectroscopy</i> , Röntgen-Photoelektronenspektroskopie

7 Eigene Anteile an Veröffentlichungen in Fachjournalen

Bacteria-Repulsive Polyglycerol Surfaces by Grafting Polymerization onto Aminopropylated Surfaces

Theresa Weber, Yasmin Gies und Andreas Terfort

Erschienen in: Langmuir (ACS publications), 2012, 28, 15916–15921.

- 1) Entwicklung eines Protokolls zur Reinigung der Substrate
- 2) Durchführung von Abscheidungsexperimenten mit APTMS
- 3) Charakterisierung der APTMS Schichten mittels Kontaktwinkel-Goniometrie und Oberflächen IR-Spektroskopie
- 4) Parameterbestimmung für die optimale PG-Abscheidung
- 5) Durchführung von Abscheidungsexperimenten mit PG
- 6) Charakterisierung der PG Schichten mittels Ellipsometrie, Kontaktwinkel-Goniometrie und Oberflächen IR-Spektroskopie
- 7) Entwicklung eines Protokolls zur Durchführung von Bakterienexperimenten
- 8) Auswertung der Bakterienexperimente
- 9) Optimierung der Lagerbedingungen für Substrate und Beschichtungslösungen.

Direct grafting of anti-fouling polyglycerol layers to steel and other technically relevant materials

Autoren: Theresa Weber, Maren Bechthold, Tobias Winkler, John Dauselt und Andreas Terfort

Erschienen in: Colloids and Surfaces B: Biointerfaces (Elsevier), 2013, 111, 360–366.

- 1) Entwicklung eines Protokolls zur Reinigung der Substrate
- 2) Parameterbestimmung für die optimale PG-Abscheidung

- 3) Durchführung von Abscheidungsexperimenten mit PG
- 4) Charakterisierung der PG Schichten mittels Ellipsometrie, Kontaktwinkel-Goniometrie und Oberflächen IR-Spektroskopie
- 5) Entwicklung eines Protokolls zur Durchführung von Bakterienexperimenten
- 6) Durchführung der Bakterienexperimente
- 7) Auswertung der Bakterienexperimente
- 8) Optimierung der Lagerbedingungen für Substrate und Beschichtungslösungen.

Application of Long Wavelength Ultraviolet Radiation for Modification and Patterning of Protein-Repelling Monolayers

Autoren: Y. L. Jeyachandran, Theresa Weber, Andreas Terfort und Michael Zharnikov

Erschienen in: Journal of Physical Chemistry C (ACS publications), 2013, 117, 5824-5830.

- 1) Entwerfen der Belichtungsapparatur
- 2) Aufbau und Kalibrierung der Belichtungsapparatur
- 3) Durchführung von Belichtungsexperimenten
- 4) Auswertung von Photoelektronenspektren der Belichtungsexperimente

UV-mediated tuning of surface biorepulsivity in aqueous environment

Autoren: Theresa Weber, Nikolaus Meyerbröker, Nuruzzaman Khan Hira, Michael Zharnikov und Andreas Terfort

Erschienen in: Chemical Communications (RSC publications), 2014, 50, 4325-4327.

- 1) Herstellung der Goldoberflächen mittels Elektronenstrahlbedampfung
- 2) Reinigung der Substrate mittels Wasserstoffplasma
- 3) Charakterisierung der Goldsubstrate
- 4) Herstellung der Beschichtungslösungen
- 5) Durchführung von Abscheidungsexperimenten
- 6) Charakterisierung der OEG-SAMs mittels Ellipsometrie und Oberflächen IR-Spektroskopie
- 7) Durchführung der Belichtungsexperimente
- 8) Entwicklung einer Schutzgas-Strategie für die Belichtung ohne Sauerstoff
- 9) Durchführung der Proteinadsorptions-Experimente
- 10) Erstellung eines Protokolls zur Strukturierung der Oberfläche
- 11) Auswertung der Strukturierungsexperimente mittels Rasterelektronen-Mikroskopie (REM) und Rasterkraftmikroskopie (AFM)
- 12) Optimierung der Lagerbedingungen für Substrate und Beschichtungslösungen.

Switching of bacterial adhesion to a glycosylated surface by reversible reorientation of the carbohydrate ligand

Autoren: Theresa Weber, Vijayanand Chandrasekaran, Insa Stamer, Mikkel B. Thygesen, Andreas Terfort und Thisbe K. Lindhorst

Erschienen in: Angewandte Chemie International Edition (Wiley VCH), 2014, 53, 14583-14586.

Schaltung bakterieller Adhäsion auf glycosylierten Oberflächen durch reversible Reorientierung der Kohlenhydratliganden

Erschienen in: Angewandte Chemie (Wiley VCH), 2014, 126, 14812-14815.

- 1) Herstellung der Goldoberflächen mittels Elektronenstrahlbedampfung
- 2) Reinigung der Substrate mittels Wasserstoffplasma
- 3) Charakterisierung der Goldsubstrate
- 4) Untersuchungen zur Löslichkeit der SAM-bildenden Bausteine
- 5) Herstellung der Beschichtungslösungen
- 6) Durchführung von Abscheidungsexperimenten
- 7) Charakterisierung der Mannose-SAMs mittels Ellipsometrie und Oberflächen IR-Spektroskopie
- 8) Durchführung der Belichtungsexperimente
- 9) Entwicklung eines Protokolls zur Durchführung von Bakterienexperimenten
- 10) Durchführung und Auswertung der Bakterienexperimente