



Doctoral Thesis

## Micro and nano-chemical patterning of surfaces for biological applications

**Author(s):**

Michel, Roger

**Publication Date:**

2002

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-004456068> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH NO. 14725

MICRO AND NANO-CHEMICAL PATTERNING OF  
SURFACES FOR BIOLOGICAL APPLICATIONS

A dissertation submitted to the

SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH

for the degree of

DOCTOR OF TECHNICAL SCIENCES

presented by

ROGER MICHEL

Diploma in Materials Engineering (ETH Zürich) 1999

born on December 20, 1972

citizen of Bönigen BE

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. M. Textor, examiner

Prof. Dr. N. D. Spencer, co-examiner

Prof. Dr. D. G. Castner, co-examiner

Zürich, 2002

---

## **ABSTRACT**

---

The generation of biochemical patterns at surfaces, characterized by areas of biological interactiveness in a background that is essentially non-interactive, is of substantial relevance to the field of biotechnology and the subject of intense and highly competitive research activities on an international level. The interest in such patterns of biological relevance covers a number of current or potential applications. Examples include the provision of adhesive sites for cell-based biosensor chips, the generation of model surfaces for fundamental cell-biological studies related to tailoring cell receptor-surface interactions, focal-contact formation and cytoskeletal organization, and the directed placement of single molecules for the study of molecular interactions. Accordingly, pattern size-requirements range from 100  $\mu\text{m}$  (maximum size of a spread cell) to less than 10 nm (approximate size of a single protein molecule). A number of technologies have been developed and adapted to the needs

---

II of the biotechnology field. Currently used methodologies suffer, however, from a number of disadvantages in terms of robustness, reproducibility, cost-effectiveness, scaling issues for commercial production and contamination.

This thesis has two main foci: firstly, the extension of an established patterning technique, microcontact printing, to new molecular assembly systems, and secondly, the development of a novel patterning platform for the chemical patterning of surfaces in the micrometer and nanometer range, termed Selective Molecular Assembly Patterning (SMAP). The surfaces produced by both approaches were characterized using a number of surface-sensitive techniques, and their performance tested in suitable protein- and cell-based bioassays.

Microcontact printing, i.e. the transfer of molecules in a printing process via structured PDMS stamps, was employed in conjunction with a polycationic graft-copolymer, poly-(*L*-lysine)-*graft*-poly(ethylene glycol) (PLL-*g*-PEG). A cell adhesive protein, fibronectin, or alternatively, PLL-*g*-PEG terminally functionalized with a cell-adhesive RGD-peptide (-Arg-Gly-Asp-), were transferred to negatively charged tissue culture polystyrene (TCPS), TiO<sub>2</sub>-coated substrates, and uncoated glass to generate adhesive areas in the micrometer range. To investigate the quality of the resulting patterns, fluorescently labeled PLL-*g*-PEG/PEG-fluorescein was added to the PLL-*g*-PEG/PEG-RGD solution, and the patterned surface visualized using fluorescence microscopy. Unfunctionalized, PLL-*g*-PEG was used to backfill and passivate the non-stamped areas and to render them protein- and cell-resistant for at least up to one week. Human fibroblast cells clearly adapted to the specific pattern chemistry, interacting only with the cell-adhesive areas. Transfer ratios, (i.e. the

---

---

amount of print-transferred material per unit area relative to that transferred by solution assembly), of microcontact printed PLL-*g*-PEG and PLL-*g*-PEG/PEG-fluorescein were investigated using non-structured PDMS stamps. The resulting surfaces were analytically investigated using X-ray photoelectron spectroscopy (XPS). These were compared to both uncoated and PLL-*g*-PEG and PLL-*g*-PEG/PEG-fluorescein solution-coated surfaces. The transfer ratios for PLL-*g*-PEG were found to be in the range of 30-75% and to depend on the PEG chain length, with longer PEG-chains resulting in lower transfer ratios. This is interpreted in terms of steric hindrance by the grafted PEG chains as regards the interaction of the positively charged polylysine backbone with the negatively charged TiO<sub>2</sub> surface, which is a prerequisite for stable immobilization of the molecules at the substrate surface. III

Secondly, an novel patterning technology was invented: Selective Molecular Assembly Patterning (SMAP), based on the chemoselective adsorption of multifunctional organic molecules onto pre-patterned oxide substrates. This new platform was developed combining two different selective molecular adsorption processes with three established lithographic pre-patterning techniques.

Patterns characterized by TiO<sub>2</sub> areas in a SiO<sub>2</sub> background were produced on silicon- and glass-wafers coated with a 100 nm TiO<sub>2</sub> interlayer and a thin, 12 nm thick SiO<sub>2</sub> top layer. Using standard photoresist and reactive ion etching, SiO<sub>2</sub> areas were etched into the TiO<sub>2</sub> overlayer. Etching kinetics, important for producing the inorganic pre-patterns with as little topographical contrast as possible, were investigated by Atomic Force Microscopy (AFM), while the quality of the pattern contrast was determined by imaging Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spec-

---

IV trometry (ToF-SIMS). Feature sizes of the pre-patterned surfaces ranged from 200  $\mu\text{m}$  down to 1  $\mu\text{m}$ .

Selective molecular assembly patterning via chemoselective contrast (termed “SMAP I”) is based on the fact that dodecylphosphate (DDP) in aqueous solution assembles on  $\text{TiO}_2$ , but not on  $\text{SiO}_2$  surfaces. Pre-patterned  $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$  oxide surfaces were used to self-assemble the DDP on the  $\text{TiO}_2$  areas producing highly hydrophobic, interactive patches, while  $\text{SiO}_2$  was left bare and subsequently backfilled and rendered protein resistant by assembly of PLL-*g*-PEG from aqueous solution. The areal selectivity of the two adsorption processes (called “contrast”) was investigated qualitatively by spatially resolved ToF-SIMS, while XPS was used to quantify the molecular coverage. While the contrast after the DDP assembly step was shown to be distinct, both XPS and ToF-SIMS indicated that PLL-*g*-PEG adsorbed during the second assembly step to both the negatively charged  $\text{SiO}_2$  as well as, to a minor extent, to the  $\text{TiO}_2/\text{DDP}$  patches. However, the latter, nonspecifically and very weakly bound PLL-*g*-PEG was removed and replaced by protein molecules once the samples were exposed to solutions of single proteins or to serum-containing, cell-culture media, finally resulting in an excellent contrast on the protein level. In order to evaluate the homogeneity of the resulting pattern and to quantify the contrast on the protein level, fluorescently labeled streptavidin (SA) was adsorbed from solution and investigated by confocal laser scanning microscopy (CLSM). The SA contrast ratio of the  $\text{TiO}_2/\text{DDP}$  to the  $\text{SiO}_2/\text{PLL-}g\text{-PEG}$  areas was found to be at least 100:1. Judged by CSLM, the patterns were also found to be essentially free of defects across large areas such as whole wafers and to be highly reproducible from batch to batch. In collaboration with Jost Lussi (Insti-

---

tute for Biomedical Engineering, ETHZ), Human Foreskin Fibroblasts (HFFs) were seeded onto SMAP I surfaces to determine cell attachment and contrast, viability and the long term stability of the cell patterns. Cells were found to attach exclusively to the TiO<sub>2</sub>/DDP areas, were viable, and remained selectively immobilized on the patterns for periods of up to at least two weeks,

A second SMAP protocol (termed “SMAP II”) is based on exploiting an electrostatic contrast of the pre-patterned oxide surface and using both non-functionalized and bioligand-functionalized PLL-*g*-PEG. Again, pre-patterns of TiO<sub>2</sub> and SiO<sub>2</sub> were created by lithographic techniques. Due to the different isoelectric points of the two oxides, the local electrical charge varies across the surface pattern, depending on the pH of the electrolyte solution in contact with the surface. This concept was used to selectively assemble functionalized, “biointeractive” PLL-*g*-PEG on SiO<sub>2</sub> from low pH electrolytes, followed by a backfill with unfunctionalized PLL-*g*-PEG at higher pH, thus rendering the TiO<sub>2</sub> patches non-interactive. Resulting pattern quality and contrast was studied either by assembling labeled PLL-*g*-PEG/PEG-fluorescein or by studying the selective adsorption of fluorescently labeled SA onto SiO<sub>2</sub>/PLL-*g*-PEG/PEG-biotin//TiO<sub>2</sub>/PLL-*g*-PEG patterns. In comparison to SMAP I, SMAP II protocols are, however, still much less reliable and need further optimization.

Finally, the feasibility to extend the SMAP technique to the sub-micrometer scale was explored in two subprojects. To pre-pattern the substrate surface, both electron-beam lithography and colloidal lithography were used, the latter in a collaboration with Dr. Duncan Sutherland, Chalmers University of Technology, Göteborg, Sweden. While e-beam

---

## VI

lithography was used (in collaboration with Franck Robin, Institut für Feldtheorie und Höchstfrequenztechnik, ETHZ) to produce regular rectangular  $\text{TiO}_2$  patterns in a  $\text{SiO}_2$  background with width dimensions ranging from 800–100 nm and length dimensions of 5  $\mu\text{m}$ , colloidal lithography produced circular dots of 50–80 nm diameter of  $\text{TiO}_2$  within a  $\text{SiO}_2$  background. The  $\text{SiO}_2/\text{TiO}_2$  pre-patterns produced by e-beam lithography were characterized by imaging ToF-SIMS and AFM. This inorganic contrast was subsequently converted into chemical contrast using the SMAP I method, followed by adsorption of fluorescently labeled proteins and evaluation in the fluorescence microscope. Except for the artifact of larger-than-expected line widths as a consequence of the limited resolution of optical microscopy, the distribution of fluorescence intensity indicated satisfactory patterning accuracy, reproducibility, and signal-to-background values.

In a second nanoscale approach, positively charged colloidal particles of 107 nm diameter were assembled on wafers coated with  $\text{SiO}_2$  and  $\text{TiO}_2$ . Primary ion etching through this “colloidal mask” produced a non-regular array of  $\text{TiO}_2$  nanopillars with 50 nm diameter and 20 nm height in a background of  $\text{SiO}_2$ , separated by 200–300 nm. In order to investigate the feasibility of generating a contrast on the 50 nm scale, the SMAP I process was applied to the nanopatterned inorganic surface, followed by exposure to fluorescently labeled SA. The distribution of the labeled SA was investigated using Scanning Near-Field Optical Microscopy (SNOM, in collaboration with Christian Fokas, ETHZ, Department of Chemistry) with both topography and fluorescence detection mode. The results gave strong evidence that the topographical contrast indeed coincided with the fluorescence intensity contrast, implying that strepta-

---



---

vidin adsorbs only to the TiO<sub>2</sub>/DDP nanopillars and not to the protein-resistant SiO<sub>2</sub>/PLL-g-PEG background. Additional proof was provided by decorating the TiO<sub>2</sub>/DDP/SA areas with biotinylated liposomes of 100 nm diameter and subsequently detecting the immobilized liposomes topographically by contact-mode AFM. **VII**

In summary, selective assembly of multifunctional molecules in combination with established pre-patterning techniques proved to be a novel micro- to nano-patterning platform of great promise and a valuable addition to the toolbox of other chemical patterning techniques. Its main advantages are the simplicity in terms of the spontaneous adsorption of two kinds of molecules from aqueous solutions (governed by physico-chemical principles only), the gentleness of the immobilization of biomolecules or bioligands (without mechanical or photochemical action), the high contrast at both the protein and the cell level, the robustness and excellent batch-to-batch reproducibility, and the feasibility to pattern large areas in highest patterning quality.

The main disadvantage of SMAP I (and of most other established patterning techniques) is the fact that the adhesive contrast relies on non-specific protein adsorption to the hydrophobic patches and therefore does not easily provide a means of designing the adhesive area in terms of type, density and optimum conformation of the adhesion-mediating bioligands (proteins, peptides). However, higher hierarchies of SMAP architectures are feasible, as has been demonstrated with preliminary results based on the SMAP II technique. In fact, SMAP could develop into a rather general platform of producing designed biointerface architectures on pre-patterned substrates by exploiting different area-specific

---

**VIII** interactions based on chemical, electrostatic, hydrophobic-hydrophobic, and biospecific forces, all of which are interactive schemes used by nature for self-organization. Since we expect the concept of SMAP to be limited by the size of the used molecular assembly systems only, a great challenge for the future will be its extension to the  $< 10$  nm scale to produce single-protein arrays for single-molecule interaction and molecular-motor studies.

---

---

## ZUSAMMENFASSUNG

---

Im Gebiet der Biotechnologie ist die Erzeugung biochemischer Strukturen an Oberflächen, gekennzeichnet durch biologische, interaktive Bereiche auf einem inaktiven Hintergrund, von erheblicher Bedeutung. Das Interesse an solchen Mustern mit biologischer Relevanz umfasst eine Anzahl von gegenwärtigen und potentiellen Anwendungen, z.B. die Erzeugung von Modelloberflächen für grundlegende zellbiologische Studien, Bildung fokaler Kontakte, und cytoskeletale Organisation von Zellen sowie die gezielte Platzierung von einzelnen Molekülen zur Untersuchung molekularer Wechselwirkungen. Dementsprechend bewegen sich die Anforderungen an die Strukturgrößen zwischen 100  $\mu\text{m}$  (maximale Größe einer ausgebreiteten Zelle) und 10 nm (ungefähre Größe eines einzelnen Proteins). Verschiedene Technologien sind im Hinblick auf die Anforderungen des Biotechnologiegebietes entwickelt und angepasst worden. Zur Zeit verwendete Methoden haben Nachteile

---

X

in Bezug auf Robustheit, Reproduzierbarkeit, Kostengünstigkeit oder Anwendbarkeit in einem Industriellen Umfeld.

Diese Arbeit hat zwei Hauptaspekte: erstens die Anpassung einer bekannten Technik, Microcontact Printing, an neue molekulare Systeme und zweitens die Entwicklung einer neuen chemischen Strukturierungstechnik im Mikro- und Nanometerbereich, benannt Selective Molecular Assembly Patterning (SMAP). Die hergestellten Oberflächen wurden durch verschiedene oberflächenempfindliche Techniken untersucht und via Protein- und Zellstudien auf ihre Leistung hin beurteilt.

Microcontact printing ( $\mu$ cP), d.h. die Übertragung von Molekülen in einem Druckprozess unter Verwendung strukturierter Stempel, wurde in Verbindung mit einem polykationischen Copolymer, Poly-(L-lysine)-graft-poly(ethylene glykol) (PLL-g-PEG) erprobt. Zu diesem Zweck wurden Fibronectin, ein Protein mit zelladhäsiven Eigenschaften, oder PLL-g-PEG, funktionalisiert mit einer zelladhäsiven (-Arg-Gly-Asp)-Peptidsequenz (RGD), auf Tissue Culture Polystyrene (TCPS), TiO<sub>2</sub>-beschichtete und unbeschichtete Glaswafer gestempelt. Um die Qualität der resultierenden Strukturen zu überprüfen, wurde ein Fluoreszenzmarkiertes PLL-g-PEG-Fluorescein der PLL-g-PEG-RGD Lösung hinzugefügt, und die strukturierte Oberfläche via Fluoreszenzmikroskopie analysiert. Unfunktionalisiertes PLL-g-PEG wurde gebraucht, um die nicht-gestempelten Bereiche aufzufüllen und zu passivieren und sie protein- und zellresistent zu gestalten. Fibroblasten (d.h. Hautzellen) passten sich der strukturierten Muster an und reagierten nur auf die zelladhäsiven Bereiche. Relative Transfer-Raten, (d.h. das Verhältnis von gestempelten zu lösungsadsorbierten PLL-g-PEG bzw. PLL-g-PEG-Fluorescein), wurden mit nicht-strukturierten PDMS-Stempeln nachge-

---

---

forscht. Die resultierenden Oberflächen wurden analytisch mit Röntgen-Photoelektronenspektroskopie (X-ray photoelectron spectroscopy, XPS) untersucht. Diese wurden dann mit den unbeschichteten und PLL-g-PEG sowie PLL-g-PEG-Fluoreszein lösungsadsorbierten Oberflächen verglichen. Die Transfer-Raten für PLL-g-PEG waren im Bereich von 30-75% und abhängig von der Länge der PEG-Kette. Längere PEG-Ketten verursachten niedrigere Transfer-Raten. Diese Beobachtung kann mit sterischer Behinderung durch die gepfropften (grafted) PEG-Ketten erklärt werden, da diese die Ausbildung elektrostatischer Wechselwirkungen zwischen dem positiv geladenen Polylysine-Rückgrat und der negativ geladenen  $\text{TiO}_2$  Oberfläche erschweren. XI

Der zweite Teil beschreibt die Entwicklung einer neuen Strukturierungstechnologie: SMAP basiert auf der chemoselektiven Adsorption organischer multifunktionaler Moleküle auf vorstrukturierten Oxid-Substraten. Diese neue Strukturierungstechnik wurde auf Basis zweier unterschiedlicher selektiver molekularer Adsorptionsprozesse und dreier lithographischer Vorstrukturierungstechniken entwickelt.

Strukturen mit  $\text{TiO}_2$ -Bereichen auf einem Hintergrund von  $\text{SiO}_2$ , wurden auf Silizium- und Glas-Plättchen produziert, die mit einer 100 nm  $\text{TiO}_2$  Zwischenschicht und einer 12 nm dicken  $\text{SiO}_2$ -Schicht beschichtet waren. Bereiche von  $\text{SiO}_2$  wurden mit Standardphotoresist und reaktiver Ionenätzung in die  $\text{TiO}_2$  Schicht geätzt. Die Ätzkinetik, die für die Herstellung der anorganischen 2D Strukturen mit möglichst wenig topographischem Kontrast wichtig ist, wurde durch Rasterkraftmikroskopie (Atomic Force Microscopy, AFM), die Qualität des Metalloxid-

---

- XII** Kontrastes durch Flugzeit-Sekundärionen-Massenspektrometrie (Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry, ToF-SIMS) untersucht.
- SMAP via chemisch selektiven Kontrast ("SMAP I") basiert auf der Tatsache, dass Dodecylphosphat (DDP) in wässriger Lösung auf  $\text{TiO}_2$  und anderen Metalloxidoberflächen selbstorganisierende Monolagen (self-assembled monolayers, SAMs) bildet, jedoch nicht auf  $\text{SiO}_2$ . Vorstrukturierte Oberflächen mit  $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$ -Kontrast wurden benutzt, um DDP-nanoschichten auf den  $\text{TiO}_2$ -Bereichen zu bilden, die dadurch in hohem Grade hydrophobisiert werden, während  $\text{SiO}_2$  unverändert bleibt und in einem nächsten Schritt durch Adsorption von PLL-g-PEG in proteinresistente Bereiche umgewandelt werden kann. Die Selektivität der zwei Adsorptionsprozesse (genannt Kontrast) wurde qualitativ durch flächenauflösendes ToF-SIMS untersucht, während XPS verwendet wurde, um die Adsorptionsprozesse quantitativ zu bestimmen. Während der Kontrast nach der DDP-Adsorption eindeutig ist, zeigten XPS und ToF-SIMS, dass das polykationische PLL-g-PEG während der Adsorption sowohl auf den negativ geladenen  $\text{SiO}_2$ -Oberflächen als auch zum Teil auf den hydrophoben  $\text{TiO}_2/\text{DDP}$ -Bereichen adsorbiert wurde. Im nächsten Schritt aber wurde das nichtspezifisch und sehr schwach gebundene PLL-g-PEG durch die Proteinmoleküle entfernt und ersetzt, sobald die Proben einer Proteinlösung und der Zellkultur ausgesetzt wurden, was schliesslich in einem ausgeprägten Kontrast auf dem Protein- und Zelniveau resultierte. Um die Homogenität der resultierenden Strukturen zu erforschen und den Kontrast auf dem Proteinniveau quantitativ zu bestimmen, wurde Fluoreszenz-markiertes Streptavidin (SA) aus Lösung absorbiert und mit Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM) gemessen. Das SA Kontrastverhältnis zwischen den  $\text{TiO}_2/$
-

---

DDP- und den SiO<sub>2</sub>/PLL-g-PEG-Bereichen betrug mindestens 100:1. **XIII** Strukturen sind frei von grösseren Defekten und in hohem Grade reproduzierbar. Gemeinsam mit Jost Lussi (Institut für Biomedizinische Technik, ETHZ), wurden Human Foreskin Fibroblasten (HFFs) auf SMAP I Oberflächen gebracht, um Zellhaftung, Kontrast, Vitalität und Langzeitstabilität zu testen. Zellen wurden ausschließlich auf TiO<sub>2</sub>/DDP-Bereichen gefunden und überlebten für mindestens zwei Wochen.

Ein zweites SMAP-Protokoll ("SMAP II") basiert auf der Ausnutzung des elektrostatischen Kontrastes der vorstrukturierten Oxidoberflächen und der Verwendung von nicht-funktionalisiertem und funktionalisiertem PLL-g-PEG. Wieder wurden vorstrukturierte Proben von TiO<sub>2</sub> und SiO<sub>2</sub> durch lithographische Techniken hergestellt. Wegen der unterschiedlichen isoelektrischen Punkte der zwei Oxide unterscheidet sich die lokale elektrische Aufladung. Sie ist abhängig vom pH der Elektrolytlösung, die im Kontakt mit der Oberfläche steht. Dieses Konzept wurde verwendet, um selektiv funktionalisiertes PLL-g-PEG auf SiO<sub>2</sub> aus einem Puffer mit niedrigem pH zu adsorbieren, gefolgt von der Adsorption von unfunktionalisiertem PLL-g-PEG bei neutralem pH, um die unbesetzten TiO<sub>2</sub>-Gebiete aufzufüllen. Die daraus resultierende Strukturqualität und der Kontrast wurden via PLL-g-PEG-Fluoreszein oder Fluoreszent-markiertes SA auf SiO<sub>2</sub>/PLL-g-PEG-biotin//TiO<sub>2</sub>/PLL-g-PEG Strukturen überprüft. Im Vergleich zu SMAP I sind die SMAP II-Protokolle noch weniger zuverlässig und eine Optimierung ist notwendig, um die Leistungsfähigkeit zu erhöhen.

Schliesslich wurde die Möglichkeit, die SMAP-Technik in den Submikrometerbereich zu erweitern, in zwei verschiedenen Studien untersucht. Vorstrukturierte Oxid-Oberflächen wurden via Elektronenstrahl-

---

**XIV** Lithographie und kolloidale Lithographie hergestellt, die letztere in einer Zusammenarbeit mit Dr. Duncan Sutherland, Chalmers Universität, Göteborg, Schweden. Mittels Elektronenstrahl-Lithographie (in Zusammenarbeit mit Franck Robin, Institut für Feldtheorie und Höchstfrequenztechnik, ETHZ) wurden rechteckige  $\text{TiO}_2$ -Muster von 800-100 nm Breite und 5  $\mu\text{m}$  Länge mit  $\text{SiO}_2$ -Hintergrund gefertigt, mittels kolloidaler Lithographie kreisförmige  $\text{TiO}_2$ -Gebiete von 50-80 nm Durchmesser auf einem  $\text{SiO}_2$ -Hintergrund. Charakterisiert wurden die Elektronenstrahl-Lithographie Proben durch ToF-SIMS und AFM. Dieser anorganische Kontrast wurde anschliessend in einen chemischen Kontrast mit der SMAP I Methode umgewandelt, gefolgt von der Adsorption von fluoreszent markierten Proteinen und der Auswertung im Fluoreszenzmikroskop. Mit Ausnahme von grösser-als-erwarteten Linienbreiten als Folge der begrenzten Auflösung der optischen Mikroskopie, zeigte die Verteilung der Fluoreszenzintensität, dass die Strukturen genau und reproduzierbar sind sowie ein gutes Signal/Hintergrund Verhältnis aufweisen.

In einer zweiten Untersuchung wurden positiv geladene kolloidale Partikel mit 107 nm Durchmesser auf Wafer-Oberflächen adsorbiert, die vorgängig mit  $\text{SiO}_2$  und  $\text{TiO}_2$  beschichtet wurden. Argon-Ionenätzung durch diese kolloidale Schicht produzierte eine nicht-regelmäßige Struktur von Nanosäulen aus  $\text{TiO}_2$  mit 12-20 nm Höhe und 20-50 nm Durchmesser, getrennt durch 200-300 nm in einem Hintergrund von  $\text{SiO}_2$ . Um die Möglichkeit des Erzeugens eines Kontrastes auf der 50 nm Skala zu erforschen, wurde der SMAP I Prozess auf diesen vorstrukturierten Oberflächen angewendet, gefolgt von Fluoreszent-markiertem SA. Die Verteilung des markierten SA wurde mit Scanning Near-Field Opti-

---



---

cal Microscopy (SNOM, gemeinsam mit Christian Fokas, ETHZ, **XV** Department Chemie) bezüglich Topographie und Fluoreszenzintensität charakterisiert. Die Resultate gaben einen klaren Beweis dafür, dass der topographische Kontrast in der Tat mit dem Fluoreszenzintensitätskontrast übereinstimmte und dass SA nur auf den  $\text{TiO}_2$ /DDP Nanosäulen und nicht auf dem Protein-beständigen  $\text{SiO}_2$ /PLL-g-PEG Hintergrund adsorbiert. Einen zusätzlichen Beweis wurde dadurch erbracht, dass die  $\text{TiO}_2$ /DDP/SA Bereiche mit biotin-markierten Liposomen von 100 nm Durchmessers dekorierte und topographisch mittels AFM analysiert wurden.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass SMAP als Kombination neuartiger Methoden mit etablierten Strukturierungsmethoden eine neue Plattform für die mikro- und nanochemische Strukturierungen darstellt. Die Hauptvorteile ergeben sich durch die einfache, spontane Adsorption von zwei Molekülarten aus wässriger Lösung (diktiert durch physikalisch-chemische Grundprinzipien), die schonende Immobilisierung der Biomoleküle oder Bioliganden (ohne mechanische oder photochemische Aktivität), dem hohen Kontrast auf dem Protein- und Zell-Niveau, die Robustheit, die ausgezeichnete Reproduzierbarkeit, sowie der Möglichkeit, große Bereiche in höchster Qualität chemisch und biochemisch zu strukturieren.

Der Hauptnachteil von SMAP I (und anderer bekannter Strukturierungstechniken) ist die Tatsache, dass der Kontrast auf unspezifischer Proteinadsorption auf den hydrophoben Gebieten beruht und keine perfekte Kontrolle über die Art-, Dichte- und optimale Konformation der Bioliganden (Proteine, Peptide) erlaubt. Höhere Hierarchien der SMAP

---

**XVI** Architektur die diese Möglichkeit bieten, sind jedoch grundsätzlich realisierbar, wie in anhand erster, vorläufiger Resultate demonstriert wurde. Tatsächlich könnte sich SMAP zu einer allgemeinen Plattform für die Produktion biologisch designter Oberflächen entwickeln, unter Nutzung ortsspezifischer, chemischer-, elektrostatischer-, oder hydrophob-hydrophober Wechselwirkungen basieren, ähnlich derjenigen, welche die Natur für die Selbstorganization von Strukturen nutzt. Da die laterale Auflösung von SMAP vermutlich nur durch die Grösse der benutzten molekularen Adsorptionssysteme bestimmt wird, eröffnet sich die Möglichkeit, in der Zukunft Strukturen von  $< 10$  nm lateraler Auflösung zu produzieren, welche für die Anordnung von Einzelmolekülen zum Studium molekularer Wechselwirkungen oder zur Fertigung molekularer Motoren Verwendung finden könnten.

---