

Multifunktionale Mikrogel-DNA-Hybridsysteme

Von der Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften der RWTH Aachen University zur Erlangung des akademischen Grades einer Doktorin der Naturwissenschaften genehmigte Dissertation

vorgelegt von

Master of Science

Rebecca Hengsbach

aus Mönchengladbach

Berichter:

Universitätsprofessor Dr. rer. nat. Ulrich Simon

Universitätsprofessor Dr. rer. nat. Dominik Wöll

Tag der mündlichen Prüfung: 06.06.2023

Diese Dissertation ist auf den Internetseiten der Universitätsbibliothek online verfügbar.

Eidesstattliche Erklärung

Rebecca Hengsbach erklärt hiermit, dass diese Dissertation und die darin dargelegten Inhalte die eigenen sind und selbstständig, als Ergebnis der eigenen originären Forschung, generiert wurden.

Hiermit erkläre ich an Eides statt

1. Diese Arbeit wurde vollständig oder größtenteils in der Phase als Doktorand dieser Fakultät und Universität angefertigt;
2. Sofern irgendein Bestandteil dieser Dissertation zuvor für einen akademischen Abschluss oder eine andere Qualifikation an dieser oder einer anderen Institution verwendet wurde, wurde dies klar angezeigt;
3. Wenn immer andere eigene- oder Veröffentlichungen Dritter herangezogen wurden, wurden diese klar benannt;
4. Wenn aus anderen eigenen- oder Veröffentlichungen Dritter zitiert wurde, wurde stets die Quelle hierfür angegeben. Diese Dissertation ist vollständig meine eigene Arbeit, mit der Ausnahme solcher Zitate;
5. Alle wesentlichen Quellen von Unterstützung wurden benannt;
6. Wenn immer ein Teil dieser Dissertation auf der Zusammenarbeit mit anderen basiert, wurde von mir klar gekennzeichnet, was von anderen und was von mir selbst erarbeitet wurde;
7. Ein Teil dieser Arbeit wurden zuvor veröffentlicht, und zwar in:
 - R. Hengsbach, G. Fink, U. Simon: NMR investigations on the salt dependent volume phase transition of DNA-modified pNipmam microgels (Poster) 3rd International Summer School, 19.-22. September 2022, Monschau, Deutschland

Datum, Unterschrift

Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden multifunktionale Mikrogele-DNA-Hybridsysteme hergestellt und untersucht. Die kovalente Bindung von DNA in Mikrogele führte zu einer Kombination der Eigenschaften, welche in biomedizinischen Anwendungen von großem Interesse ist.

Im ersten Teil dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass das Einbringen der DNA in die Mikrogele zu einem veränderten Volumenphasenübergang führt, welcher mittels NMR-Untersuchungen analysiert wurde. Im Hinblick auf biomedizinische Anwendungen wurde der Phasenübergang in verschiedenen Konzentrationen an NaCl sowie in PBS untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass der Phasenübergang in PBS im Bereich der Körpertemperatur liegt.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde eine regioselektive DNA-Funktionalisierung der Mikrogele im Inneren untersucht. Hierfür wurden Kern-Schale-Mikrogele hergestellt, bei denen die Kerne Disulfide enthielten, welche für die Funktionalisierung genutzt werden konnten. Eine Anpassung der Schalendicke wurde durch Variation der Synthese erzielt. Die Lokalisierung der Disulfide wurde mittels dSTORM gezeigt und die Lokalisierung der DNA-Funktionalisierung mittels DNA-PAINT nachgewiesen. In beiden Fällen konnte eine Lokalisierung der Farbstoffe im Inneren der Mikrogele gezeigt werden, welche jedoch nicht ausschließlich auf den Kern begrenzt war.

Im dritten Teil der Arbeit wurden Substrate entwickelt, auf denen die gerichtete Immobilisierung DNA-funktionalisierter Mikrogele in ihrer nativen Struktur erfolgen sollte. Es wurden kommerziell erhältliche und eigene ITO-Substrate verglichen und eine Oberflächenfunktionalisierung mit 2-(4-Chlorosulfonylphenyl)-Ethyltrimethoxysilan sowie eine oberflächengebundene Synthese eines vergleichbaren Silan-Derivates durchgeführt. Die Herstellung der ITO-Substrate sowie die oberflächengebundene Synthese des Silan-Derivates sollten optimiert werden und zeigten gute Ergebnisse. Eine lokale Farbstoffmarkierung innerhalb von Mustern, die über chemische Elektronenstrahlolithografie vorgegeben wurden, war teilweise möglich. Eine gerichtete Immobilisierung der Mikrogele konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht erreicht werden.

Abstract

Within this work multifunctional microgel-DNA-hybrid systems were created and investigated. The covalent binding of DNA inside of microgels leads to a combination of their properties which is of great interest regarding biomedical application.

The first part of this work showed a changed volume phase transition of microgels by incorporation of the DNA. This was analyzed by NMR measurements. Regarding biomedical applications the phase transition was examined in different concentrations of NaCl as well as in PBS. It was shown that the phase transition is around body temperature in PBS.

In the second part of this work a regioselective DNA functionalization of microgels in the inside was examined. For this core-shell microgels were created. The core microgels did contain disulfides, which were used for the DNA functionalization. An adjustment of the thickness of the shell was achieved by variation of the synthesis. The localization of the disulfides was shown via dSTORM and the localization of the DNA functionalization was examined via DNA-PAINT. In both cases a localization of the dyes was shown in the inner parts of the microgels but not restricted to the core only.

In the third part of this work substrates for a targeted immobilization of DNA functionalized microgels in their native structure were developed. Commercially available and own ITO substrates were compared and 2-(4-chlorosulfonylphenyle)ethyltrimethoxy-silane as well as a comparable silane-derivate synthesized at the surface were used. The production of ITO substrates and the surface bound synthesis of the silane-derivate should have been optimized and showed nice results. A localized labeling with dyes inside of a pattern produced via chemical electron beam lithography was partially successful.

Inhalt

1	Einleitung.....	1
2	Grundlagen.....	4
2.1	Mikrogele.....	4
2.1.1	Volumenphasenübergangstemperatur.....	4
2.1.2	Deformierbarkeit von Mikrogelen	5
2.1.3	Größenbestimmung von Mikrogelen	6
2.1.4	Synthese von Mikrogelen.....	8
2.1.5	Anwendung von Mikrogelen.....	9
2.2	DNA.....	11
2.3	Mikrogel-DNA-Hybridsysteme	12
2.4	NMR	14
2.5	Fluoreszenzmikroskopie.....	15
2.6	Chemische Elektronenstrahlolithografie	16
3	Experimenteller Teil.....	18
3.1	Materialien und Methoden	18
3.2	Synthese der Mikrogele.....	21
3.3	Synthese der Kern-Schale-Mikrogele.....	22
3.4	Funktionalisierung der Mikrogele.....	22
3.5	Hybridisierung der DNA in Mikrogelen.....	23
3.6	Synthese von citratstabilisierten Goldpartikeln	23
3.7	Beschichtung der Substrate mit ITO.....	23
3.8	Silanisierung der Substrate	23
3.8.1	Silanisierung mit 2-(4-Chlorosulfonylphenyl)-ethyltrichlorosilan.....	23
3.8.2	Synthese von Silan-Derivaten und Silanisierung mit synthetisierten Silan-Derivaten	24
3.8.3	Silanisierung durch stufenweisen Aufbau des Silan-Derivates an der Oberfläche.....	24
3.9	Funktionalisierung der Substrate.....	24
3.10	Abscheidung von Goldpartikeln auf Substraten	25
4	Ergebnisse und Diskussionen	26
4.1	Untersuchungen der salzabhängigen T_{VPT} von Mikrogelen mittels NMR	26

4.1.1	Charakterisierung der modifizierten Mikrogele	27
4.1.2	NMR-Untersuchungen der modifizierten Mikrogele bei angepassten Salzkonzentrationen	32
4.2	Kern-Schale-Mikrogele mit regioselektiven Funktionalitäten	44
4.2.1	Charakterisierung der Kern- und Kern-Schale-Mikrogele	45
4.2.2	Regioselektive Funktionalisierung der Kern-Schale-Mikrogele	51
4.3	Oberflächenpräparation zur gezielten Mikrogel-Immobilisierung	58
4.3.1	Herstellung und Optimierung der ITO-Oberfläche.....	59
4.3.2	Optimierung der Oberflächenfunktionalisierung der ITO-Oberflächen ..	63
5	Zusammenfassung und Ausblick.....	80
6	Anhang	82
7	Abkürzungsverzeichnis.....	110
8	Abbildungsverzeichnis.....	112
9	Tabellenverzeichnis.....	124
10	Literaturverzeichnis.....	126
11	Publikationen	139
11.1	Veröffentlichungen	139
11.2	Konferenzbeiträge	139
12	Danksagung.....	140
13	Lebenslauf	141

1 Einleitung

Mikrogele (μG) sind quervernetzte Polymere mit einer Größe im Nanometer- oder Mikrometerbereich.¹ Abhängig von den äußeren Bedingungen wie Temperatur oder pH-Wert ändert sich, aufgrund veränderter Wechselwirkungen mit dem Lösungsmittel, ihre Größe während eines Volumenphasenübergangs. Hierbei können Lösungsmittel und auch aufgenommene Moleküle durch einen Kollaps der μG freigesetzt werden.¹⁻⁴ Die Wahl der Monomere beeinflusst diesen Phasenübergang und bestimmt die Biokompatibilität der Systeme. Die Freisetzung eingelagerter Moleküle in Abhängigkeit äußerer Stimuli und die Biokompatibilität machen μG interessant für biomedizinische Anwendungen wie zum Beispiel Wirkstofftransport.⁵

Funktionelle Mikrogele und Mikrogelsysteme werden im, von der Deutschen Forschungsgemeinschaft, finanzierten Sonderforschungsbereich (SFB) 985 untersucht, in dessen Kontext diese Arbeit entstanden ist. Der SFB vereint verschiedene Disziplinen wodurch eine Forschung sowohl auf Grundlagen- als auch auf Anwendungsniveau ermöglicht wird. Einerseits werden neue funktionelle Mikrogele entwickelt und analysiert, andererseits werden Modelle entwickelt, um das Verhalten von μG quantitativ zu beschreiben und simulieren. Dadurch ergibt sich die Möglichkeit Systeme gezielt für bestimmte Anwendungen zu entwickeln.⁶ Diese Arbeit lässt sich innerhalb des SFB in die Projekte einsortieren, welche sich mit der Entwicklung neuer μG -Systeme und der Analyse deren Eigenschaften beschäftigt.

Durch die Kombination von μG mit DNA lassen sich Hybridsysteme erstellen, die die jeweiligen Eigenschaften kombinieren. Die DNA bietet hierbei die Möglichkeit der reversiblen Bindung über Hybridisierung. Über die Basensequenz der DNA-Stränge und der Länge bietet sich die Möglichkeit die Hybridisierung und Dehybridisierung zu programmieren, sodass beispielsweise eine Freisetzung bei einer bestimmten Temperatur möglich wird.⁷⁻⁹ Das μG kann in biologischen Medien zudem zum Schutz der DNA vor Abbau durch Nukleasen dienen.⁵⁻⁷

μG -DNA-Hybridsysteme können über elektrostatische Wechselwirkungen oder kovalente Bindungen gebildet werden und aufgrund ihrer geringen Größe biologische Barrieren überwinden.¹⁰ Kationische μG wurden zum Beispiel für einen potentiellen Einsatz in Polymeren von Kontaktlinsen als Wirkstoffreservoir über Elektrostatik mit DNA beladen.¹¹ Über DNA können auch weitere Wirkstoffe, wie Doxorubicin oder Metallnanopartikel, in μG gebunden werden. Hierdurch können Systeme für optische Temperatursensoren, chemophotothermale Behandlungen oder die Bindung an zum Beispiel Krebszellen sowie eine Kombination dessen ermöglicht werden.^{5, 12} Durch die Möglichkeit der orthogonalen Funktionalisierung sowie der lokalisierten Modifizierungen können Therapie und Diagnostik in einem System vereint und theranostisch wirksame Systeme erhalten werden.⁵

Ein großer Vorteil von responsiven Wirkstofftransportsystemen ist hierbei, dass durch den Wirkstoff verursachte Nebenwirkungen minimiert werden können. Durch die gezielte Freisetzung des Wirkstoffs am Zielort reichen geringere Mengen aus und die Wirkung wird lokal begrenzt. Zudem besteht die Möglichkeit, die Freisetzung so zu steuern, dass über längere Zeiträume eine Dosis freigesetzt wird, welche effektiv jedoch nicht toxisch ist.^{13, 14} Herausforderungen bei der Verwendung als Wirkstofftransportsysteme ergeben sich bei der Bioabbaubarkeit der Systeme und der Ausscheidung aus dem Körper. Die μ G können einerseits so synthetisiert werden, dass sie im Körper abgebaut werden und nur die Abbauprodukte ausgeschieden werden müssen oder aber so, dass die μ G im Ganzen ausgeschieden werden können. Im beiden Fällen muss jedoch sichergestellt werden, dass keine Akkumulation im Körper stattfindet.¹⁰ Zudem ist bislang weder die aktive Akkumulation der μ G am Zielort beispielsweise über Ankermoleküle noch die passive Akkumulation über den Effekt der erhöhten Permeabilität und Retention in Tumorgewebe ausreichend kontrolliert.^{10, 27}

In dieser Arbeit wurden multifunktionale Mikrogel-DNA-Hybridsysteme hinsichtlich ihres Volumenphasenübergangs und einer lokalisierten Funktionalisierung untersucht. Zudem sollten Oberflächen entwickelt werden, an denen eine gerichtete Immobilisierung in der nativen Struktur der μ G möglich ist.

Der Volumenphasenübergang der μ G ist von verschiedenen Faktoren, wie der Zusammensetzung der μ G und des Lösungsmittels abhängig. Im Hinblick auf biomedizinische Anwendungen, wie Wirkstofftransportsysteme, ergeben sich somit Abweichungen vom Volumenphasenübergang der μ G in beispielsweise Reinstwasser. NMR-Untersuchungen erlauben eine Analyse auf molekularer Ebene, bei der eventuell auftretende Aggregation keinen Einfluss hat. Zudem erlaubt die Ermittlung thermodynamischer Größen des Phasenübergangs einen quantitativen Vergleich unterschiedlicher Systeme. Die Untersuchungen in phosphatgepufferten Salzlösungen (PBS) erlauben eine erste Abschätzung des Verhaltens unter physiologischen Bedingungen. Daher wurden sowohl das μ G als auch das DNA funktionalisierte μ G zusätzlich zu grundlegender Analytik in Abhängigkeit der Temperatur mittels NMR in Reinstwasser, NaCl-Lösungen und PBS analysiert.

Eine regioselektive Funktionalisierung der μ G mit DNA sollte durch die Verwendung von Kern-Schale- μ G umgesetzt werden. Die Kerne enthielten hierbei Disulfide, welche für die DNA-Funktionalisierung verwendet wurden, während die Schale mit ansonsten gleicher Zusammensetzung keine Disulfide enthielt. Hierdurch kann einerseits die DNA, beziehungsweise allgemeiner eingelagerte Moleküle, durch das μ G geschützt werden und andererseits kann die Schale für weitere Funktionalisierungen genutzt werden. Zudem erlaubt die Einbindung von Farbstoffen im Inneren der μ G und deren kontrollierte Freisetzung eine Untersuchung der Diffusion im Inneren von μ G mittels Fluoreszenzmikroskopie. Die synthetisierten Systeme wurden im getrockneten Zustand mittels Elektronenmikroskopie sowie Rasterkraftmikroskopie untersucht und im dispergierten Zustand mittels dynamischer Lichtstreuung. Zudem wurde die Regioselektivität der Funktionalisierung mittels Fluoreszenzmikroskopie überprüft.

Die gerichtete Anbindung von DNA-funktionalisierten μG auf Oberflächen sollte über Strukturierung der Oberflächen mittels chemischer Elektronenstrahlolithografie erfolgen. Hierdurch sollte eine Hintergrundfunktionalisierung der Substrate ermöglicht werden, um die Wechselwirkungen zwischen μG und Oberfläche zu kontrollieren. Es wurden ITO-Substrate verwendet welche elektrisch leitend und zugleich optisch transparent sind um Aufladungseffekte während der Elektronenstrahlolithographie zu vermeiden und Untersuchungen mittels optischer Mikroskopie zu ermöglichen. Selbstassemblierte Monolagen erlaubten eine lokale Umsetzung und somit die Strukturierung der Oberflächen, welche im Rahmen dieser Arbeit gezeigt wurde.

2 Grundlagen

2.1 Mikrogele

Mikrogele (μG) sind 3D-vernetzte Polymer-Strukturen, welche in guten Dispersionsmitteln gequollen vorliegen. Durch externe Stimuli, wie Temperatur- oder pH-Wert-Änderungen, vollziehen sie einen reversiblen Phasenübergang mit Freisetzung des Lösungsmittels.¹⁻⁴ Durch die geringe Größe von 50 nm bis 5 μm ¹ verläuft der Phasenübergang der μG deutlich schneller als bei den größeren Hydrogelen, welche bereits Anwendung in biomedizinischen Bereichen finden.^{10, 15} μG sind zudem durch ihre hohe Permeabilität, Flexibilität sowie Grenzflächenaktivität und große spezifische Oberfläche gekennzeichnet, wodurch sich vielfältige Anwendungsmöglichkeiten ergeben.² Durch ihre Permeabilität und Flexibilität zeigen μG im gequollenen Zustand keine scharfen Grenzflächen zum Dispersionsmedium.¹⁶ Für poly-N-isopropylacrylamid (pNipam)-basierte μG wurden die Wasseranteile im Polymernetzwerk im gequollenen Zustand auf 90% und im kollabierten Zustand auf 30 % bestimmt.¹⁷ Auch im kollabierten Zustand verbleibt ein Teil des Dispersionsmittels im Polymernetzwerk. In diesem Zustand zeigen die μG aber durch ein steiferes Netzwerk und eine ausgeprägtere Oberfläche mehr Ähnlichkeiten zu harten Kolloiden.³ Durch die starke Änderung ihrer Eigenschaften in der Nähe der Volumenphasenübergangstemperatur (T_{VPT}) können μG als Zwischenstufe zwischen Flüssigkeit und Feststoff angesehen werden, wobei die jeweiligen Eigenschaften von den Bestandteilen des Polymernetzwerkes bestimmt werden und durch Monomere sowie Vernetzeranteil gesteuert werden können.¹⁸

2.1.1 Volumenphasenübergangstemperatur

Die T_{VPT} wird durch die Wechselwirkungen zwischen μG und Dispersionsmedium bestimmt. An der T_{VPT} kommt es zur Ausbildung unpolarer, intermolekularer Wechselwirkungen, welche die hydrophilen Wechselwirkungen unterhalb der T_{VPT} ablösen. Dadurch resultiert eine Freisetzung des Wassers aus dem μG und damit einhergehend der Kollaps des μG .¹⁹⁻²³ Die Bestimmung der T_{VPT} ist beispielsweise über Messungen der hydrodynamischen Durchmesser (d_h) der μG in Abhängigkeit der Temperatur (T) möglich, bei denen der Wendepunkt der Kurve sich aus der Auftragung von d_h über T ergibt, die in Abb. 1 als T_{VPT} dargestellt ist.^{21, 24}

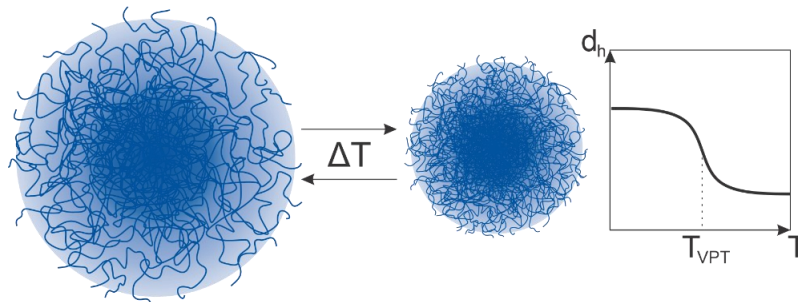


Abb. 1: Schematische Darstellung des Kollapses von μG an der T_{VPT} mit hydrodynamischem Durchmesser in Abhängigkeit der Temperatur.

Die T_{VPT} lässt sich durch verschiedene Parameter sowie die Wahl des Monomers steuern. Die T_{VPT} von pNipam- basierten μG liegt bei $34\text{ }^{\circ}\text{C}$,²¹ wohingegen der Phasenübergang von poly-N-isopropylmethacrylamid (pNipmam)- μG bei $42\text{--}44\text{ }^{\circ}\text{C}$ ^{21, 24-29} auftritt. Bei einer Kombination der Monomere lässt sich die T_{VPT} gezielt anpassen und für Hyperthermie-Anwendungen beispielsweise auf $39\text{ }^{\circ}\text{C}$ verschieben.³⁰ Durch die Verwendung deuterierter Monomere oder Lösungsmittel können aufgrund der veränderten Wechselwirkungen zwischen μG und Lösungsmittel Verschiebungen des Phasenübergangs auftreten. So führt beispielsweise die Verwendung von D_2O als Dispersionsmedium von pNipmam- basierten μG zu einer Erniedrigung der T_{VPT} um $0,3\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufgrund schwächerer Wasserstoffbrückenbindungen zum Polymer.²¹ Auch durch die Zugabe von Salzen werden die Wechselwirkungen zwischen Dispersionsmedium und Polymernetzwerk verändert, sodass der Phasenübergang zu niedrigeren Temperaturen verschoben wird und es zum sogenannten Aussalzen kommen kann.^{24, 31-33} Durch Dispersion in $0,5\text{ M NaNO}_3$ wurde die T_{VPT} von pNipam beispielsweise um $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ gesenkt.³³ Die T_{VPT} von pNipmam- basierten μG wurde durch Dispersion in 1 M NaCl um $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ gesenkt.²⁴ Der Vergleich der T_{VPT} der μG basierend auf diesen beiden Monomeren zeigt, dass nicht allein die Hydrophobie der Monomere den Phasenübergang bestimmt, da die zusätzliche Methylgruppe in N-isopropylmethacrylamid (Nipmam) zu einer Erhöhung der T_{VPT} führt. Dies kann durch die verringerte Flexibilität der Polymerketten erklärt werden, wodurch die Entropie des Systems die gesteigerte Hydrophobie kompensiert.^{34, 35} Anders als die Monomere, beeinflusst der Vernetzeranteil nicht die Lage des Phasenübergangs, sondern dessen Breite, das heißt, den Temperaturbereich. Ein hoher Vernetzeranteil führt zu breiteren Phasenübergängen und geringeren Unterschieden der d_h im kollabierten und gequollenen Zustand aufgrund von geringerer Elastizität und höheren Anteilen nicht responsiven Polymers.^{18, 21, 36, 37}

2.1.2 Deformierbarkeit von Mikrogelen

Der Vernetzeranteil und somit die Elastizität der μG beeinflusst zudem die Deformierbarkeit sowie die Interpenetration der μG in direkter Nachbarschaft. Im Gegensatz zu harten Kolloiden besteht bei μG in hohen Konzentrationen die Möglichkeit der gegenseitigen Interpenetration sowie der Deformierung (Abb. 2).⁴

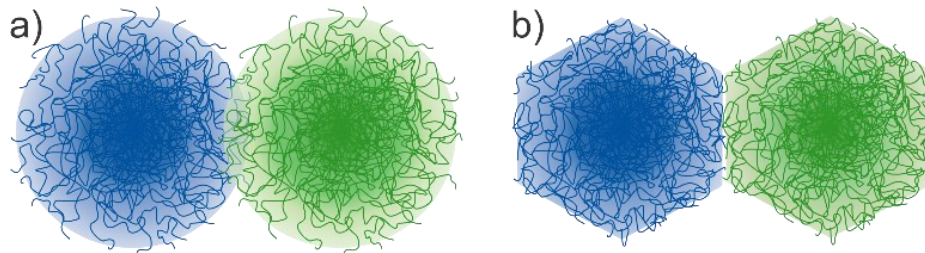


Abb. 2: Schematische Darstellung der Interpenetration (a) und Deformierung (b) dicht gepackter μG .

Zusätzlich zeigen μG eine Deformation an Grenzflächen, welche vom Material und der Elastizität der μG abhängt, sowie den jeweiligen Grenzflächen.¹⁷ μG mit geringerem Anteil an Vernetzer sind deformierbarer und spreiten stärker auf Grenzflächen.³ Durch die Anlagerung der μG an Grenzflächen wird die Oberflächenenergie minimiert, wobei abhängig, von den Wechselwirkungen, eine Spiegelei-ähnliche Struktur ausgebildet werden kann (Abb. 3).^{4, 24, 38, 39}

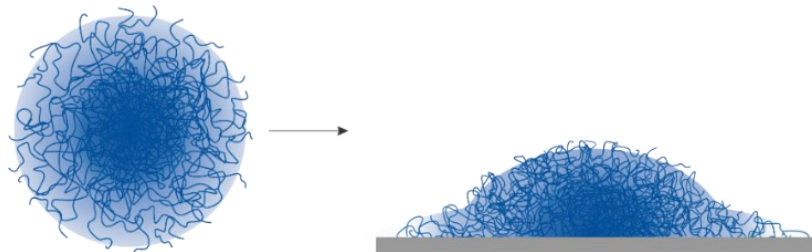


Abb. 3: Schematische Darstellung der Deformation von μG an Oberflächen.

Die Deformation der μG wird bestimmt durch ein Gleichgewicht zwischen Elastizität und Adhäsionsenergie,¹⁶ so zeigen μG mit radialer Vernetzerverteilung eine ausgeprägtere Deformation in der Peripherie.²⁰ Hydrophile μG zeigen geringere Deformation auf Oberflächen, die mit Polyethylenglykol (PEG) beschichtet wurden.³⁸ Die Ausbreitung der μG parallel zu einer Oberfläche geht einher mit einer Kompression orthogonal zu dieser und einer Einschränkung der Stimuliresponsivität.^{37, 39} Eine Adsorption der μG im kollabierten Zustand führt aufgrund der geringeren Flexibilität zu weniger ausgeprägter Deformation.¹ Abhängig von der Konzentration der Mikrogele bilden sie zufällige oder hexagonale Strukturen.⁴⁰

2.1.3 Größenbestimmung von Mikrogelelen

Durch die hohe Komplexität und Flexibilität der μG ist die Kombination verschiedener Charakterisierungsmethoden für eine vollständige Analyse der Größe von μG im gequollenen und kollabierten Zustand sowie auf Oberflächen notwendig.^{41, 42} Die Eigenschaften der dispergierten μG können mittels dynamischer Lichtstreuung (DLS) analysiert werden. Es wird ein intensitätsgewichteter Mittelwert der Größe vieler μG bestimmt,¹⁵ wobei Informationen über Anisotropien, Deformationen und Interpenetration verloren gehen.^{41, 43} Hierbei ist zu beachten, dass die Größe einer hypothetischen harten Kugel ermittelt wird. Je schwächer vernetzt die μG sind, desto weiter weichen sie demnach vom Modell ab, weshalb Messungen erschwert werden. Zudem können Aggregationen auftreten, welche die Messung weiter erschweren. Informationen über einzelne μG sind über Mikroskopiemethoden zugänglich. Es

können verschiedene Größen, wie der berechnete hydrodynamische Durchmesser d_h (Z-Average) und der Polydispersitätsindex (Pdl), ermittelt werden. Der d_h stellt hierbei die gemessene Größe dar, während der Z-Average ein gemittelter Wert der gemessenen Größen ist und somit gerade bei polydispersen Systemen abweicht. Der Pdl beschreibt die Polydispersität des Systems. Bei monodispersen Proben und Messungen guter Qualität sollten d_h und Z-Average somit vergleichbare Werte zeigen. Der Pdl liegt für monodisperse Systeme unter 0,1. Ab einem Pdl von 0,4 wird von polydispersen Systemen ausgegangen.⁴³

Bei der Rasterkraftmikroskopie (AFM) werden einzelne μG an Oberflächen untersucht. AFM-Untersuchungen bieten den Vorteil von 3D-Informationen, da beim Abrastern der Oberfläche zu den jeweiligen xy-Positionen die Höheninformationen als z-Koordinate erhalten werden.⁴⁴ Hierbei sind jedoch mögliche Deformationen zu beachten (Abb. 3). Die Messungen können in Flüssigkeit oder im getrockneten Zustand durchgeführt werden, wodurch die ermittelte Größe beeinflusst wird.^{15, 21, 41, 45} Bei Messungen in Flüssigkeit können Größen erhalten werden, welche dem gequollenen Zustand entsprechen, während bei Messungen im getrockneten Zustand eher Größen erhalten werden, welche dem kollabierten Zustand entsprechen. Bei spitzen AFM-Spitzen ist ein Eindringen der Spitze in das Polymernetzwerk möglich.⁴⁶ Bei Spitzen mit größerem Durchmesser, wiederum ist zu beachten, dass Strukturen, welche kleiner als die Spitze sind, nicht detailliert abgebildet werden können.⁴⁷ Messungen im *Tapping* Modus erlauben die Untersuchung von Materialunterschieden. Die Schwingung der Spitze wird durch die Wechselwirkung mit der Oberfläche beeinflusst.⁴⁸⁻⁵⁰ Dies resultiert in unterschiedlichen Phasenverschiebungen je nach Wechselwirkung und somit Material. Für μG hängt diese Phasenverschiebung auch von der Elastizität des μG ab. Diese ist abhängig vom Vernetzeranteil und kann sich aufgrund des Vernetzergradienten innerhalb eines μG ändern.⁴⁴ Trotz der Einschränkungen lassen sich beispielsweise Kern-Schale- μG ⁴⁶ oder auch der Kollaps von μG ⁵¹ mittels AFM untersuchen.

Auch bei der Elektronenmikroskopie (EM) müssen Deformationen der μG aufgrund der Adsorption an den Probenträgern berücksichtigt werden. Diese können je nach Trägermaterial, wie Siliziumsubstrate oder kohlenstoffbeschichtete Kupfernetze aufgrund unterschiedlicher Wechselwirkungen variieren. Zusätzlich ist der Einfluss des Trocknens durch das Vakuum zu beachten.^{36, 41, 43, 52} Durch unterschiedliche funktionelle Gruppen oder unterschiedlich starke Vernetzung lassen sich in der EM Kontrastunterschiede erkennen, wodurch zum Beispiel Kern-Schale- μG charakterisiert werden können.⁵³ In der Rasterelektronenmikroskopie (REM) können unter anderem Sekundärelektronen mittels SE- oder InLens-Detektor detektiert werden. Der SE-Detektor lässt Rückschlüsse auf die Topografie der Probe zu. Durch den InLens-Detektor werden vor allem die Signale der Oberfläche detektiert und es können zum Beispiel Materialunterschiede beobachtet werden.⁵⁴ Die Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) lässt Rückschlüsse auf die innere Struktur der μG zu, da hier transmittierte Elektronen detektiert werden.⁵⁵ Da μG elektronentransparent sind, lassen sich beispielsweise Nanopartikel im Inneren mittels TEM nachweisen.^{24, 56} Hierbei ist zu beachten, dass lediglich 2D-Projektionen von 3D-

Strukturen erhalten werden und die 3D-Informationen über beispielsweise Tomografie rekonstruiert werden müssen.^{24, 57} Die Deformationen durch Messungen im Vakuum lassen sich durch Verwendung von Kryo-TEM minimieren, indem die Probe vor der Untersuchung eingefroren und somit im gequollenen Zustand fixiert werden kann.^{56, 58, 59}

Sowohl bei AFM- als auch bei EM-Untersuchungen ist es möglich, dass die äußeren Bereiche von stark gespreiteten μG aufgrund von Spitzen- oder Kontrastlimitierungen nicht abgebildet werden.²⁵ Aufgrund der Deformierbarkeit der μG beeinflusst die Konzentration und somit die Packungsdichte der μG auf den Oberflächen die zu beobachtenden Größen.⁶⁰

2.1.4 Synthese von Mikrogelen

Die inhomogene Dichte der μG mit der radialen Verteilung des Vernetzers ist durch höhere Reaktionsraten der Vernetzer zu erklären und führt zu freien Polymerketten in der Peripherie der μG , welche im hydrodynamischen Durchmesser inbegriffen sind.^{22, 41, 52, 61} Die Synthese über eine radikalische Fällungspolymerisation erlaubt die Kombination verschiedener Monomere und somit die Beeinflussung der Eigenschaften wie der T_{VPT} .^{2, 23} Bei der Synthese werden das Monomer Nipmam, die Vernetzer N,N'-bis(acryloyl)cystamin (BAC) und N,N'-Methylenbisacrylamid (MBA) und das Tensid Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB) im wässrigen Medium mit dem Initiator 2,2'-Azobis(2-methylpropionamidin)dihydrochlorid (V50) erhitzt (Abb. 4), sodass der Initiator zunächst zerfällt und Keime bildet aus denen wiederum Oligomere bis zur kritischen Kettenlänge wachsen, gefolgt von der Bildung der sphärischen Gele. Aufgrund der schnelleren Reaktion der Vernetzer entstehen hierbei dichtere Kerne mit freieren Polymerketten in der Peripherie der μG .⁴

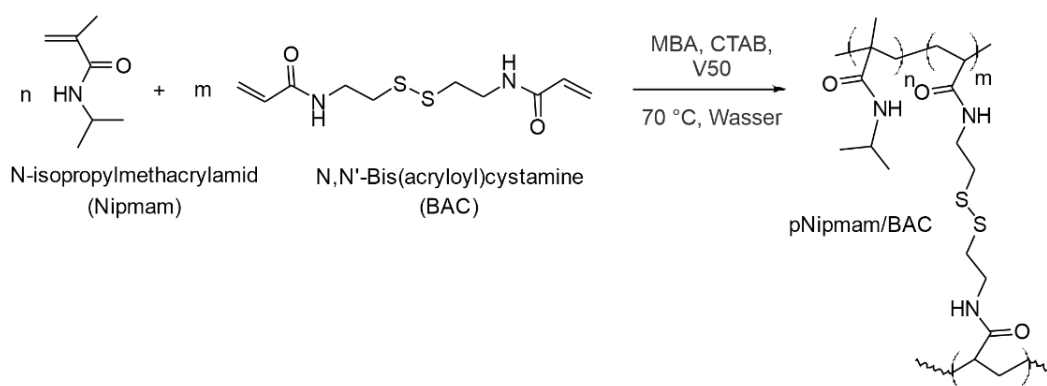


Abb. 4: Reaktionsgleichung der Synthese der pNipmam-BAC μG .

Eine größere Menge des Tensids führt hierbei zu kleineren μG , wobei das Quellverhalten kaum beeinflusst wird.⁵² Gleichzeitig führt eine höhere Menge an Vernetzer ebenfalls zu kleineren μG , wobei hierbei eine dichtere Struktur resultiert und die Größe oberhalb der T_{VPT} kaum beeinflusst wird.²⁰ Während der Synthese können gezielt funktionelle Gruppen für mögliche Postmodifikationen eingebracht werden.³ So kann beispielsweise der Vernetzer BAC für spätere Funktionalisierungen in Thiol- en-Reaktionen^{62, 63} genutzt werden, während der Vernetzer MBA die strukturelle

Integrität gewährleistet.^{3, 24} Zusätzlich zu den eingeführten Vernetzern sind in μG physikalische Vernetzungen, wie Verflechtungen der Polymerketten anzunehmen, welche schwer quantifizierbar sind.³⁵

Die Synthese von μG mit lokalisierten Funktionalitäten ist beispielsweise über Kern-Schale- μG möglich, bei denen in einer analogen radikalischen Polymerisation zusätzlich bereits synthetisierte Kern- μG vorgelegt werden. Diese dienen als Keime für die Synthese der Schale (Abb. 5).^{3, 53, 61, 64}

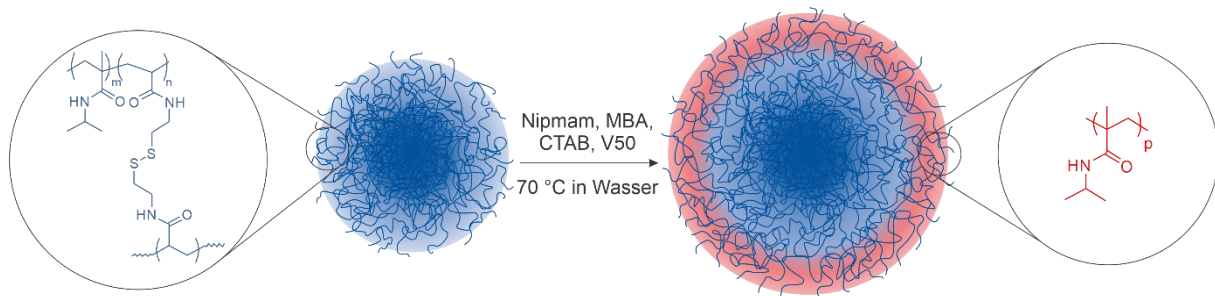


Abb. 5: Schematische Darstellung der Synthese der Schale von Kern-Schale- μG .

Bei der Verwendung verschiedener Monomere in Kern und Schale werden verschiedene Funktionalitäten aber auch ein komplexer Phasenübergang erreicht, welcher über die Wahl der Monomere und auch die Dicke der Schale gesteuert werden kann.^{36, 53, 61, 65, 66} Alternativ kann auch dasselbe Monomer verwendet und nur der Vernetzer variiert werden, sodass die Eigenschaften von Kern und Schale ähnlich sind aber regioselektive, orthogonale Funktionalisierung möglich werden.^{3, 64} Die Dicke der Schale lässt sich durch die Menge an Monomer und Vernetzer beeinflussen. Eine höhere Menge an Vernetzer führt zu dünneren, dichteren Schalen, wohingegen mehr Monomer zu dickeren Schalen führt.^{61, 65}

2.1.5 Anwendung von Mikrogelen

Anders als Hydrogele, welche bereits in medizinischen Anwendungen eingesetzt werden, sind bei Mikrogelsystemen zwar viele in der Entwicklung, jedoch bislang nur etwa 30 in Amerika oder Europa offiziell zugelassen.¹⁰ Dies ist damit zu erklären, dass jedes Mikrogelsystem einzeln entwickelt und getestet werden muss und die genauen Mechanismen der Verteilung im Körper, der Wirkstofffreisetzung und der Ausscheidung aus dem Körper bislang ungeklärt sind und sich bei Anpassungen des Systems stärker ändern als bei Hydrogelsystemen. Dem entgegen stehen viele Vorteile der Mikrogelsysteme gegenüber Hydrogelen, wie die geringe Größe und damit verbundene Injizierbarkeit und Fähigkeit biologische Barrieren passieren zu können, sowie die Möglichkeit die μG gezielt für spezifische Anwendungen zu designen und lokalisierte Funktionalitäten in biokompatible Systeme mit verschiedenen Responsivitäten zu integrieren. Durch die Einführung verschiedener Funktionalitäten besteht zudem die Möglichkeit Therapie und Diagnostik in einem System zu vereinen (Theranostik).¹⁰

Eine der biomedizinischen Anwendungsmöglichkeiten von Mikrogelsystemen ist die Nutzung als Wirkstofftransportsystem mit dem Vorteil der hohen spezifischen Oberflächen des porösen Polymernetzwerkes, welches eine hohe Beladungskapazität aufweist.^{2, 3, 10, 26, 42, 67, 68} Die Beladung kann hierbei zum Beispiel über schwammartiges Quellen der μG an deren Phasenübergang erfolgen, bei dem die Wirkstoffe zusammen mit dem Dispersionsmedium ins μG aufgenommen werden.^{1, 69} Alternativ kann die Beladung mit hydrophoben Wirkstoffen im wässrigen Medium auch über bevorzugte Wechselwirkungen zwischen μG und Wirkstoff stattfinden.^{67, 70} Für eine gezielte Freisetzung kann der Kollaps der μG genutzt werden, welcher durch Hyperthermie³⁰ oder pH-Wert-Änderungen⁷¹⁻⁷³ herbeigeführt werden kann. Als Wirkstoffe eignen sich beispielsweise Cannabidiol, siRNA, humane Wachstumshormone oder DNA.^{30, 42, 74} Über spezifische Funktionalisierungen bieten μG die Möglichkeit Wirkstoffe gezielt zu bestimmten Zelltypen, wie Krebszellen, zu transportieren.⁷⁵ Durch die gezielte Freisetzung am Wirkungsort werden die Wirkung verstärkt und Nebenwirkungen reduziert.⁷² Bei der Aufnahme von Wirkstoffen in μG wird die Komplexität der Systeme deutlich, da sich die Eigenschaften durch die Beladung verändern, was wiederum in einem veränderten Aufnahmeverhalten resultiert.⁷⁶ Alternativ zur Beladung mit Wirkstoffen können μG auch genutzt werden, um beispielsweise Toxine aufzunehmen und aus dem Körper auszuschcheiden, wobei ebenfalls hydrophobe und auch elektrostatische Wechselwirkungen genutzt werden können.⁷⁷ Bei biomedizinischer Anwendung von μG ist die Wechselwirkung mit Zellen ein wichtiger Parameter. Kleinere μG mit einem Durchmesser unter 800 nm werden von Zellen aufgenommen⁷⁸ größere μG können als Substrate für Zellwachstum, beispielsweise für Wirkstofftests^{79, 80} sowie zur Geweberegeneration genutzt werden.^{4, 81} Eine Anwendung von μG als Biosensoren^{1, 82-84} ist ebenso möglich wie die Nutzung als antibakterielle Beschichtung⁸⁵ oder auch Kontrastmittel beispielsweise in der Magnetresonanztomographie (MRT)⁸⁶. Durch die vielseitigen Anwendungsmöglichkeiten kombiniert mit lokalisierten Funktionalitäten können auch Funktionalitäten für photoakustische Therapie und Kontrastmittel im MRT innerhalb eines μG vereint und Systeme für Theranostik synthetisiert werden.¹²

μG können zur Stabilisierung von Emulsionen⁸⁷⁻⁸⁹ genutzt werden, welche durch die Responsivität der μG ebenfalls responsiv werden^{90, 91}. Hierbei erfahren die μG in Abhängigkeit ihrer Steifigkeit eine Deformierung, die zur Steuerung der Eigenschaften der Emulsionen genutzt werden kann.⁹² Hierdurch können Transportprozesse zwischen zwei Phasen gesteuert und Katalysatoren in den μG gebunden werden, wodurch das Recycling der Katalysatoren erleichtert wird.^{2, 93, 94} Zudem kann durch das Einbringen von Katalysatoren in μG die Reaktionsrate durch die Responsivität⁹⁵ und Vernetzerdichte⁹⁶ der μG gesteuert werden.

Durch die Verknüpfung von μG können schaltbare Membranen⁹⁷ oder responsive Substrate²³ aufgebaut werden, welche als Mikroaktuatoren¹⁵ fungieren können. Auf Oberflächen bilden μG zunächst hexagonale Strukturen⁹⁸, welche jedoch durch eine Strukturierung der Oberfläche beeinflusst werden können.⁹⁹ Bei pH responsiven μG

lässt sich die Anordnung auf der Oberfläche über den pH-Wert steuern und auch nach der Adsorption lässt sich diese noch beeinflussen.¹⁰⁰ Werden mehrere Schichten von μG aufgebracht,¹⁰¹ lassen sich diese mit Wirkstoffen, wie Doxorubicin (DOX), beladen und ein Kollaps der μG ermöglicht die Freisetzung.¹⁰² Die Kombination von positiv geladenen μG mit negativ geladenen Polymeren auf Oberflächen zeigt eine einer Gänsehaut-ähnliche Responsivität der μG , wobei die Anordnung der μG durch die Polymere gesteuert werden kann.¹⁰³

μG mit spaltbaren Gruppen, wie beispielsweise Disulfiden, zeigen eine potentielle Anwendung im Recycling von Cellulose, wenn eine Spaltung über Einstellung des pH-Wertes bei gleichzeitiger Stabilität gegenüber Feuchtigkeit möglich ist.¹⁰⁴

2.2 DNA

Desoxyribonucleinsäure (DNA) kodiert genetische Informationen und kann sowohl als DNA-Einzelstrang (ssDNA) als auch als DNA-Doppelstrang (dsDNA) vorliegen. In Genomen hat DNA einen Durchmesser von etwa 2 nm und eine Länge von 10^8 - 10^9 nm.¹⁰⁵ Die Bildung der dsDNA basiert auf Watson-Crick-Basenpaaren, bei denen Adenin (A) und Thymin (T) sowie Cytosin (C) und Guanin (G) Wasserstoffbrückenbindungen zueinander ausbilden (Abb. 6).^{8, 105}

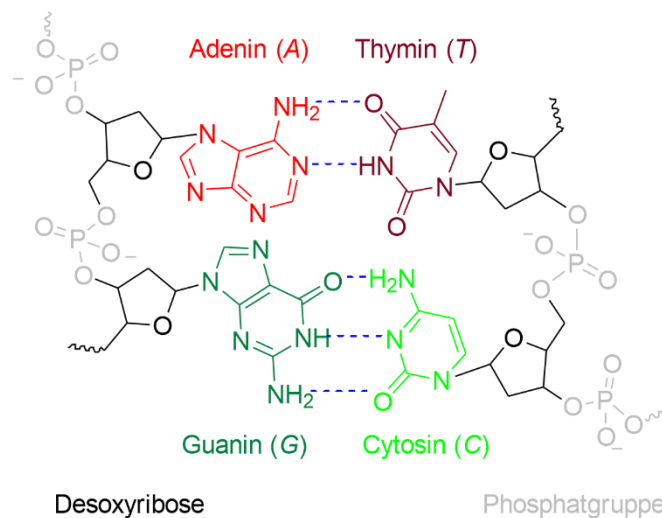


Abb. 6: Schematische Struktur von DNA-Doppelsträngen mit Kennzeichnung der Wasserstoffbrückenbindungen.

Das Rückgrat der DNA besteht aus Desoxyribose und negativ geladenen Phosphatgruppen und besitzt ein 3'- und ein 5'-Ende. Beide Enden können für die Modifizierung der DNA mit zusätzlichen funktionellen Gruppen, wie fluoreszente Farbstoffe, genutzt werden.⁹ Bei der Hybridisierung der DNA bilden sich rechtsgedrehte Doppelhelices, wobei immer 3'-Enden mit 5'-Enden hybridisieren und die Basen innen liegen. 10 Basen bilden eine Windung und die Diffusion von Wasser in die Struktur bleibt möglich.¹⁰⁶ Die Selbstassemblierung der dsDNA kann für eine Programmierbarkeit der Strukturen ausgenutzt werden⁷⁻⁹ und die Schmelztemperaturen (T_m) bei denen die Dehybridisierung erfolgt sowie die Steifigkeit der dsDNA über die Basensequenz bestimmt werden.^{105, 107, 108} Sequenzen mit hohen

Anteilen an A-Th-Basenpaaren zeigen niedrigere Schmelztemperaturen und die Dehybridisierung dieser Basen führt zu einer Destabilisierung des gesamten Doppelstrangs.¹⁰⁹ Die T_m der dsDNA wird unter anderem durch die Salzkonzentration beeinflusst, da hohe Salzkonzentrationen zu einer Abschirmung der Ladungen der Phosphatgruppen führen.^{24, 109, 110} Zusätzlich kann eine Destabilisierung der dsDNA durch benachbarte, schmelzende DNA-Stränge auftreten. Diese kooperativen Effekte können auftreten, wenn der Abstand der DNA-Stränge weniger als 5 nm beträgt, und führen zu scharfen Schmelzkurven. Sie wurden beispielsweise bei Netzwerken von Goldnanopartikeln (AuNP) und DNA beobachtet.¹⁰⁹

Die Programmierbarkeit der dsDNA kann ausgenutzt werden, um responsive DNA-Superstrukturen und Origamis zu programmieren.^{9, 111, 112} Die Strukturen können hunderte nm groß sein und Gastmoleküle können inkorporiert werden.⁹ DNA-Superstrukturen können beispielsweise in der Krebstherapie¹¹², bei DNA Nanorobotern¹¹² oder bei Kaskaden Enzym katalysierter Reaktionen¹¹³ Anwendung finden.

2.3 Mikrogel-DNA-Hybridsysteme

Durch die Kombination von Mikrogelen und DNA in Hybridsystemen bietet sich die Möglichkeit der Kombination ihrer Eigenschaften. So können Systeme entstehen, die die Responsivität der einzelnen Bestandteile vereinen, sodass mehrere unabhängige Stimuli genutzt werden können und somit multiresponsive Systeme entstehen.²⁴ μ G-DNA-Hybridsysteme bieten Biokompatibilität, Porosität sowie eine kontrollierte Größe. Durch den VPT der μ G sind sie vom Dispersionsmedium separierbar, wodurch sie recyclebar sind und als Nanoreaktoren, Wirkstofftransportsysteme oder zur Biodetektion genutzt werden können. Zudem stellen die μ G einen möglichen Schutz der DNA vor beispielsweise DNAsen sowie der Wirkstoffe im Allgemeinen dar.^{5, 7, 8, 114-120} Das Einbringen der DNA in die μ G kann beispielsweise erfolgen, indem enthaltene Disulfide reduziert und die entstehenden Thiole in einer Thiol-en-Reaktion weiter umgesetzt werden.^{24, 121} Die DNA kann zudem als programmierbarer Vernetzer im μ G fungieren^{7, 119, 120, 122-125} oder für eine Hybridisierung der μ G an Oberflächen genutzt werden. Zudem wird eine Erhöhung der Hydrophilie der μ G und somit des Wasseranteils innerhalb der μ G beschrieben.¹²⁶ Durch die vielfältigen Möglichkeiten der Modifikation können Hybridsysteme gezielt für die jeweiligen Anwendungen konstruiert werden, wobei schon kleine Modifikationen zu veränderten Eigenschaften führen können.^{127, 128} Die Integration weiterer Bestandteile, wie Nanopartikel oder Farbstoffe, in Mikrogel-DNA-Hybridsysteme kann über Bindung zur DNA, zum Mikrogel oder auch über unspezifische Bindung erfolgen und weitere Eigenschaften wie Photothermie ergänzen.^{7, 122, 126} Durch die hohe Porosität und spezifische Oberfläche der μ G wird hierbei eine hohe Beladung ermöglicht.^{8, 24, 118}

Im Bereich des Wirkstofftransports ist dabei von besonderer Bedeutung, dass die Größe und das Gewicht der μ G die Zirkulation im Körper¹²⁹ sowie die Möglichkeit des

Eindringens in Zellen steuern kann, während die μ G biokompatibel sind und über Funktionalisierung mit Wirkstoffen oder DNA beladen werden können.¹³⁰ Eine Freisetzung der Wirkstoffe kann über die verschiedenen integrierten Stimuli kontrolliert erfolgen,^{7, 11, 115, 116, 118, 120, 131-134} wodurch mögliche Nebenwirkungen reduziert werden können und die Konzentration des Wirkstoffes im therapeutischen Fenster gehalten wird.^{13, 14} Um die Freisetzung zu steuern, können beispielsweise Kern-Schale- μ G verwendet werden, bei denen nur der Kern beladen wird und die Schale als Diffusionsbarriere dient, wobei die eingesetzten μ G metabolisiert werden können müssen.^{14, 118} Alternativ können Kern-Schale- μ G auch für eine sequenzierte Freisetzung unterschiedlicher Wirkstoffe genutzt werden.^{118, 135} Bei Anwendungen für Tumore tritt zudem der Effekt der verstärkten Permeabilität und Retention (EPR) in Tumorzellen auf, welcher für eine passive Anreicherung der μ G und damit verbunden der Wirkstoffe genutzt werden kann. Alternativ können spezifische Moleküle, in die μ G eingebracht werden, welche an Tumorzellen binden und somit aktiv für eine Anreicherung des Wirkstoffs am Zielort sorgen^{13, 29, 122}, wodurch zeitgleich eine Biodetektion ermöglicht werden kann.⁸ Zudem liegt die Temperatur in Tumorzellen höher und der pH-Wert niedriger als in gesunden Zellen, wodurch eine Freisetzung von Wirkstoffen herbeigeführt werden kann.¹³⁰ Unterstützt werden kann dies zusätzlich beispielsweise durch Photothermie, welche gleichzeitig als Behandlungsmöglichkeit angesehen werden kann, da ab einer Temperatur von 40 °C Zellschäden auftreten können.⁵ Ein Problem bei der Charakterisierung von Wirkstofftransportsystemen liegt in unterschiedlichen Ergebnissen bei *in vivo* und *in vitro* Untersuchungen.^{14, 130}

Biodetektion ist beispielsweise möglich durch eine Veränderung der Umgebung von Nanopartikeln durch den Kollaps der μ G bei veränderter Temperatur^{5, 136} oder durch die Einbindung von Kontrastmitteln in die μ G zur Lokalisierung der μ G.¹¹⁸ Durch die Kombination mit Wirkstoffen eröffnet sich die Möglichkeit der Theranostik.¹²⁷

μ G-DNA-Hybridsysteme bieten bei Verwendung von DNAzymen eine Anwendungsmöglichkeit in der Katalyse, wobei die DNAzyme eher im äußeren der μ G lokalisierte, synthetische Nukleinsäuren sind, welche die Funktion von Enzymen imitieren. Die μ G dienen als Trägermaterial, welches die Abtrennung des Katalysators vom Reaktionsgemisch oberhalb der T_{VPT} erleichtert und bei weiterer Funktionalisierung Kaskadenreaktionen ermöglicht.¹³⁷ Für Gentherapien kann in DNA- μ G-Hybridsysteme siRNA eingebunden und intrazellulär freigesetzt werden.¹¹⁹ Für pNipmam-basierte Kern-Schale- μ G konnte eine Funktionalisierung der Schale mit Peptiden zur Bindung an Tumorgewebe zusammen mit einer Beladung mit siRNA im Kern für eine Gentherapie mit kontrollierter Freisetzung durch den Phasenübergang der μ G gezeigt werden.²⁹ In μ G-Hybridsystemen mit siRNA und Kalziumphosphat konnte eine kontrollierte Freisetzung der siRNA im Zytoplasma gezeigt werden, wobei das μ G als Trägermaterial diente und das Kalziumphosphat die Freisetzung initiierte. Hierdurch konnte ein verringertes Tumorwachstum erreicht werden.¹³⁸

2.4 NMR

In der Kernspinresonanzspektroskopie (NMR) können durch Messungen des lokalen magnetischen Feldes von Atomkernen Informationen über die molekulare Struktur gewonnen werden. Durch ein externes Magnetfeld kann die Probe mittels eines Pulses magnetisiert und die Relaxation detektiert werden. Durch die Umgebung der Atomkerne kann es zu Verzögerungen dieser Relaxationen kommen. Bezogen auf eine Referenz werden somit chemischen Verschiebungen erhalten, welche Rückschlüsse auf die Umgebung der untersuchten Atomkerne zulassen.¹³⁹

Mittels NMR kann die gesamte Struktur der μG auf molekularer Ebene untersucht werden.¹⁴⁰⁻¹⁴² Durch die Polymerisierung zeigen μG verbreiterte Signale im Vergleich zu den verwendeten Monomeren.²³ Dadurch ist die Verwendung von Hahn-Echo Messungen von Vorteil. Bei Hahn-Echo Messungen wird nach einer Zwischenpulsverzögerung ein zweiter Puls zur Refokussierung der Spins genutzt. Ein einzelner Puls führt durch inhomogene Magnetfelder zu einer Dephasierung der Spins. Diese wird durch den zweiten Puls aufgehoben, indem die Spins umgekehrt werden. Die Umkehrung der Spins bewirkt zusammen mit der weiterhin bestehenden Inhomogenität des Feldes, dass das maximale Signal erhalten wird. Die Signale von Gruppen, die in der Beweglichkeit eingeschränkt sind, werden hierbei unterdrückt.¹⁴³ Es entstehen schmalere Signale mit weniger Hintergrundsignal.^{144, 145}

Die Untersuchung der T_{VPT} von μG wird durch abnehmende Intensitäten der NMR-Signale während des Kollapses ermöglicht, wobei die T_{VPT} bei einer relativen Signalintensität von 0,5 bestimmt werden kann.^{24, 140, 146-153} Mittels Linearisierung der relativen Signalintensitäten über die Auftragung des natürlichen Logarithmus der Gleichgewichtskonstanten gegen die reziproke Temperatur (van't Hoff Plot) lassen sich zudem die thermodynamischen Größen des Kollapses bestimmen.^{140, 146-155}

Für pNipam- μG wurde ein zweiphasiger Kollaps ermittelt, bei dem zunächst hydrophobe Bindungen gebildet werden, gefolgt vom Aufbrechen der Wasserstoffbrückenbindungen.^{140, 146-148} Beide Phasen sind endotherm und gehen mit einem Gewinn an Entropie einher, wobei der Entropiegewinn in der zweiten Phase größer ist als in der ersten Phase.^{140, 146-148} Der Einfluss von verschiedenen Salzkonzentrationen¹⁴⁷ sowie verschiedener Anionen¹⁴⁰ und Kationen¹⁴⁸ auf den Kollaps der μG kann über NMR quantifiziert und eine Hysterese zwischen Quellen und Kollabieren festgestellt werden. Diese Hysterese kann dadurch erklärt werden, dass die hydrophoben Wechselwirkungen, welche sich in der ersten Phase bilden, zunächst gebrochen werden müssen, bevor ein vollständiges Quellen der μG möglich ist.^{140, 147, 148} Die Zugabe von Salzen führt zu einem Aussalzen der μG und damit zu einer niedrigeren T_{VPT} , was durch die Umorientierung der Wassermoleküle und einer Schwächung der Wasserstoffbrückenbindungen zu den Amidgruppen der μG sowie einer erhöhten Oberflächenspannung des Wassers und der Möglichkeit der direkten Bindung der Anionen an die Amidgruppen erklärt werden kann.^{140, 147, 148} Der Effekt des Aussalzens folgt hierbei der Hofmeister-Serie,^{140, 147, 148} wobei die Anionen einen stärkeren Effekt zeigen als die Kationen¹⁴⁸. Auch der Vergleich des Kollapses von μG

basierend auf verschiedenen Monomeren¹⁴⁹ oder Comonomeren^{150, 151, 153} sowie in Lösungsmittelgemischen¹⁵² oder mit verschiedenen Vernetzeranteilen und bei unterschiedlichen Drücken¹⁵⁶ wird auf diesem Wege ermöglicht. Zudem sind Untersuchungen der Beladung mit und Freisetzung von Molekülen über die Kopplung der funktionellen Gruppen möglich.¹⁵⁷ Dies wurde beispielsweise mit Insulin in einem pNipam- μ G gezeigt⁶⁹. Bei zeitaufgelösten NMR-Messungen können zusätzlich Relaxationszeiten von frei diffundierendem und im μ G gebundenen Wasser¹⁴¹ sowie die Umorientierung von Polymersträngen auch unter Salzzugabe oder bei Temperaturveränderungen untersucht werden¹⁴².

Im Rahmen dieser Arbeit wurden NMR-Messungen genutzt, um die T_{VPT} von μ G und DNA-funktionalisierten μ G zu untersuchen. Der Vorteil von Hahn-Echo NMR-Untersuchungen liegt darin, dass eine quantitative Auswertung der Messungen trotz Auftreten von Aggregation der μ G möglich ist. Es sind Messungen in Salzlösungen möglich, welche Rückschlüsse auf das Verhalten in biologischen Medien erlauben. Zudem konnte der Einfluss der DNA-Funktionalisierung auf den Phasenübergang untersucht werden.

2.5 Fluoreszenzmikroskopie

Fluoreszenzmikroskopie (FM) ist eine Methode der optischen Mikroskopie, bei der fluoreszierende Proben untersucht werden können. Durch die Diffraktionslimitierung der optischen Mikroskopie ergibt sich eine Auflösung von etwa 200 nm, während das fluoreszierende Molekül nur etwa 1 nm groß ist.^{55, 158} Die Einzel-Molekül-Lokalisierungs-Mikroskopie (SMLM) kann verwendet werden, um höhere Auflösungen zu erzielen, indem einzelne Fluorophore detektiert und über eine Gauß-Funktion lokalisiert werden.¹⁵⁸⁻¹⁶⁰ Aus den Lokalisierungen vieler einzelner Fluorophore können Bilder mit einer Auflösung von 20-50 nm rekonstruiert werden.¹⁵⁹⁻¹⁶¹ Die SMLM-Methoden sind weder invasiv noch destruktiv und daher ebenfalls für die Abbildung biologischer Strukturen geeignet.^{57, 160, 162} Zudem sind dynamische 3D-Rekonstruktionen der Proben möglich.^{27, 163} Hierfür sind optisch transparente Proben und das Schalten der Fluorophore notwendig, sodass sie nur kurz blinken und die Detektion einzelner Fluorophore möglich wird.^{158-161, 164} Es stehen verschiedene Methoden zur Verfügung, wie die direkte stochastische optische Rekonstruktionsmikroskopie (dSTORM), bei der die Fluorophore zwischen einem fluoreszierenden und nicht-fluoreszierenden Zustand geschaltet werden.^{160, 163, 165} Hierfür ist die Wahl der Farbstoffe begrenzt, da nicht jeder Farbstoff geschaltet werden kann. Es können beispielsweise Rhodamin- oder Cyan-basierte Farbstoffe wie Alexa647 genutzt werden.^{57, 162, 166} Eine weitere Methode ist die Punkt-Akkumulierung in nanoskaliger Topografie (PAINT), bei der das Blinken über ein reversibles Binden der Fluorophore erfolgt und die Farbstoffe frei gewählt werden können. Die frei diffundierenden Farbstoffe erscheinen als Hintergrundsignal ohne Lokalisierung.^{159, 163} Die Farbstoffanbindung kann hierbei auch über DNA-Hybridisierung erfolgen, wenn der Fluorophor an ssDNA gekoppelt ist (DNA-PAINT) (Abb. 7).¹⁶⁷

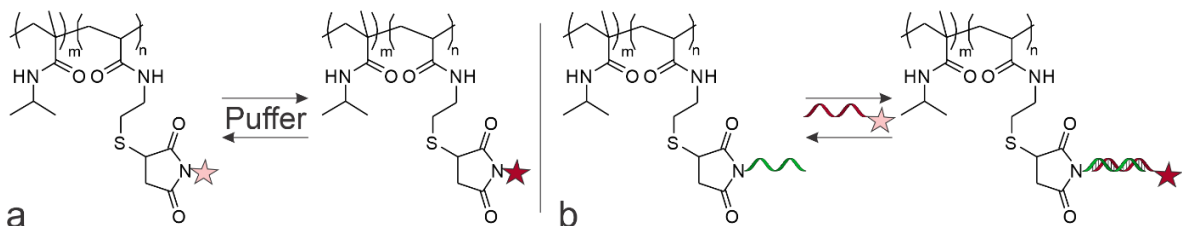


Abb. 7: Schematische Darstellung der Farbstoffschaltung und -anbindung bei dSTORM- (a) und DNA-PAINT- (b) Messungen.

Die Untersuchung von μG ist durch das Einbringen von Farbstoffen zugänglich.² DNA-PAINT bietet den Vorteil der Programmierbarkeit der Hybridisierung, wobei meist 8-10 komplementäre Basen genutzt werden.¹⁶⁷⁻¹⁶⁹ Eine Quantifizierung der funktionellen Gruppen ist jedoch nicht möglich, da sowohl Multidetektion als auch Bleichen der Fluorophore auftreten.³⁹ Der Vorteil von suprauflösender Fluoreszenzmikroskopie (SRFM) mit frei diffundierenden Farbstoffen liegt in dem Gewinn an Information über den strukturellen Aufbau, dafür liegt hier ein schlechteres Signal-zu-Rausch-Verhältnis vor. Eine kovalente Bindung der Farbstoffe bietet ein besseres Signal-zu-Rausch-Verhältnis, allerdings gehen strukturelle Informationen verloren und die Proben müssen modifiziert werden.^{170, 171}

Mittels dSTORM konnte das Polymernetzwerk von Kern-Schale- μG untersucht⁵⁷ und eine Durchdringung von Kern und Schale festgestellt werden.^{27, 170} Durch die Möglichkeit der Untersuchung dynamischer Prozesse konnte zudem der Kollaps von pNipam- μG *in situ* untersucht werden.¹⁷² An pNipam-basierten μG zeigten 3D dSTORM Untersuchung mit Alexa647-Farbstoff, der über DNA-Hybridisierung gebunden wurde, eine Verteilung der DNA eher in den äußeren Bereichen der μG .²⁴ Sowohl Kern-Schale-Strukturen als auch der Kollaps von μG wurden mittels PAINT untersucht, wobei hier kein Einsatz von Puffern und keine kovalente Bindung der Farbstoffe nötig waren. Es waren Rückschlüsse auf die Polarität der μG durch Nutzung eines solvatochromen Farbstoffs möglich.²⁸ Mittels DNA-PAINT konnten mit einem frei diffundierenden Farbstoff an ssDNA und reversibler Hybridisierung komplexe DNA-Origamis abgebildet werden.¹⁶⁸ Im Zusammenhang mit Oberflächen bietet FM bei optischer Transparenz zudem beispielsweise die Möglichkeit der Untersuchung des Schaltverhaltens von Farbstoffen wie Alexa647 auf Oberflächen wie Indium-Zinn-Oxid (ITO), welches zugleich auch elektrisch leitend ist.¹⁶⁴

Im Rahmen dieser Arbeit wurde für die Überprüfung der DNA-Funktionalisierung der μG Fluoreszenzmikroskopie verwendet, nachdem Farbstoff-markierte DNA-Stränge in μG eingebracht wurden. Zudem wurde eine lokale Funktionalisierung der ITO-Substrate mittels Fluoreszenzmikroskopie überprüft. Mittels SRFM wurde eine regioselektive DNA-Funktionalisierung der Kern-Schale- μG überprüft.

2.6 Chemische Elektronenstrahlolithografie

Elektronenstrahlolithografie (EBL) ist ein Verfahren zur Strukturierung von Oberflächen, welche durch einen Elektronenstrahl umgesetzt werden können. Es können Lacke

oder selbst assemblierte Monolagen (SAM) verwendet werden. EBL eröffnet die Möglichkeit Strukturen mit einer Größe um die 5 nm zu konstruieren.^{173, 174} Ein großer Vorteil der EBL ist die hohe Auflösung aufgrund der Verwendung des Elektronenstrahls und der kleinen Wellenlänge der Elektronen. Die Auflösung wird hierbei nicht durch den Strahl (Primärelektronen), sondern durch die sekundäre Elektronenstreuung der Probe und somit den sogenannten *Proximity* Effekt limitiert.^{174, 175} Es werden Lacke verwendet, in denen durch den Elektronenstrahl Masken für eine weitere Umsetzung erzeugt werden.¹⁷³ Die Streuung der Elektronen im Lack kann dazu führen, dass auch die Umgebung des bestrahlten Musters eine Veränderung erfährt. Höhere Energien des Elektronenstrahls verursachen mehr Primärelektronen und erhöhen somit die Streuung der Elektronen.¹⁷⁶

Diese Problematik ist bei der Verwendung selbst assemblierter Monolagen (SAM) durch ihre geringe Dicke weniger ausgeprägt.^{175, 177} Dies konnte zum Beispiel für Octadecylsiloxan-Monolagen auf Silizium gezeigt werden. Eine ausgeprägtere Streuung und somit ein schlechterer Kontrast zwischen bestrahlter und umgebender Oberfläche konnte hier für höhere Energien beobachtet werden. Bei zu geringen Energien erfolgte jedoch keine Umsetzung.¹⁷⁴ Zudem können die Moleküle der SAM durch Bestrahlung mit zu hohen Energien beschädigt werden.¹⁷⁸

Die klassische EBL ermöglicht über gezielte Belichtung von Lacken Bereiche zu generieren, in denen Metalle, zum Beispiel Gold auf Si, in einer Größenordnung um die 10 nm¹⁷⁹ abgeschieden werden können. Neben Anwendungen wie in der Mikroelektronik (Leiterbahnen) können diese Strukturen auch zur gezielten Immobilisierung von Zellen genutzt werden.¹⁸⁰

Mittels chemischer Elektronenstrahlolithografie (cEBL) werden an Stelle von Lackschichten funktionelle Gruppen von SAM reduziert. Dies wurde bei der Umsetzung von Sulfonsäuren zu Thiolen^{181, 182} oder Nitrogruppen zu Aminen¹⁸³ gezeigt. In weiteren Schritten wie einer Immobilisierung von AuNP über einen Ligandenaustausch oder Klick-Reaktionen können diese dann weiter umgesetzt werden.^{181, 182, 184} Für die EBL sind leitfähige Substrate wie Silizium^{181, 182}, Gold¹⁸³ oder ITO¹⁸⁵ entscheidend um Aufladungseffekte zu vermeiden. Lokal modifizierte Oberflächen können beispielsweise zur Bindung von Biomolekülen¹⁸⁵⁻¹⁸⁷ oder AuNP^{181, 182} genutzt werden.

EBL kann auch für eine oberflächengebundene Synthese von μG genutzt werden, bei der Polymerfilme durch den Elektronenstrahl vernetzt werden und somit variable Muster möglich sind.¹⁸⁸

Im Rahmen dieser Arbeit wurde cEBL für eine nanoskalige Strukturierung von Monolagen auf ITO-Substraten genutzt. Diese Strukturierung sollte lokal unterschiedliche Funktionalisierungen ermöglichen, welche die gerichtete Immobilisierung von μG in ihrer nativen Struktur erlaubt.

3 Experimenteller Teil

3.1 Materialien und Methoden

Die in dieser Arbeit verwendeten Chemikalien wurden, soweit nicht anders beschrieben, ohne weitere Aufreinigung verwendet und sind inklusive Reinheiten und Hersteller in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: Verwendete Chemikalien mit Herstellern und Reinheiten.

Chemikalie	Reinheit	Hersteller
2-(4-Chlorosulfonylphenyl)-ethyltrichlorosilan	50 % in DCM	Sikemia
2,2'-Azobis(2-methylpropionamidin)dihydrochlorid (V50)	99 %	Sigma-Aldrich
Alexa647-C2-Maleimid	98 %	Thermo Fisher
Ammoniak	25 %	VWR
Ammoniumsulfat	≥ 99,5%	Fluka
Argon	99,998 %	Westfalen AG
Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB)	96 %	Fluka
Chlorsulfonsäure	98 %	Fluka
Cysteamin	98 %	Merck
Deuteriumchlorid-Lösung	35 wt% in D ₂ O; ≥99 atom% D	Sigma-Aldrich
Dichlormethan	p. A.	Fischer
Dinatriumhydrogenphosphat-monohydrat	p. A.	Merck
Dithiothreitol (DTT)	≥ 99 %	Sigma-Aldrich
Ethanol	Absolut.	Fisher Chemical
Gold(III)-chlorid-trihydrat	99,99 %	Sigma-Aldrich
Methoxypolyethylenglycolamin (5000) (PEG)	Keine Angabe	Sigma-Aldrich
N,N'-bis(acryloyl)cystamin (BAC)	98 %	Alfa Aesar
N,N'-Methylenbisacrylamid (MBA)	99 %	Sigma Aldrich
Natriumcarbonat	≥99,5 %	Fluka
Natriumchlorid	99,5 %	Grüssing
Natriumdeuteroxid-Lösung	35 wt% in D ₂ O; ≥99 atom% D	Sigma-Aldrich
Natriumhydroxid	99 %	Grüssing
Natriumphosphat	96 %	Acros Organics
N-isopropylmethacrylamid (Nipmam)	99 %	Sigma-Aldrich
Phenethyltrimethoxysilan	97 %	ABCR
Salpetersäure	65 %	Omnilab
Salzsäure	36 %	Sigma-Aldrich
Schwefelsäure	95-97%	Grüssing
Toluol	99,9 %	VWR
Trinatriumcitrat-dihydrat	99 %	Merck
Wasserstoffperoxid	30 %	Chemsolute

Für alle Arbeiten wurde Reinstwasser mit einer Leitfähigkeit von 0,057-0,059 µS/cm mit einem pH-Wert von 4,5 aus einer Elga Purelab Plus Anlage verwendet.

Zum temperierten Schütteln der Proben wurde ein *Cooling Thermal Shake Touch* Thermoschüttler von VWR bei 20 °C und 500 rpm verwendet. Hierbei wurden Reaktionsgefäße von Eppendorf mit einem Volumen von 1,5 mL verwendet.

Das Trocknen der μ G wurde an einem LIO-5 Gefriertrockner von Kambič durchgeführt. Das Zentrifugieren erfolgte in Reaktionsgefäßen von Eppendorf mit einem Volumen von 1,5 mL an einer Thermo Scientific Heraeus Fresco 21 Mikrozentrifuge oder in 50 mL Polystyrol-Zentrifugenröhrchen von Carl Roth an einer Universalzentrifuge 3-18KS von Sigma.

Die Inkubation der Proben bei bestimmter Temperatur oberhalb von 20 °C erfolgte in einem WB7-Wasserbad von Memmert. Die Inkubation bei 4 °C erfolgte in einem Liebherr *profi line* Kühlschrank. Die Lagerung der DNA sowie der getrockneten Mikrogele erfolgte in einem FN 22062 ws Gefrierschrank von Miele bei -25 °C.

Die DLS-Messungen wurden an einem Malvern Zetasizer NanoS von Malvern Instruments mit einem HeNe-Laser ($\lambda=633$ nm) mit einer Leistung von 4 mW durchgeführt. Wenn nicht anders beschrieben, wurden die Messungen in einem Intervall von 20 °C bis 70 °C und mit einem Rückstreuungswinkel von 173° durchgeführt. Je 1 °C wurde für 120 s equilibriert und 3 Messungen mit je 10 Wiederholungen durchgeführt, die gemittelt wurden. Für die Messungen wurden UV-Mikroküvetten von Brand verwendet und die Auswertung erfolgte mittels Origin 2021b. Für die Bestimmungen der T_{VPT} wurden die Wendepunkte der Kurven mittels sigmoidaler Fit-Funktion in Origin bestimmt. Die hydrodynamischen Durchmesser im gequollenen Zustand wurden im Bereich von 20 °C bis 35 °C ermittelt und die hydrodynamischen Durchmesser im kollabierten Zustand im Bereich von 55 °C bis 70 °C.

Die REM-Messungen wurden an einem FE-SEM LEO/Zeiss Supra 35 VP durchgeführt. Die Proben wurden hierfür auf in siedendem $\text{NH}_3/\text{H}_2\text{O}_2\text{-H}_2\text{O}$ -Gemisch ausgekochten Siliziumsubstraten eingetrocknet. Für die Größenbestimmung wurde ein im Arbeitskreis entwickeltes *Visual Basic tool* für Corel Draw verwendet.

Die TEM-Messungen wurden von Thorsten Ohlerth (Arbeitsgruppe Simon, Institut für Anorganische Chemie, RWTH Aachen University) an einem Zeiss Libra 200FE TEM (GFE, RWTH Aachen University) aufgenommen. Als Probenträger wurden kohlenstoffbeschichtete Kupfernetze von Sigma Aldrich (CF200-CU; Kohlenstoffdicke: 5-6 nm) verwendet. Für die Größenbestimmung wurde ein im Arbeitskreis entwickeltes *Visual Basic tool* für Corel Draw verwendet.

Die AFM-Messungen wurden an einem NanoScope IIIa-Rasterkraftmikroskop von Digital Instruments im *Tapping* Modus durchgeführt. Die Proben wurden hierbei auf ausgekochten Siliziumwafern präpariert. Es wurden OMCLAC160TS-W2- Spitzen von Olympus verwendet und die Auswertung der Aufnahmen erfolgte im Programm WSxM 5.0 Develop 6.5¹⁸⁹.

Die ^1H -NMR Messungen wurden von Doktor Gerhard Fink (Arbeitsgruppe Okuda, Institut für Anorganische Chemie, RWTH Aachen University) an einem Bruker Avance-II-400 MHz Spektrometer mit der Software Topspin 2.1 und einer 5 mm *broadband observe probe* mit einer Proben-Konzentration von 10 mg/mL durchgeführt. Die Temperaturkontrolle erfolgte mittels einer Bruker BVT-3200 Einheit in einem Bereich

von 25 °C bis 50 °C in 1 °C-Schritten mit Messungen je 1 °C. Die Messungen wurden sowohl beim Heizen als auch beim Kühlen der Probe mittels Hahn Echo Messungen mit Wasservorsättigung (D1=1s; P90=10.5us; AQ=4s; NS=16) und einer Zwischenpulsverzögerung von 10 µs durchgeführt. Während der Messungen wurden die Spektren korrigiert, sodass das Deuterium-Signal des Lösungsmittels auf der gleichen spektralen Position blieb. Dadurch wurden alle anderen Signale des Spektrums mit Veränderung der Temperatur verschoben. Dieser lineare Drift wurde nachträglich mittels spektraler Referenz-Parameter im Programm Topspin korrigiert. Zusätzlich wurde eine zweifache automatische Phasen-Korrektur vorgenommen. Die erhaltenen ¹H-NMR Spektren wurden mit den Programmen MestreNova und Origin 2021b ausgewertet.

Die elementare Zusammensetzung der ITO-Oberflächen wurde an einem Epsilon 1 XRF-Analysator von Malvern Panalytical von Doktor Michael Noyong (Arbeitsgruppe Simon, Institut für Anorganische Chemie, RWTH Aachen University) bestimmt.

Die Fluoreszenzmikroskopie wurde von Pia Lenßen (Arbeitsgruppe Wöll, Institut für Physikalische Chemie, RWTH Aachen) an einem VisiTirf-Aufbau von Visitron Systems GmbH mit einem inversen Mikroskop Eclipse Ti von Nikon und einem APOTirf 100x/1,40 NA Öl-Objektiv von Nikon sowie einer Prime 95B Scientific CMOS-Kamera von Photometrics mit einer *highly inclined and laminated optical sheet* (HILO) Beleuchtung durchgeführt. Hinter dem Objektiv konnte eine Laserleistung von 10 – 50 mW gemessen werden. Die Anregung der Farbstoffe erfolgte bei 640 nm und die Messung wurde mit dem Programm VisiVlew von Visitron durchgeführt. Die Auswertung und Überlagerung der Bilder erfolgte mit dem Programm ImageJ. Die verwendeten Farbstoffe sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Bei der supraauflösenden Fluoreszenzmikroskopie wurde eine Laserpower von 55 mW (Power-Density= 1 kW·cm⁻²) sowie eine *exposure time* der Kamera von 10 ms (dSTORM) beziehungsweise 100 ms (DNA-PAINT) verwendet. Es wurden mindestens 60K *frames* aufgenommen. Für die dSTORM- Messungen wurde Cysteamine (50 mM) in chromatographisch reinem Wasser verwendet.

Tabelle 2: Verwendete Fluoreszenzfarbstoffe mit Anregungswellenlänge λ_{ex} und Emissionswellenlänge λ_{em} .

Fluoreszenzfarbstoff	λ_{ex} / nm	λ_{em} / nm
Alexa 647	650 ¹⁹⁰	665 ¹⁹⁰
Atto 647N	646 ¹⁹¹	664 ¹⁹¹

Die Beschichtung der Glassubstrate mit ITO erfolgte an einem Hochvakuum Beschichtungssystem Classic 250 von Pfeiffer mit einer Turbomolekular-Drag-Pumpe von Pfeiffer. Bei den verwendeten Glassubstraten handelte es sich um Borosilikat Deckgläser 22x22 mm mit einer Dicke von 0,13-0,16 mm von Geyer.

Die Lithografie erfolgte an einem ElphyPlus System von RAITH mit der RAITH Nanosuite Software 6.

Die Atomabsorptionsspektrometrie (AAS)-Messungen wurden von ChemiLytics GmbH & Co. KG an dispergierten Proben mit einer Konzentration von 0,1 mg/mL durchgeführt.

Die verwendeten DNA-Sequenzen sind in Tabelle 3 zusammengefasst. Die Sequenzen wurden, mit Ausnahme der Alexa647 modifizierten Sequenz, von biomers bezogen und ohne weitere Aufreinigung verwendet. Die Alexa647 modifizierte DNA wurde von IBA Lifesciences bezogen und ebenfalls ohne weitere Aufreinigung verwendet. Die Allequotierung der DNA erfolgte in einer Nuaire NU-440-400E Sterilenbank.

Tabelle 3: Verwendete DNA-Sequenzen mit Angabe der Modifikationen und Schmelztemperaturen. Komplementäre Sequenzen sind mit zugehöriger Schmelztemperatur farblich markiert.

Name	Sequenz 5'-3'	Modifikationen	T _m (in Reinstwasser) / °C
DNA-3	CGCATTTCAGGATAAAAAAAAAA	Alexa647-3'	36
DNA-4	ATCCTGAATGCGAAAAAAAAA	Maleimid-3'	36
DNA-4-P8	ATCCTGAATGCGAAAAGTAAGTCG	Maleimid-3'	36 / 20
DNA-P8	CGACTTACCCCC	Atto647N-5'	20

Die Lösungsmittel und Gefäße, die für Arbeiten mit DNA verwendet wurden, wurden zuvor autoklaviert.

3.2 Synthese der Mikrogele

Die Synthese der μ G wurde von Niklas Lothmann (Arbeitsgruppe Simon, Institut für Anorganische Chemie, RWTH Aachen University) unterstützt. Es wurde eine Fällungspolymerisation verwendet, bei der das Monomer Nipmam (5,113 g; 40,2 mmol), die Vernetzer BAC (0,163 g; 0,626 mmol) und MBA (0,194 g; 1,26 mmol) und das Tensid CTAB (0,013 g; 0,035 mmol) in einem Dreihalskolben mit Reinstwasser (250 ml) vorgelegt wurden. Der Initiator V50 (0,164 g; 0,605 mmol) wurde in Reinstwasser (50 mL) gelöst und beide Lösungen wurden für 45 Minuten mit Argon entgast. Die Monomerlösung wurde unter konstantem Argonstrom auf 70 °C erhitzt und die Initiatorlösung wurde hinzugegeben. Das Gemisch wurde für 3,5 h bei 70 °C gerührt. Anschließend wurde über Nacht bei Raumtemperatur (RT) gerührt. Es wurde über Glaswolle filtriert und anschließend zweimal 20 min und zweimal 15 Minuten bei 14.000 rpm und 36 °C zentrifugiert und mit Wasser gewaschen. Die Mikrogele wurden gefriergetrocknet und mittels DLS und REM charakterisiert.

Die Synthese der Kern- μ G wurde analog von Ali Cetin im Rahmen seiner von mir betreuten Forschungsarbeit in der Arbeitsgruppe Simon durchgeführt, wobei die Einwaagen der Edukte von der zuvor beschriebenen Synthese abwichen. Es wurden Nipmam (5,1150 g; 40,2 mmol), BAC (0,165 g, 0,63 mmol), MBA (0,195 g, 1,26 mmol) und CTAB (0,0135 g, 0,04 mmol) in 250 mL Reinstwasser vorgelegt. Zudem wurde V50 (0,18 g, 0,66 mmol) in 50 mL Reinstwasser gelöst. Es wurde für 30 Minuten entgast und die Zentrifugation erfolgte dreimal bei 14.000 rpm für 20 min bei 36 °C.

3.3 Synthese der Kern-Schale-Mikrogele

Die Synthese der Kern-Schale- μ G wurde auf Basis der Kern- μ G von Ali Cetin durchgeführt.

Für die Synthese der Kern-Schale- μ G_10 wurden Kern- μ G (0,15 g) mit CTAB (0,0015 g; 0,004 mmol) in Reinstwasser (10 mL) vorgelegt. Eine Lösung aus Nipmam (0,327 g; 2,57 mmol) und MBA (0,024 g; 1,56 mmol) in Reinstwasser (17 mL) sowie eine Lösung aus V50 (0,0109 g; 0,08 mmol) in Reinstwasser (1 mL) wurden für 30 min mit Argon entgast und unter Rühren auf 70 °C erhitzt. Im Abstand von 5 min wurden Monomerlösung (1,7 mL) und Initiatorlösung (0,1 mL) 10-mal zur Kern- μ G Dispersion hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 3,5 h bei 70 °C und anschließend über Nacht bei RT gerührt. Das Kern-Schale- μ G wurde über Glaswolle filtriert, dreimal zentrifugiert (14.000 rpm, 20 min, 36 °C) und mit Wasser gewaschen und gefriergetrocknet.

Für eine Variation der Dicke der Schale wurden die Menge an Monomer und Vernetzer je Zugabeschritt variiert, sowie eine höhere Anzahl an Zugabeschritten verwendet. Die Variationen sind in Tabelle 4 aufgeführt. Eine höhere Menge an Monomer, eine geringere Menge an Vernetzer sowie eine höhere Anzahl an Zugabeschritten sollten hierbei zu größeren Schalen führen.

Tabelle 4: Variationen bei der Synthese der Kern-Schale- μ G.

Bezeichnung	Anteil Monomer (bezogen auf Kern-Schale- μG_10)	Anteil Vernetzer (bezogen auf Kern-Schale- μG_10)	Zugabe- schritte
Kern-Schale-μG_1,5M	1,5	1	10
Kern-Schale-μG_2,0M	2	1	10
Kern-Schale-μG_0,5V	1	0,5	10
Kern-Schale-μG_0,25V	1	0,25	10
Kern-Schale-μG_1,5M-0,5V	1,5	0,5	10
Kern-Schale-μG_1,25M-0,75V	1,25	0,75	10
Kern-Schale-μG_20	1	1	20

3.4 Funktionalisierung der Mikrogele

Das μ G (2 mg/mL; 200 μ L) wurde zentrifugiert (10.000 rpm, 20 °C, 10 min) und der Überstand abgenommen. Es wurde in DTT (7-8 mg, 45,4-51,9 μ mol; 250 μ L; pH8-9) redispergiert und nach 30 min Reaktionszeit dreimal zentrifugiert (10.000 rpm, 20 °C, 10 min) und mit Wasser gewaschen. Das reduzierte μ G wurde über Nacht mit DNA-4-Mal (40 μ L, 0,1 μ mol) oder Alexa647-Mal (40 μ L, 0,1 μ mol) bei 20 °C und 500 rpm geschüttelt. Das Gemisch wurde zweimal mit NaCl (0,1 M) und dreimal mit Wasser gewaschen. Es wurde jeweils bei 10.000 rpm, 20 °C für 10 min zentrifugiert. Die μ G wurden in 200 μ L Wasser redispergiert und bei 4 °C gelagert.

3.5 Hybridisierung der DNA in Mikrogelen

Für die Hybridisierung komplementärer DNA-Stränge, an die im μG gebundenen Stränge, wurden die DNA- μG (200 μL) über Nacht bei 4 °C mit DNA-3-Alexa647 (40 μL , 0,1 μmol) inkubiert. Das Gemisch wurde fünfmal zentrifugiert (10.000 rpm, 20 °C, 10 min), dabei zweimal mit NaCl (0,1 M) und dreimal mit Wasser gewaschen und in Wasser (200 μL) redispersiert.

3.6 Synthese von citratstabilisierten Goldpartikeln

Gold(III)-chlorid-trihydrat (22,8 mg, 57,9 μmol) wurde in Reinstwasser (173 mL) gelöst und zum Sieden gebracht. In Reinstwasser (17 mL) gelöstes Trinatriumcitrat-dihydrat (53,6 mg, 0,17 mol) wurde hinzugegeben. Das Gemisch wurde für 10 min gesiedet und nach Entfernen des Rührkerns auf RT abgekühlt. Die Goldpartikel wurden bei 4 °C im Dunkeln gelagert.

3.7 Beschichtung der Substrate mit ITO

Die Beschichtung der Substrate mit ITO erfolgte durch Niklas Lothmann (Arbeitsgruppe Simon, Institut für Anorganische Chemie, RWTH Aachen University). Die Glassubstrate wurden in einer Mischung aus $\text{NH}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$ (1:1:3) ausgekocht, mit Reinstwasser gespült und im Stickstoffstrom getrocknet. Zusätzlich wurden die Substrate für 120 Sekunden bei 0,4 mbar im Sauerstoffplasma gereinigt.

Die Substrate wurden für 7 Sekunden (s) bei $1,2 \cdot 10^{-2}$ mbar und 100 Watt unter Gleichspannung im Sputterverfahren mit Titan als Haftvermittler beschichtet.

Die Beschichtung mit ITO erfolgte bei $1,6 \cdot 10^{-2}$ mbar und 40 Watt unter Wechselspannung bei Sputterzeiten von 170 s, 220 s, 270 s, 320 s und 1800 s.

3.8 Silanisierung der Substrate

Die Silanisierung der Substrate wurde von Birgit Hahn (Arbeitsgruppe Simon, Institut für Anorganische Chemie, RWTH Aachen University) durchgeführt.

3.8.1 Silanisierung mit 2-(4-Chlorosulfonylphenyl)-ethyltrichlorosilan

Die gekauften ITO-Substrate wurden für 120 s bei 100 W im Sauerstoffplasma gereinigt. Bei den von Niklas Lothmann beschichteten Substraten wurden die Substrate nach dem Transfer aus der Beschichtungsanlage unmittelbar weiterverwendet.

Die ITO-Substrate wurden nasschemisch mit selbst assemblierten 2-(4-Chlorosulfonylphenyl)-ethyltrichlorosilan Monolagen beschichtet, indem sie unter Luftausschluss für 15 min bei RT in 2-(4-Chlorosulfonylphenyl)-ethyltrichlorosilan (0,3 mM in Toluol) inkubiert wurden. Die Substrate wurden je viermal mit Methylenchlorid und Ethanol gespült, mit Stickstoff getrocknet und über Nacht bei 120 °C getrocknet.

3.8.2 Synthese von Silan-Derivaten und Silanisierung mit synthetisierten Silan-Derivaten

Die Synthese des Silan-Derivates wurde unter Argonatmosphäre durchgeführt. 1 mL Phenylethyltrimethoxysilan (4 mM) wurde in 6 mL Dichlormethan gelöst. Chlorsulfonsäure (4 mM) wurde unter Rühren tropfenweise hinzugegeben. Es wurde über Nacht gerührt. Die Synthese wurde sowohl bei RT als auch bei 0 °C durchgeführt. Bei der gekühlten Synthese wurde die Temperatur während des Rührens über Nacht auf RT erhöht.

Die ITO-Substrate wurden nasschemisch mit selbst synthetisierten Silan-Derivaten beschichtet, indem sie unter Luftausschluss für 15 min bei RT in 1 mL der Reaktionslösung in Toluol inkubiert wurden. Die Substrate wurden je viermal mit Methylenchlorid und Ethanol gespült, mit Stickstoff getrocknet und über Nacht bei 120 °C getrocknet.

3.8.3 Silanisierung durch stufenweisen Aufbau des Silan-Derivates an der Oberfläche

Die ITO-Substrate wurden nasschemisch mit selbst assemblierten Phenethyltrimethoxysilan Monolagen beschichtet, indem sie unter Luftausschluss für 15 min bei RT in Phenethyltrimethoxysilan (4 mM in Toluol) inkubiert wurden. Die Substrate wurden je viermal mit Methylenchlorid und Ethanol gespült, mit Stickstoff getrocknet und über Nacht bei 120 °C getrocknet.

Anschließend wurden sie mit 1 M oder 0,1 M Schwefelsäure beziehungsweise 0,1 M Ammoniumsulfat-Lösung inkubiert. Die Reaktion mit Schwefelsäure wurde bei Raumtemperatur für 12 h und für 15 min durchgeführt. Die Reaktionszeit und -temperatur wurden für die Reaktion mit Ammoniumsulfat gemäß Tabelle 5 variiert. Die Substrate wurden sechsmal mit Wasser gewaschen und anschließend getrocknet.

Tabelle 5: Reaktionsbedingungen bei der oberflächengebundenen Silansynthese mit Ammoniumsulfat.

Temperatur / °C	Reaktionszeit / h				
	1	3	4	5	12
10			x	x	
30	x	x	x	x	x

3.9 Funktionalisierung der Substrate

Die beschriebenen ITO-Substrate wurden für 1,5 h in einer PEG-Lösung (1 g PEG, 40 mL pH 11 durch Na_2CO_3) geschüttelt (500 rpm). Anschließend wurden die Substrate einmal mit Wasser gespült und für 5 min in HCl (pH 2) inkubiert. Die Substrate wurden 5-mal mit Wasser gespült und mit Stickstoff getrocknet.

Die cEBL-Strukturen auf den Substraten wurden für 20 min mit Alexa647-Maleimid (10 μL ; 10 μM) inkubiert und anschließend dreimal mit Wasser, fünfmal abwechselnd

mit NaCl (0,1 M) und Wasser und dreimal mit Wasser gespült und anschließend mit Stickstoff getrocknet.

3.10 Abscheidung von Goldpartikeln auf Substraten

Die cEBL-Muster auf den Substraten wurden für 1 h mit AuNP (10 μ L, 2,3 nM, pH 4,5) inkubiert. Es wurde dreimal mit Wasser, fünfmal abwechselnd mit NaCl (0,1 M) und Wasser und fünfmal mit Wasser gespült und mit Stickstoff getrocknet.

4 Ergebnisse und Diskussionen

Im Rahmen dieser Arbeit wurden der Phasenübergang von μG und DNA-funktionalisierten μG (DNA- μG) sowie zwei Vergleichssystemen in Abhängigkeit der Salzkonzentration, die Synthese von Kern-Schale- μG mit regioselektiven Funktionalitäten und die gezielte Immobilisierung von μG in ihrer nativen Struktur an Oberflächen untersucht (Abb. 8).

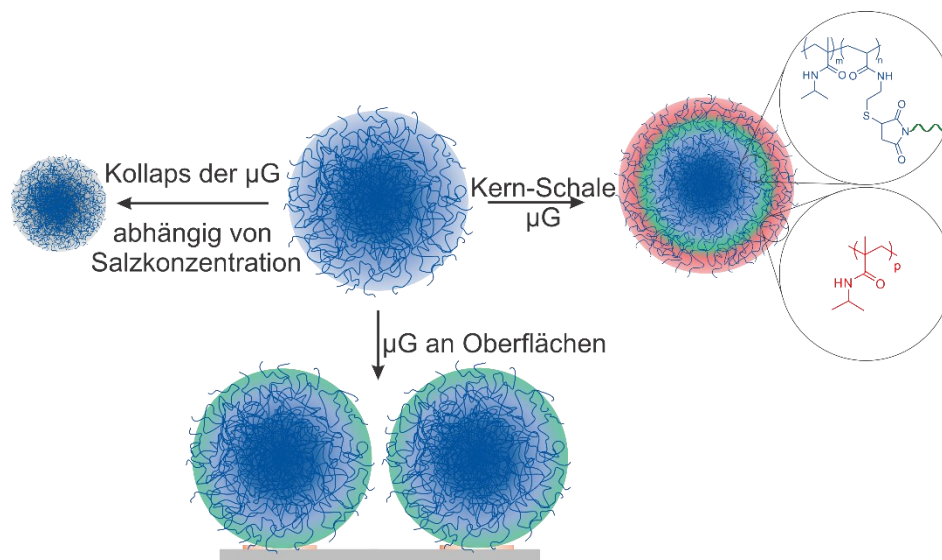


Abb. 8: Übersichtsschema der in dieser Arbeit untersuchten Themen wie der Untersuchung der Beeinflussung der T_{VPT} , der Synthese von Kern-Schale- μG mit regioselektiven Funktionalitäten und der gezielten Immobilisierung von μG an Oberflächen.

4.1 Untersuchungen der salzabhängigen T_{VPT} von Mikrogelen mittels NMR

Die Untersuchung der μG und ihrer T_{VPT} erfolgte in Abhängigkeit der Salzkonzentration und der Funktionalisierung der μG (Abb. 9), wobei drei Salzkonzentration und vier Modifikationen der μG untersucht wurden.

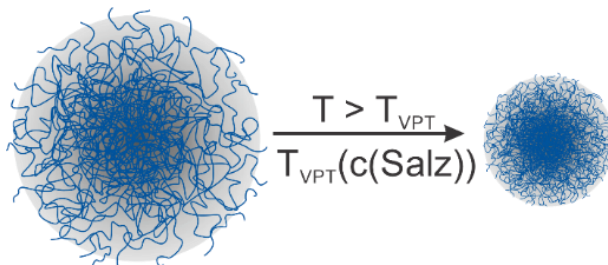


Abb. 9: Schematische Darstellung des Kollapses von μG in Abhängigkeit der Salzkonzentration und der Temperatur. Die graue Färbung symbolisiert unterschiedliche Funktionalisierung der μG .

Es wurden DLS- und NMR-Messungen in H_2O beziehungsweise D_2O , 0,1 M NaCl, 0,14 M NaCl und in phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) durchgeführt. Hierdurch wird der Einfluss des Salzes untersucht, welcher in biomedizinischen Anwendungen

eine entscheidende Rolle spielt. ¹⁴⁰ PBS wird genutzt, um physiologische Bedingungen nachzustellen. ^{42, 192-194} In Anwesenheit von Salzen tritt je nach Zusammensetzung der μG eine Aggregation auf. ^{195, 196} Bei den DLS-Messungen konnte die Aggregation der μG beobachtet werden, wodurch eine quantitative Analyse nicht möglich war. Diese wurde durch die molekulare Betrachtung der Systeme in NMR-Messungen ermöglicht, welche nicht durch die Aggregation beeinträchtigt wurde.

Die Funktionalisierung der μG erfordert zunächst die Reduktion der enthaltenen Disulfide des Vernetzers BAC. Die reduzierten μG (red μG) werden dann mit Maleimid modifizierter DNA (DNA-Mal) umgesetzt, um μG mit kovalent gebundener DNA (DNA- μG) zu erhalten (Abb. 10). Als Referenz wurde das μG zudem analog mit Maleiminid umgesetzt, um μG mit gleicher Vernetzerdichte zu erhalten (Mal- μG) und den tatsächlichen Einfluss der DNA zu untersuchen.

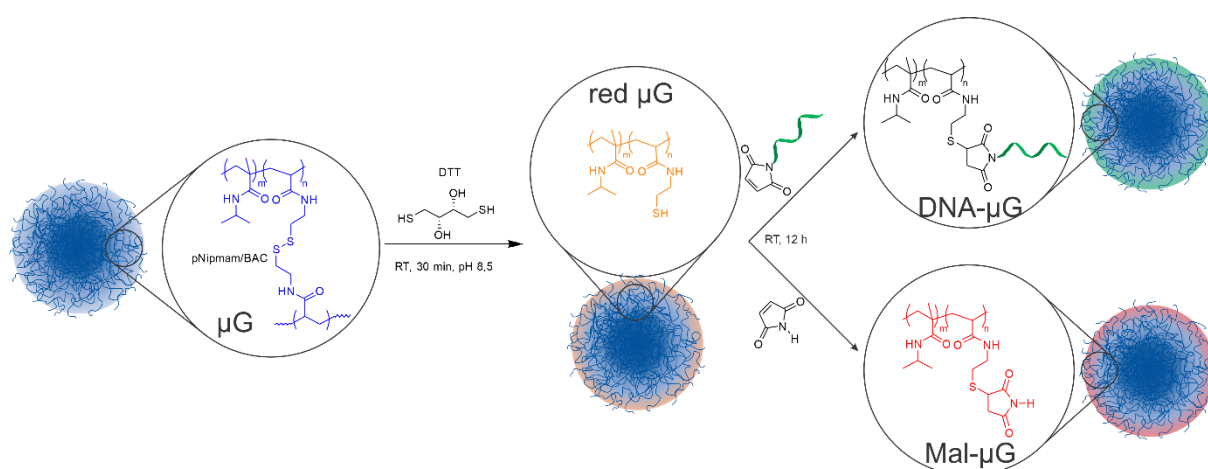


Abb. 10: Schema zur Modifizierung der untersuchten μG , red μG , DNA- μG und Mal- μG .

4.1.1 Charakterisierung der modifizierten Mikrogele

Die DNA-Funktionalisierung der μG wurde über Fluoreszenzmikroskopie überprüft (Abb. 11). Hierfür wurde mit Alexa647-Farbstoff modifizierte, komplementäre ssDNA an die ssDNA der DNA- μG hybridisiert.

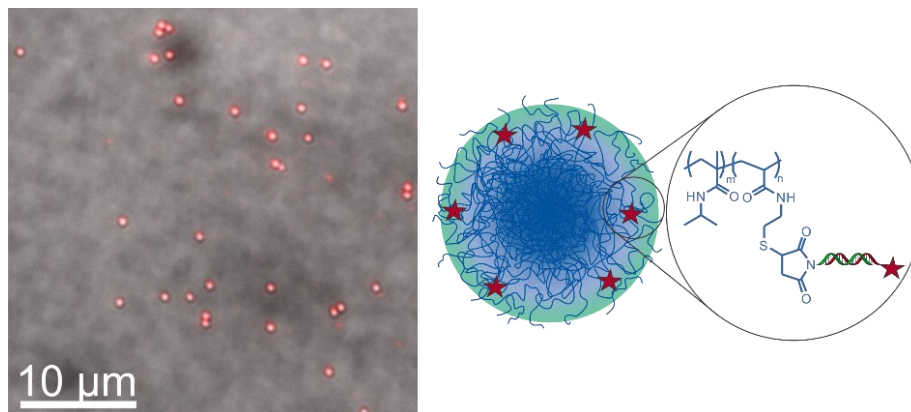


Abb. 11: Überlagerte Durchlicht- (grau) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (rot) der DNA- μ G nach Hybridisierung mit Alexa647 modifizierter ssDNA zusammen mit schematischer Darstellung der Struktur. Die Mikroskopie wurde von Pia Lenßen (Arbeitskreis Wöll, Institut für Physikalische Chemie, RWTH Aachen University) durchgeführt.

In Grau ist die Durchlichtmikroskopie-Aufnahme wiedergegeben, in der weiße Kreise die DNA- μ G darstellen. Das Fluoreszenzsignal ist in Rot dargestellt. Durch die Überlagerung der Durchlichtmikroskopie-Aufnahme mit der Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahme sind die μ G rot eingefärbt, dies bedeutet, dass der Farbstoff innerhalb der DNA- μ G lokalisiert ist. Daraus lässt sich eine erfolgreiche DNA-Funktionalisierung folgern.

Die verschiedenen Modifikationen der μ G wurden mittels DLS untersucht, wobei der hydrodynamische Durchmesser in Abhängigkeit der Temperatur gemessen wurde (Abb. 12). Die zugehörigen berechneten hydrodynamischen Durchmesser (Z-Average) und Polydispersitätsindices (Pdl) befinden sich im Anhang (Abb. 63). Pdl und Z-Average geben Auskunft über die Monodispersität der Probe sowie über die Qualität der Messung. Niedrige Pdl deuten auf monodisperse Systeme hin. Vergleichbare Werte von Z-Average und intensitätsgewichtetem Durchmesser deuten auf eine verlässliche Messung sowie monodisperse Systeme hin.

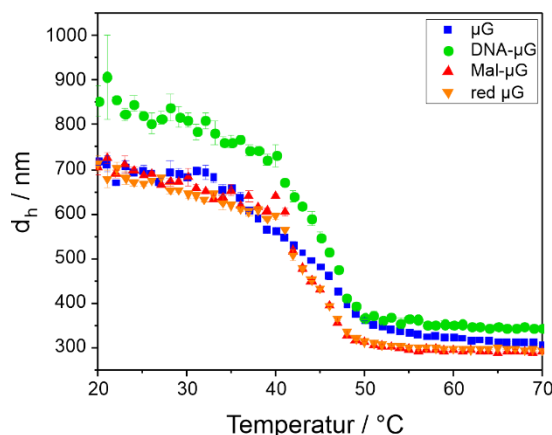


Abb. 12: Intensitätsgewichteter hydrodynamischer Durchmesser der μ G, DNA- μ G, Mal- μ G und red μ G in Abhängigkeit der Temperatur in H_2O .

Für alle Systeme sind größere Durchmesser bei niedrigeren Temperaturen zu erkennen mit einem Abfall der Durchmesser bei höheren Temperaturen. Das μ G, Mal- μ G und red μ G weisen im gequollenen Zustand einen hydrodynamischen

Durchmesser von etwa 700 nm auf, wohingegen das DNA- μ G etwa 800 nm groß ist. Im kollabierten Zustand lassen sich hydrodynamische Durchmesser von etwa 300 nm für das Mal- μ G und red μ G und 350 nm für das DNA- μ G beobachten. Die hydrodynamischen Durchmesser der μ G liegen bei etwa 320 nm. Für die Bestimmung der T_{VPT} wurde ein sigmoidaler Fit über den gesamten Messbereich angewendet. Die T_{VPT} der vier Systeme liegen bei 41 °C bis 44 °C und sind innerhalb der jeweiligen Fehlerbereiche des Fits vergleichbar (Tabelle 15, Anhang).

Die Größen der μ G, DNA- μ G, Mal- μ G und red μ G wurden zudem im getrockneten Zustand mittels REM bestimmt (Abb. 13).

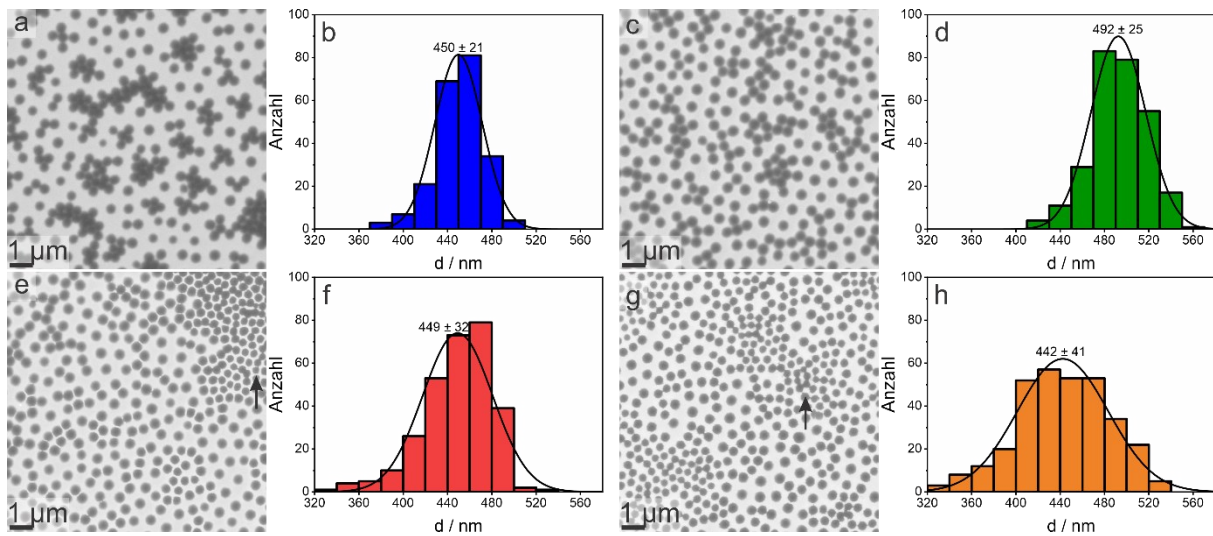


Abb. 13: REM-Aufnahmen (InLens-Detektor) der μ G (a), DNA- μ G (c), Mal- μ G (e) und red μ G (f) mit zugehörigem Histogramm der μ G (b), DNA- μ G (d), Mal- μ G (f) und red μ G (h).

In den REM-Aufnahmen lassen sich die μ G als dunkle Sphären erkennen, die sowohl vereinzelt als auch in Gruppen vorliegen. Bei eng zusammenliegenden μ G lassen sich teilweise Deformationen erkennen (Abb. 13, e, oben rechts, Pfeil, Abb. 13, g, Pfeil). Durch den Einfluss benachbarter μ G lassen sich die kleineren Strukturen in den Aufnahmen der Mal- μ G und red μ G erklären. Bei Betrachtung der einzeln vorliegenden μ G sind für alle vier Systeme monodisperse Strukturen zu beobachten. Für die Bestimmung der Größen wurden bei allen Systemen nur Strukturen betrachtet, welche einzeln vorlagen. Die Durchmesser liegen bei etwa 450 nm für die μ G, Mal- μ G und red μ G und 500 nm für die DNA- μ G. Die größeren Durchmesser der DNA- μ G im dispergierten und getrockneten Zustand lassen sich über elektrostatische Abstoßung der negativ geladenen DNA innerhalb der μ G erklären.²⁴ Bei den DNA- μ G im getrockneten Zustand muss hierbei beachtet werden, dass die elektrostatische Abstoßung bei der Adsorption auf der Oberflächen und dem Spreiten eine Rolle spielt, während der Effekt nach dem Trocknen zu vernachlässigen sein dürfte. Sowohl bei den DNA- μ G als auch bei den red μ G und Mal- μ G wurde die Vernetzerdichte der DNA in gleichem Maß reduziert. Die geringere Vernetzerdichte der DNA- μ G im Vergleich zum μ G kann somit durch den Vergleich mit den red μ G und Mal- μ G als Erklärung ausgeschlossen werden. Bei den Mal- μ G und red μ G können Durchmesser beobachtet werden, die vergleichbar mit denen der μ G sind.

Für die μG und DNA- μG wurden die hydrodynamischen Durchmesser in Abhängigkeit der Temperatur zudem bei verschiedenen Salzkonzentrationen untersucht, um die zugehörigen T_{VPT} zu bestimmen (Abb. 14). Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 aufgelistet. Die gewählten Salzbedingungen ermöglichen Untersuchungen in Richtung physiologischer Bedingungen, welche im Labor mit PBS bei pH 7.4 nachgestellt werden. 42, 192-194

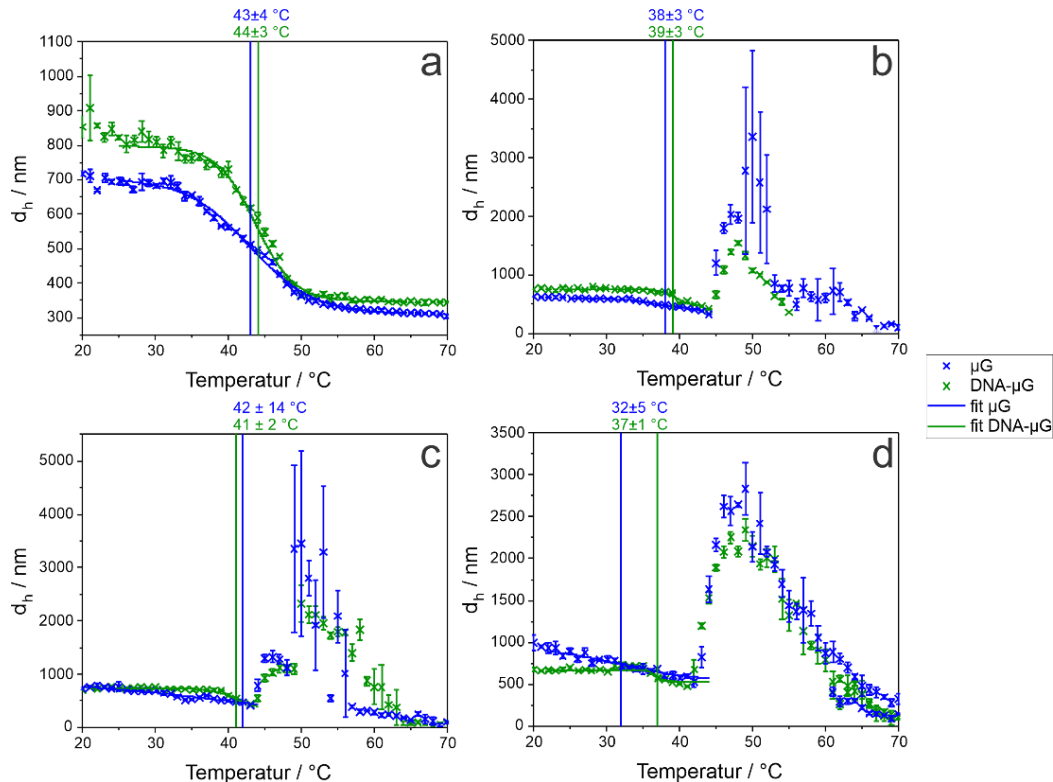


Abb. 14: Intensitätsgewichteter hydrodynamischer Durchmesser der μG und DNA- μG in Abhängigkeit der Temperatur in H₂O (a), 0,1 M NaCl (b), 0,14 M NaCl (c) und in PBS (d).

Die hydrodynamischen Durchmesser der μG und DNA- μG in Wasser (Abb. 14, a) zeigen bei niedrigeren Temperaturen größere Durchmesser mit einem Kollaps bei höheren Temperaturen, welcher zu geringeren Durchmessern führt. Die Messungen in Salzlösungen (Abb. 14, b-d) zeigen oberhalb des Kollapses zunächst eine Zunahme der Durchmesser, gefolgt von einer Abnahme. Die Zunahme der Durchmesser oberhalb der T_{VPT} ist auf Aggregation zurückzuführen, während die folgende Abnahme auf Sedimentation hindeutet.

Die auftretende Aggregation (Abb. 14, b-d) führt dazu, dass der Wendepunkt der Kurve und somit die T_{VPT} nicht mehr sicher bestimmt werden kann. Eine Abschätzung der T_{VPT} (Tabelle 6) wurde über einen sigmoidalen Fit durchgeführt, wobei nicht der gesamte Messbereich betrachtet werden konnte. Die Fits wurden in den betrachteten Bereichen in den Diagrammen als Linien eingezeichnet.

Tabelle 6: Hydrodynamische Durchmesser der μG und DNA- μG im gequollenen Zustand und T_{VPT} bei angepassten Salzkonzentrationen.

Salzkonzentration	$d_{\text{h, gequollen}} / \text{nm}$		$T_{\text{VPT}} / ^\circ\text{C}$	
	μG	DNA- μG	μG	DNA- μG
0 M	690 ± 20	820 ± 40	41 ± 5	44 ± 3
0,1 M	600 ± 20	760 ± 20	38 ± 3	41 ± 2
0,14 M	680 ± 80	730 ± 20	42 ± 14	41 ± 2
PBS	820 ± 100	690 ± 30	32 ± 5	37 ± 1

Das μG zeigt im gequollenen Zustand ab einer Salzkonzentration von 0,14 M eine Zunahme des hydrodynamischen Durchmessers und der Standardabweichung der Größe. Dies deutet auf kolloidale Instabilität hin. Das DNA- μG hingegen zeigt unterhalb der T_{VPT} bei keiner der untersuchten Salzkonzentration Instabilität. Der hydrodynamische Durchmesser im gequollenen Zustand zeigt eine Abnahme mit zunehmender Salzkonzentration von etwa 800 nm auf 700 nm. In PBS entspricht der hydrodynamische Durchmesser dem der μG in Reinstwasser. Dies kann durch die Abschirmung der zuvor beschriebenen elektrostatischen Abstoßung durch die DNA erklärt werden.

Oberhalb der T_{VPT} sind in Salzlösungen für die μG und DNA- μG zunehmende hydrodynamische Durchmesser zu beobachten. Dies ist bei den Messungen der μG stärker ausgeprägt. Die Zunahme der Durchmesser deutet auf Aggregation der Proben in Salzlösungen hin, wodurch keine Bestimmung der hydrodynamischen Durchmesser im kollabierten Zustand möglich ist.

Die abgeschätzten T_{VPT} zeigen eine Abnahme mit steigender Salzkonzentration, ein quantitativer Vergleich der T_{VPT} ist über DLS-Messungen jedoch aufgrund der auftretenden Aggregation und damit verbundenen Unsicherheit des Fits nicht möglich.

Eine wichtige Information, die aus DLS-Messungen gewonnen werden kann, ist eine Abschätzung der Geschwindigkeit des Phasenübergangs der μG in Reinstwasser. Dies ist über zeitabhängige DLS-Messungen möglich (Abb. 65, Anhang). Hierbei wurden die μG zunächst bei 20 °C beziehungsweise 50 °C und die Probenkammer der DLS auf 50 °C beziehungsweise 20 °C temperiert. Mit dem Start der Messung erfuhren die μG somit einen Temperatursprung und der zeitliche Verlauf des hydrodynamischen Durchmessers wurde verfolgt, bis sich ein konstanter Wert einstellte. Der Verlauf der hydrodynamischen Durchmesser der μG innerhalb der ersten halben Stunde der Messungen ist in Abb. 15 dargestellt.

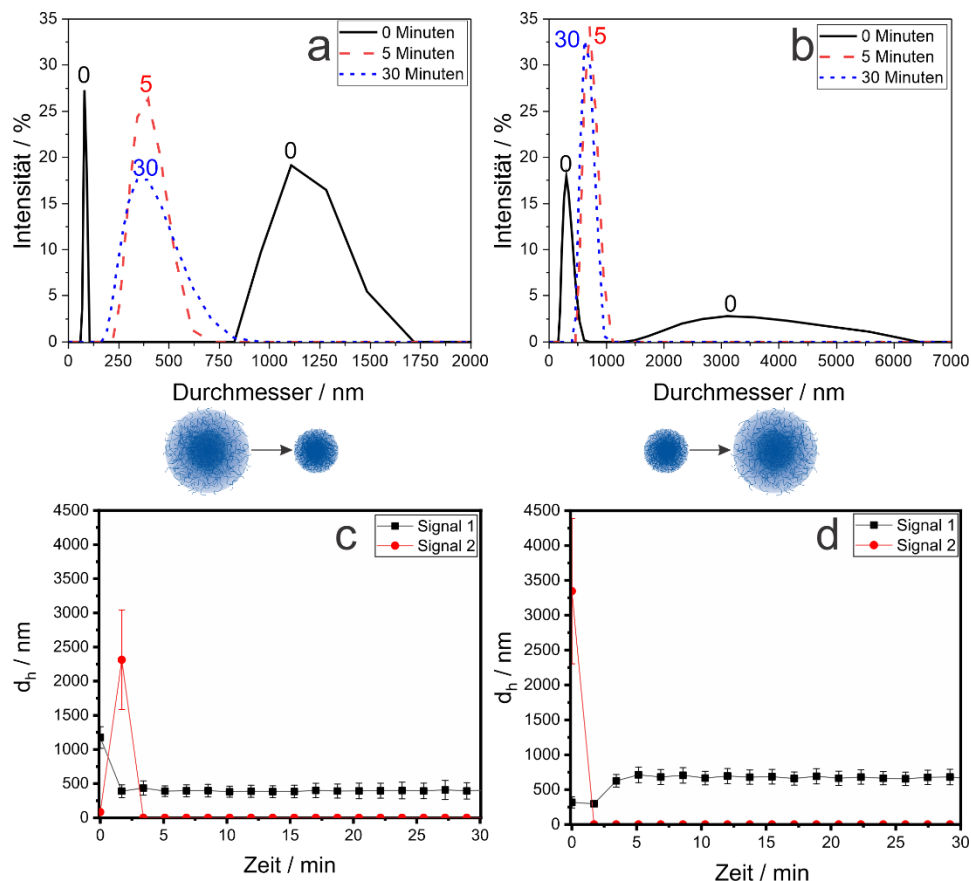


Abb. 15: Exemplarische Intensitätsverteilung für $t=0, 5, 30$ min für den Temperaturwechsel von 20 °C auf 50 °C (a) und 50 °C auf 20 °C (b) zusammen mit dem zeitlichen Verlauf des intensitätsgewichteten hydrodynamischen Durchmessers der μ G für den Temperaturwechsel von 20 °C auf 50 °C (c) und 50 °C auf 20 °C (d).

Die hydrodynamischen Durchmesser der μ G verändern sich mit der Zeit. Während der ersten fünf Minuten der Messung des kollabierenden (Abb. 15 a, c) und quellenden (Abb. 15 b, d) μ G können zwei Signale beobachtet werden. Dies ist damit zu erklären, dass während des Phasenübergangs eine Verteilung von Größen vorliegt, bis die stabile Größe erreicht wurde.¹⁹⁷ Nach fünf Minuten wurde jeweils nur noch ein Signal detektiert, das, wie bei den temperaturabhängigen Messungen bei 20 °C, bei etwa 350 nm und bei 50 °C bei etwa 700 nm lag. Die μ G befanden sich somit im Gleichgewicht und die hydrodynamischen Durchmesser waren während der restlichen Messzeit von 11 Stunden stabil (Abb. 65, Anhang).

4.1.2 NMR-Untersuchungen der modifizierten Mikrogele bei angepassten Salzkonzentrationen

NMR-Untersuchungen bieten die Möglichkeit einer Analytik auf molekularer Ebene,¹⁴⁰⁻¹⁴² sodass die Aggregation der μ G in Salzlösungen für die Messung kein Problem darstellt. NMR-Spektren von μ G zeigen im Allgemeinen verbreiterte Signale und ein schlechtes Signal-Rausch-Verhältnis aufgrund der Polymerisierung.²³ Durch Hahn-Echo Messungen mit Wassersättigung lassen sich Signalbreite und Hintergrundsignale optimieren. Dies ist im Vergleich zum Spektrum des Monomers Nipmam mit Zuordnung der Signale zu den funktionellen Gruppen in Abb. 16 gezeigt.

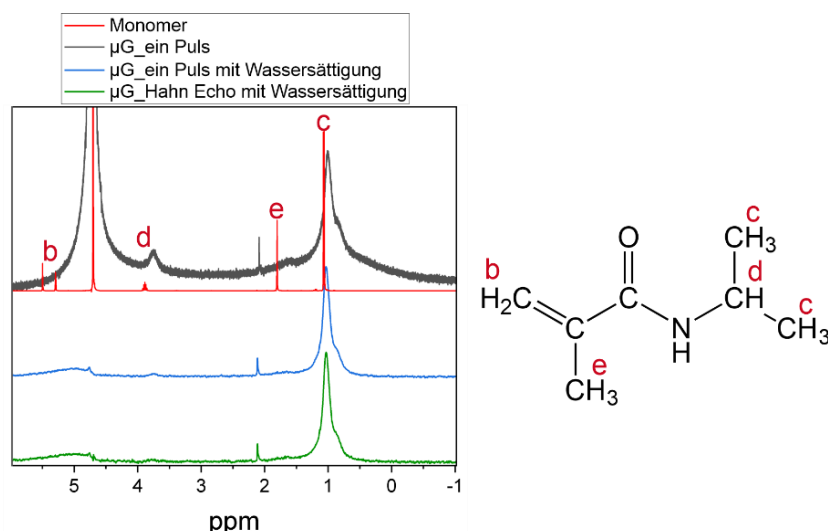


Abb. 16: ¹H-NMR-Spektrum des Monomers Nipmam mit Zuordnung der Signale und ¹H-NMR-Spektren des μG pNipmam-BAC mit einer ein Puls Messung, einer ein Puls Messung mit Wassersättigung und einer Hahn Echo Messung mit Wassersättigung.

Der Vergleich des Spektrums des Monomers und des Spektrums des μG in einer Messung mit einem Puls zeigt die Verbreiterung der Signale durch die Polymerisierung sowie eine Verschiebung der Signale. Im Spektrum des μG zeigt das Signal c der Isopropylgruppe eine geringe chemische Verschiebung und befindet sich bei etwa 1 ppm. Das Signal e wurde aufgrund der Mobilitätseinschränkung durch die Polymerisierung auf 0,8 ppm und somit stark zu geringeren chemischen Verschiebungen beeinflusst. Das Signal d zeigt ebenfalls nur leicht niedrigere chemische Verschiebungen und befindet sich bei etwa 3,8 ppm. Eine weitere starke Verschiebung erfährt das Signal b, das der CH₂-Gruppe zugeordnet werden kann, an welcher die Kette des Polymers entsteht. Dieses Signal ist auf etwa 1,6 ppm verschoben und nur noch schwach ausgeprägt. Die Zuordnung der Signale erfolgte aufgrund vergleichbarer Ergebnisse in Anlehnung an die Literatur¹⁴⁶ und ist daher nicht in alphabetischer Reihenfolge. Zudem kann beim Spektrum des μG ein neues Signal bei etwa 2 ppm beobachtet werden, welches von molekularen Verunreinigungen hervorgerufen wird, jedoch nicht zugeordnet werden kann. Der Vergleich des Spektrums des μG mit dem Spektrum mit Wassersättigung zeigt eine deutliche Verringerung der Signalbreite sowie eine Erhöhung des Signal-Rausch-Verhältnisses. Zudem kann der Wasserpeak bei etwa 5 ppm kaschiert werden. Eine weitere Verbesserung konnte durch eine Hahn-Echo-Messung mit Wassersättigung erreicht werden. Daher wird im Folgenden diese Messmethode gewählt.

Das μG sowie das DNA-μG wurden in reinem D₂O, in 0,1 M NaCl, 0,14 M NaCl sowie in PBS untersucht. Das red μG und Mal-μG wurden in reinem D₂O untersucht. Für die weitere Analyse werden ausschließlich die ausgeprägten Signale der Methylgruppen an der Polymerkette bei 0,8 ppm und der Methylgruppen der Isopropyleinheit bei etwa 1 ppm betrachtet. Die zugehörigen Ausschnitte der temperaturabhängigen ¹H-NMR-Spektren von 1,55 ppm bis 0,45 ppm sind in Abb. 17 dargestellt.

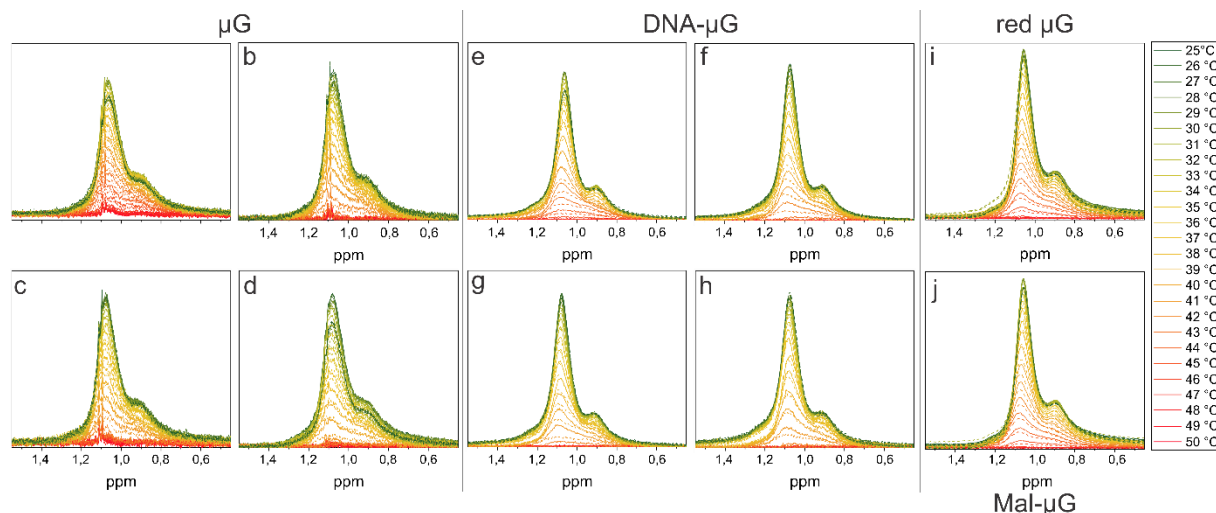


Abb. 17: Ausschnitt aus den temperaturabhängigen NMR-Spektren der μG in D_2O (a), in 0,1 M NaCl (b), in 0,14 M NaCl (c), und in PBS (d), sowie der DNA- μG in D_2O (e), in 0,1 M NaCl (f), in 0,14 M NaCl (g), und in PBS (h), und der red μG (i) und Mal- μG (j) in D_2O .

Die gewählten Ausschnitte der Spektren zeigen zwei verschiedene Signale, wobei das Signal bei 0,8 ppm im Vergleich schneller abnimmt. Dies ist durch die stärkere Einschränkung der Beweglichkeit der Methylgruppe zu erklären. Mit zunehmender Temperatur ist bei allen untersuchten Proben eine abnehmende Signalintensität zu beobachten.

Für jedes Spektrum wurde die relative Signalintensität in Abhängigkeit der Temperatur ermittelt (Abb. 18). Es wurde auf die maximale Signalintensität normiert. Die Signalintensitäten in Abhängigkeit der Temperatur ohne Normierung befinden sich im Anhang (Abb. 66).

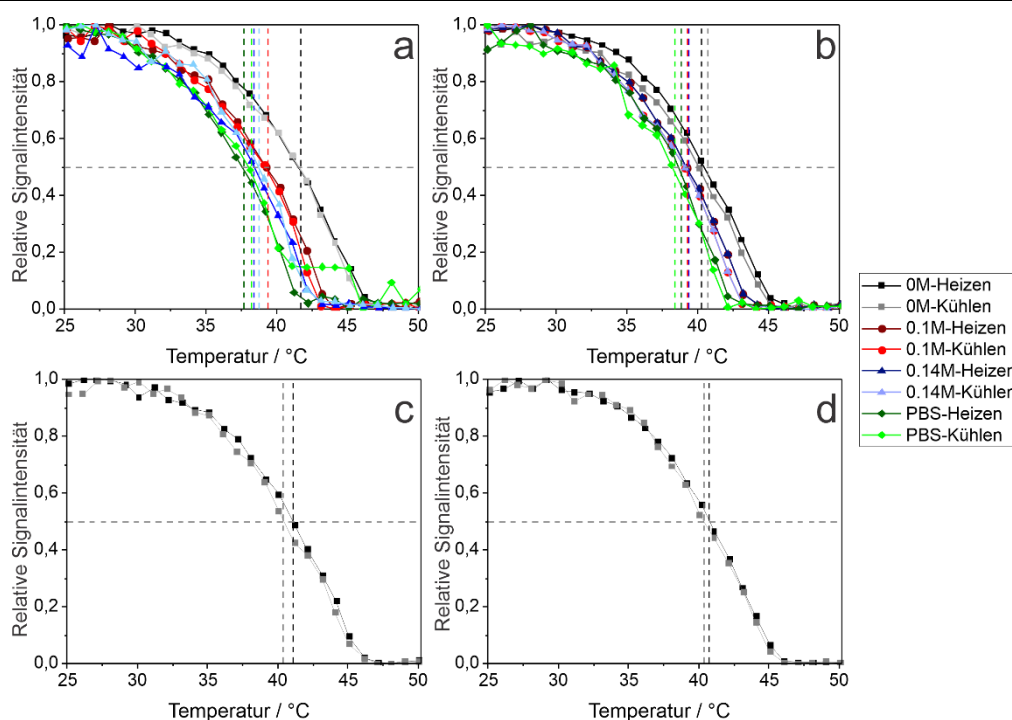


Abb. 18: Relative Signalintensitäten der ^1H -NMR-Spektren der μG (a), der DNA- μG (b), der red μG (c) und der Mal- μG (d) in Abhängigkeit der Temperatur mit gekennzeichneten T_{VPT} bei einem relativen Signal von 0,5 bei angepassten Salzkonzentrationen.

Die relativen Signalintensitäten aller untersuchten Proben nehmen mit zunehmender Temperatur ab. Die Kurvenverläufe der Messungen bei verschiedenen Salzkonzentrationen unterscheiden sich insofern, als mit zunehmender Salzkonzentration eine Verschiebung abnehmender relativer Signalintensitäten zu niedrigeren Temperaturen zu beobachten ist. Bei einer relativen Signalintensität von 0,5 lässt sich die jeweilige T_{VPT} ermitteln.¹⁴⁶ Die T_{VPT} der μG und DNA- μG nimmt mit zunehmender Salzkonzentration ab. Dies deutet auf den Effekt des Aussalzens hin, welcher bereits in der Literatur beschrieben wurde.^{24, 31-33} Das Aussalzen ist auf eine weniger bevorzugte Ausbildung von Bindungen zwischen Wassermolekülen und μG in Anwesenheit von NaCl zurückzuführen.^{198, 199} Die Hydrathülle der μG wird destabilisiert und es bilden sich hydrophobe intermolekulare Bindungen innerhalb der μG aus.²⁰⁰¹⁹⁷

Bei allen untersuchten Proben lässt sich eine Hysterese von unter 1 °C zwischen Heiz- und Kühlexperimenten beobachten. Diese Hysterese ist durch hydrophobe Bindungen zu erklären, welche bereits zu Beginn des Kollapses gebildet werden. Für ein vollständiges Quellen muss die Temperatur unterschritten werden, bei der diese hydrophoben Bindungen entstehen, wodurch ein verzögerter Phasenübergang beobachtet werden kann.¹⁴⁷

Die ermittelten T_{VPT} der verschiedenen Systeme sind für einen weiteren Vergleich in Abb. 19 dargestellt und in Tabelle 18 im Anhang zusammengefasst.

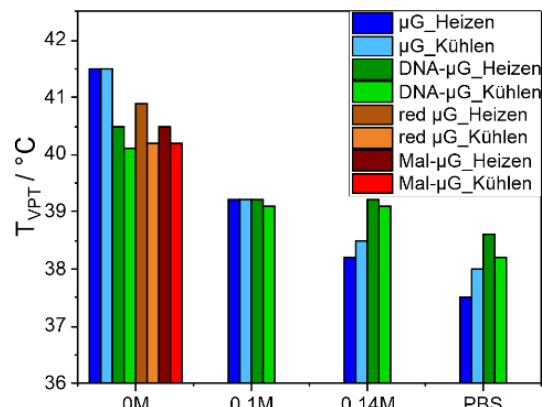


Abb. 19: Anhand von NMR-Untersuchungen ermittelte T_{VPT} der μG , DNA- μG , red μG und Mal- μG bei angepassten Salzkonzentrationen.

Für das μG ist bei den Heizexperimenten eine Abnahme der T_{VPT} von 41,5 °C in D_2O auf etwa 37,5 °C in PBS zu beobachten. Die DNA- μG zeigen eine Abnahme der T_{VPT} von 40,5 °C auf 38,6 °C. Für das μG beträgt der Unterschied der T_{VPT} in reinem D_2O und in PBS somit 4,0 °C und beim DNA- μG nur noch 1,9 °C. Der Vergleich mit der Literatur zeigt eine Erniedrigung der T_{VPT} von pNipmam um 3 °C bei einer NaCl Konzentration von 0,1 M und um 10 °C bei einer Konzentration von 1 M.²⁴ Für pNipam konnte eine Erniedrigung der T_{VPT} um 2,1 °C bei einer NaCl Konzentration von 0,1 M und um 7,5 °C bei einer Konzentration von 0,4 M gezeigt werden.¹⁴⁰ Die für pNipam beobachtete Erniedrigung der T_{VPT} in 0,1 M NaCl ist vergleichbar mit der hier beobachteten Erniedrigung der T_{VPT} des μG um 2,3 °C in 0,1 M.

Der Vergleich der reinen μG und DNA- μG zeigt eine um etwa 1 °C niedrigere T_{VPT} nach der DNA-Funktionalisierung. Durch die höhere Hydrophilie der DNA- μG ¹²⁶ wurde eine höhere T_{VPT} erwartet. Dadurch, dass DNA als Polyanion Natrium als Gegenionen in das System mit einbringt, welche mittels AAS nachgewiesen werden konnten (Tabelle 17, Anhang), ist jedoch bereits in reinem D_2O ein Aussalzen möglich. Der Vergleich mit den Mal- μG und red μG zeigt auch für diese Systeme niedrigere T_{VPT} als für das μG . Dies deutet darauf hin, dass der beobachtete Effekt nach der DNA-Funktionalisierung nicht allein auf die DNA zurückzuführen ist. Die geringere Vernetzerdichte der modifizierten μG sollte keinen Einfluss auf die Lage der T_{VPT} , sondern nur auf die Breite des Phasenübergangs haben.^{18, 36} Ein möglicher Grund für die Erniedrigung der T_{VPT} der modifizierten μG wäre die veränderte Polarität, wobei dies bislang nicht weiter untersucht wurde und somit zukünftig weiter betrachtet werden sollte.

Während die T_{VPT} der DNA- μG in D_2O niedriger ist als die der μG , zeigt die Messung in PBS eine höhere T_{VPT} für die DNA- μG . Dies ist ebenfalls für die Messung in 0,14 M NaCl zu beobachten, während die Messung in 0,1 M NaCl vergleichbare Werte für beide Systeme zeigt. Der Einfluss der Salzkonzentration auf die T_{VPT} der DNA- μG ist somit weniger stark ausgeprägt als bei der T_{VPT} der μG . Sowohl die μG als auch die DNA- μG zeigen in PBS eine für Wirkstofftransportsysteme interessante T_{VPT} um 38 °C im Bereich der Körpertemperatur.¹⁵⁰

Um die Phasenübergänge eines μG -Systems in unterschiedlichen Umgebungen oder die Phasenübergänge unterschiedlicher Systeme miteinander zu vergleichen, ist die Bestimmung thermodynamischer Größen wie der Enthalpie, Entropie und freien Gibbs Energie nützlich. Auch wenn es bei Phasenübergängen von μG -Systemen aufgrund ihrer Komplexität schwierig ist diesen Größen eine physikalische Bedeutung zu verleihen, ermöglichen sie dennoch eine Quantifizierung des Einflusses von zum Beispiel Salz oder anderen Additiven auf den Phasenübergang.¹⁴⁰

Für die Ermittlung der thermodynamischen Größen des Phasenübergangs wurde zunächst, wie bereits in der Literatur beschrieben,^{140, 146-148} ein van't Hoff Plot genutzt. Hierbei wurde, durch Bildung der natürlichen Logarithmen der Gleichgewichtskonstanten, eine Linearisierung der Messdaten durchgeführt. Zur Ermittlung der Gleichgewichtskonstanten K_{eq} wurde Gleichung 1 mit den relativen Signalintensitäten Int der jeweiligen Temperatur T verwendet.

$$K_{\text{eq}} = \frac{\text{Int}(298\text{K}) - \text{Int}(T)}{\text{Int}(T)}$$

Gleichung 1

Die logarithmierten Gleichgewichtskonstanten wurden gegen die inverse Temperatur in van't Hoff Plots aufgetragen (Abb. 20).

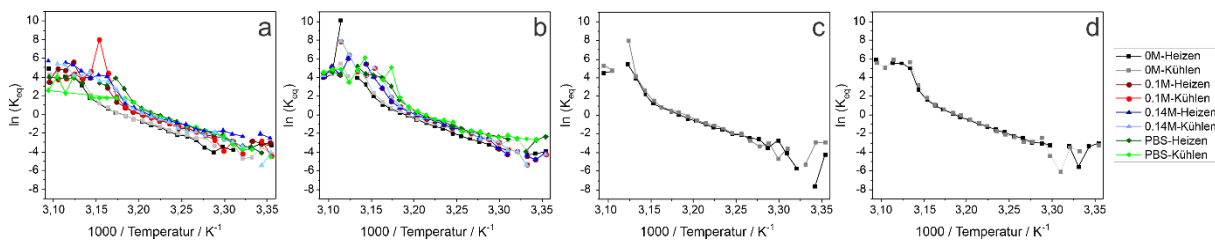


Abb. 20: Van't Hoff Plot der ^1H -NMR-Spektren der μG (a), der DNA- μG (b), der red μG (c) und der Mal- μG (d) bei angepassten Salzkonzentrationen.

Die van't Hoff Plots zeigen lineare Bereiche mit stark schwankenden Werten zu Beginn und gegen Ende der Plots. Dies ist damit zu begründen, dass Abweichungen der Daten durch Hintergrundschwankungen bei relativen Signalintensitäten um 0 und 1 durch die Linearisierung besonders verstärkt werden. Die Bestimmung der thermodynamischen Größen ΔH und ΔS ist anhand eines linearen Fits möglich. Hierbei müssen zunächst die Grenzen Int_a und Int_b für den linearen Bereich festgelegt werden, wobei einzelne Punkte einen großen Einfluss auf die resultierenden thermodynamischen Größen haben. Aufgrund der genannten stärkeren Schwankungen um relative Signalintensitäten von 0 und 1 wurden zur Festlegung der Grenzen Werte genutzt deren Differenz von 0 und 1 maximal ist. Zusätzlich sollten die Grenzen des linearen Fits für eine höhere Genauigkeit eine maximale Entfernung voneinander aufweisen und somit möglichst viele Daten einschließen (Gleichung 2).

$$(1 - \text{Int}_a) \cdot (\text{Int}_a - 0) \cdot (1 - \text{Int}_b) \cdot (\text{Int}_b - 0) \cdot |\text{Int}_a - \text{Int}_b| = \max$$

Gleichung 2

Die graphische Auswertung der Berechnung der Grenzen ist exemplarisch für das μG in D_2O in Abb. 21 gezeigt.

4 Ergebnisse und Diskussionen

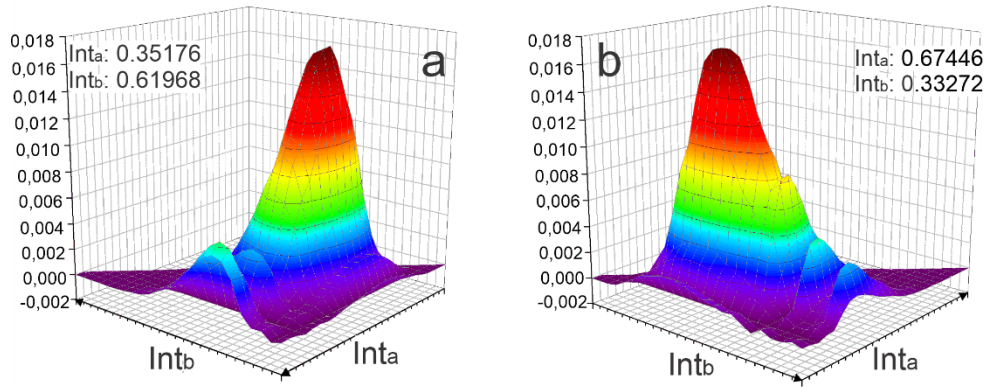


Abb. 21: Graphische Darstellung der nach Gleichung 2 ermittelten relativen Signalintensitäten Int der 1H -NMR Spektren der μG mit maximalem Abstand zueinander sowie zu 0 und 1 in D_2O während der Heiz- (a) und Kühllexperimente (b).

Die graphische Darstellung der mit Gleichung 2 berechneten Werte zeigt ein Maximum für das Wertepaar Int_a und Int_b . Diese weichen für das Heiz- und Kühllexperiment voneinander ab und werden daher für jedes Experiment einzeln bestimmt (Abb. 67, Anhang, Tabelle 19, Anhang).

Die Berechnung der Grenzen ermöglicht den linearen Fit in den van't Hoff Plots (Abb. 22).

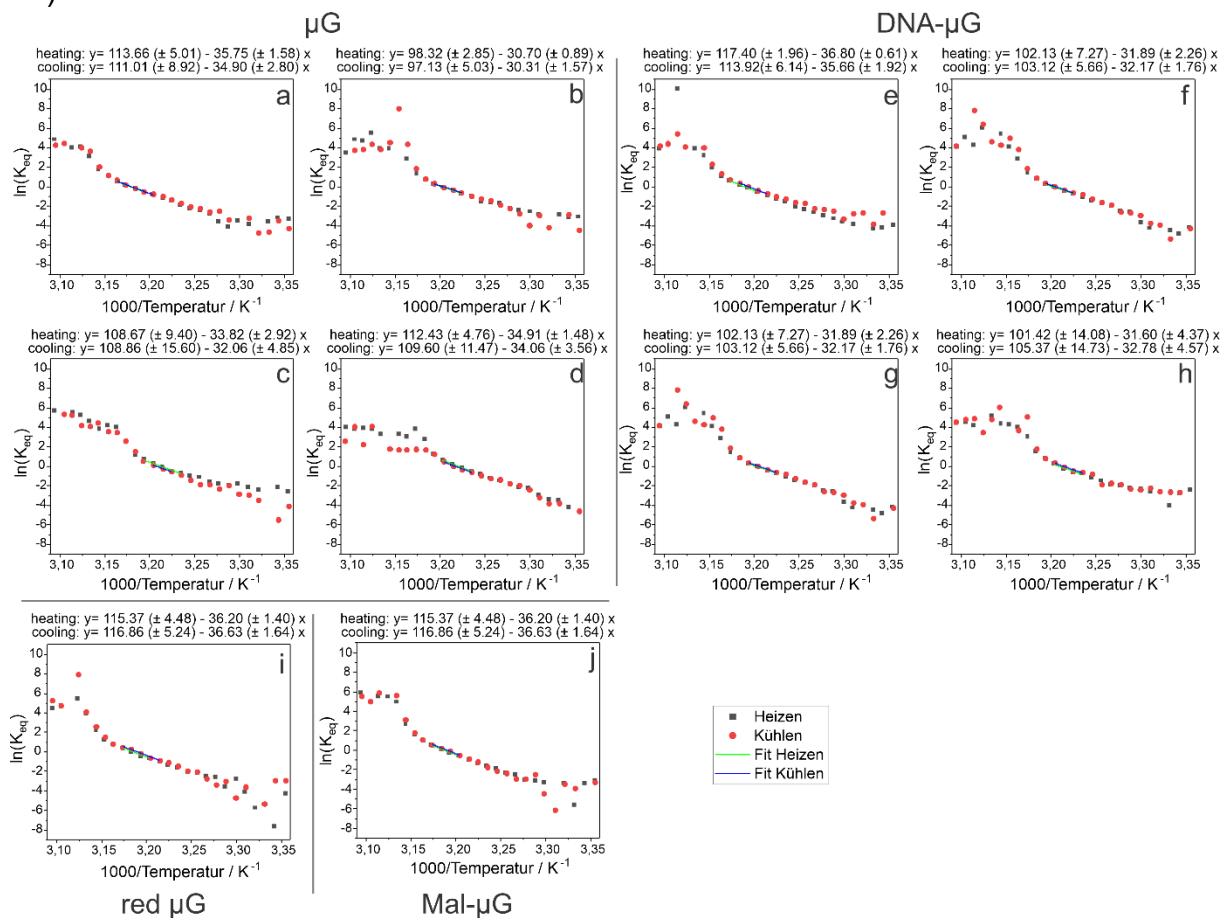


Abb. 22: Linearer Fit an die van't Hoff Plots der 1H -NMR-Spektren der μG (a-d), DNA- μG (e-h), red μG (i) und Mal- μG (j) in D_2O (a, e, i, j) in 0,1 M NaCl (b, f), in 0,14 M NaCl (c, g) und in PBS (d, h).

Anhand der Steigung und des Achsenabschnitts des linearen Fits lassen sich mit Gleichung 3 und Gleichung 4 die Enthalpie ΔH und Entropie ΔS (Tabelle 20) sowie darüber die freie Gibbs Energie ΔG (Gleichung 5) des Phasenübergangs bestimmen. R ist hierbei die allgemeine Gaskonstante.

$$\Delta H = -R \cdot \text{Steigung}$$

Gleichung 3

$$\Delta S = R \cdot \text{Achsenabschnitt}$$

Gleichung 4

$$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S$$

Gleichung 5

Die ermittelten thermodynamischen Größen sind in Abb. 23 dargestellt und im Anhang (Tabelle 21) zusammengefasst.

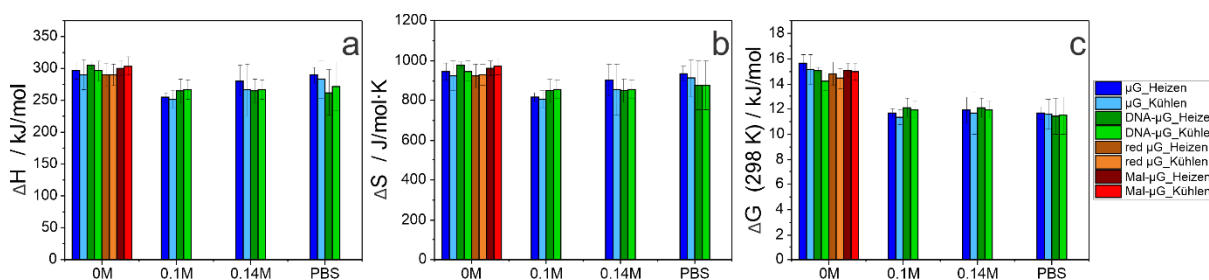


Abb. 23: Thermodynamische Größen ΔH (a), ΔS (b) und ΔG (c) für den Phasenübergang der μG , DNA- μG , red μG und Mal- μG bei angepassten Salzkonzentrationen, ermittelt über den linearen Fit von van't Hoff Plots.

Die ermittelten Werte für ΔH (Abb. 23, a) und ΔS (Abb. 23, b) bei angepassten Salzkonzentrationen zeigen für die μG zunächst eine Ab- und dann eine Zunahme mit Erhöhung der Salzkonzentration. Für die DNA- μG ist der gleiche Trend weniger stark ausgeprägt zu beobachten. Der Vergleich der μG , DNA- μG , red μG und Mal- μG in D_2O zeigt vergleichbare Werte innerhalb der Fehlerbereiche. Durch den linearen Fit inklusive der Linearisierung der Daten sowie der Beschränkung des Fits auf einen Bereich der Daten resultieren große Fehler der erhaltenen thermodynamischen Größen. Für ΔG (Abb. 23, c) können für die μG und DNA- μG mit steigender Salzkonzentration sinkende Werte beobachtet werden. Bei der ersten Salzzugabe kann eine starke Abnahme beobachtet werden und nur leichte Veränderungen bei Erhöhung der Salzkonzentration. Dieser Effekt wurde bereits in der Literatur beschrieben.¹⁴⁰ Wie bereits bei der T_{VPT} beobachtet, liegt ΔG in D_2O bei den DNA- μG niedriger als bei den μG . Die freie Gibbs Energie der red μG und Mal- μG ist vergleichbar mit den Werten der DNA- μG . Dies deutet erneut darauf hin, dass die beobachteten Veränderungen nicht allein auf die DNA zurückzuführen sind, sondern auch auf den Prozess der Funktionalisierung. Alle erhaltenen Energien sind positiv, was einem thermodynamisch stabileren gequollenen Zustand bei 25 °C entspricht.^{140, 147, 148} Es kann eine Hysterese zwischen Heiz- und Kühlexperimenten beobachtet werden.

Ein nicht linearer Fit, welcher direkt auf die relativen Signalintensitäten in Abhängigkeit der Temperatur angewendet werden kann, bietet gegenüber dem vorangegangenen linearen Fit den Vorteil, dass alle Datenpunkte ohne weitere Bearbeitung einbezogen

werden können. Der nicht lineare Fit basiert auf einem sigmoidalen Fit, welcher beispielsweise auch für die Analyse von IR- Daten ²¹ angewendet wurde.

Für den nicht linearen Fit wird der gesamte Datenbereich für den Fit genutzt. Für eine erste Abschätzung der Parameter ΔH und ΔS werden jedoch die relativen Signalintensitäten genutzt, welche als Grenzen für die linearen Fits benutzt wurden (Tabelle 19, Anhang). Mit den zugehörigen Gleichgewichtskonstanten der jeweiligen Temperatur lassen sich über Gleichung 6 erste Werte für die Enthalpie und Entropie über den Schnittpunkt der zugehörigen Geraden ermitteln (Abb. 68, Anhang).

$$\Delta H = \Delta S \cdot T - T \cdot R \cdot \ln K_{eq}(T) \quad \text{Gleichung 6}$$

Durch Umformen der Gleichung 6 nach der Gleichgewichtskonstanten ergibt sich Gleichung 7.

$$K_{eq}(T) = e^{\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R}} \quad \text{Gleichung 7}$$

Durch Umformen der Gleichung 1, welche für die Berechnung der Gleichgewichtskonstanten genutzt wurde, lässt sich die Abhängigkeit der relativen Signalintensität von der Gleichgewichtskonstanten darstellen und zudem durch Int_0 und Int_1 eine Ungenauigkeit der Werte um 0 und um 1 ergänzen (Gleichung 8).

$$\text{Int} = \text{Int}_0 + \text{Int}_1 \cdot \frac{1}{K_{eq}(T) + 1} \quad \text{Gleichung 8}$$

Durch Einsetzen von Gleichung 7 in Gleichung 8 lässt sich nun eine nicht lineare Gleichung aufstellen (Gleichung 9), mit der die thermodynamischen Größen ΔH und ΔS direkt an die relativen Signalintensitäten Int gefittet werden können.

$$\text{Int} = \text{Int}_0 + \text{Int}_1 \cdot \frac{1}{1 + e^{\frac{\Delta H}{T \cdot R}} \cdot e^{\frac{\Delta S}{R}}} \quad \text{Gleichung 9}$$

Aufgrund der vier zu fittenden Parameter wurden zunächst Int_0 und Int_1 mit Hilfe der zuvor abgeschätzten ΔH und ΔS bestimmt. Anschließend wurden die Werte für Int_0 und Int_1 verwendet, um ΔH und ΔS zu verfeinern und schließlich die vier Parameter gemeinsam gefittet.

Der nicht lineare Fit angewendet auf die relativen Signalintensitäten in Abhängigkeit von der Temperatur ist in Abb. 24 dargestellt. Die zugehörigen Parameter sind im Anhang zusammengefasst (Tabelle 22).

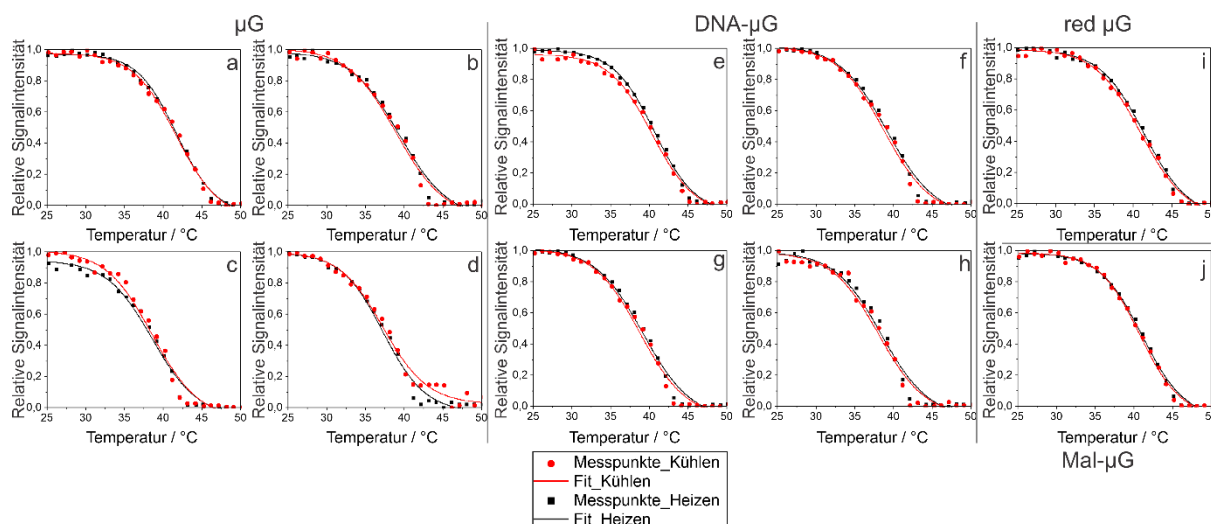


Abb. 24: Nicht linearer Fit der thermodynamischen Größen ΔH und ΔS an die relativen Signale der ^1H -NMR-Spektren der μG (a-d), DNA- μG (e-h), red μG (i) und Mal- μG (j) in D_2O (a, e, i, j) in 0,1 M NaCl (b, f), in 0,14 M NaCl (c, g) und in PBS (d, h).

Die Messdaten sind als Punkte eingezeichnet, während der Fit durch eine Linie dargestellt wird. Der nicht lineare Fit beschreibt die Daten bei niedrigen und mittleren Temperaturen gut und zeigt Abweichungen oberhalb der T_{VPT} , wenn das relative Signal auf 0 abfällt. Dies ist damit zu begründen, dass messbedingt gerade die schwachen Signale unterdrückt werden und der steile Abfall der Messpunkte somit als Messartefakt anzusehen ist und keinen physikalischen Effekt des Phasenübergangs darstellt.

Die über den nicht linearen Fit ermittelten thermodynamischen Größen sind in Abb. 25 dargestellt und im Anhang zusammengefasst (Tabelle 23). Die freie Gibbs Energie wurde erneut über Gleichung 5 berechnet.

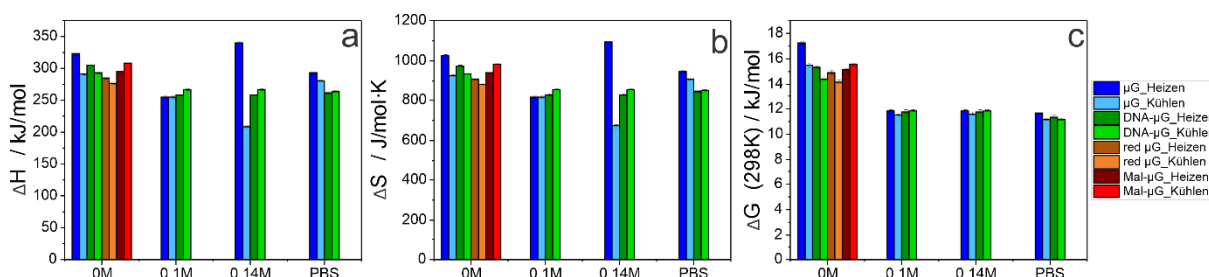


Abb. 25: Thermodynamische Größen ΔH (a), ΔS (b) und ΔG (c) für den Phasenübergang der μG , DNA- μG , red μG und Mal- μG bei angepassten Salzkonzentrationen, ermittelt über den nichtlinearen Fit an die relativen Signale der ^1H -NMR Spektren.

Die über den nicht linearen Fit erhaltenen Werte des μG für ΔH (Abb. 25, a) zeigen zunächst eine Ab- gefolgt von einer Zunahme mit einer ausgeprägten Abweichung der Werte für das Heiz- und Kühlexperiment in 0,14 M NaCl. Für die DNA- μG ist mit Salzzugabe eine Abnahme der ΔH zu beobachten, während bei weiterer Salzzugabe konstante Werte zu beobachten sind. Der Vergleich der μG , DNA- μG , red μG und Mal- μG in D_2O zeigt die niedrigsten Werte für das red μG und die höchsten für die μG , wobei alle Werte zwischen 285 kJ/mol und 325 kJ/mol liegen. Diese Abweichungen sind vergleichbar mit den Abweichungen durch die Hysterese, die beim μG bei

290 kJ/mol und 325 kJ/mol liegen. Für ΔS (Abb. 25, b) sind die gleichen Trends zu beobachten. Bei ΔG (Abb. 25, c) ist hingegen eine deutliche Abnahme der Werte in D_2O und in 0,1 M NaCl für die μG und DNA- μG zu beobachten. Mit weiterer Erhöhung der Salzkonzentration kann keine signifikante Veränderung beobachtet werden. Die Abnahme der freien Gibbs Energie ist in Übereinstimmung mit der Abnahme der T_{VPT} bei Salzzugabe. Der schwächere Effekt der Erhöhung der Salzkonzentration im Vergleich zur ersten Salzzugabe wurde bereits in der Literatur beobachtet, jedoch nicht erklärt.^{140, 148} Unter allen untersuchten Bedingungen ist die bereits beschriebene Hysterese zu beobachten.

Der Vergleich der erhaltenen Werte für die freie Gibbs Energie über den linearen und den nicht linearen Fit ist in Abb. 26 dargestellt. Die Werte sind im Anhang zusammengefasst (Tabelle 24).

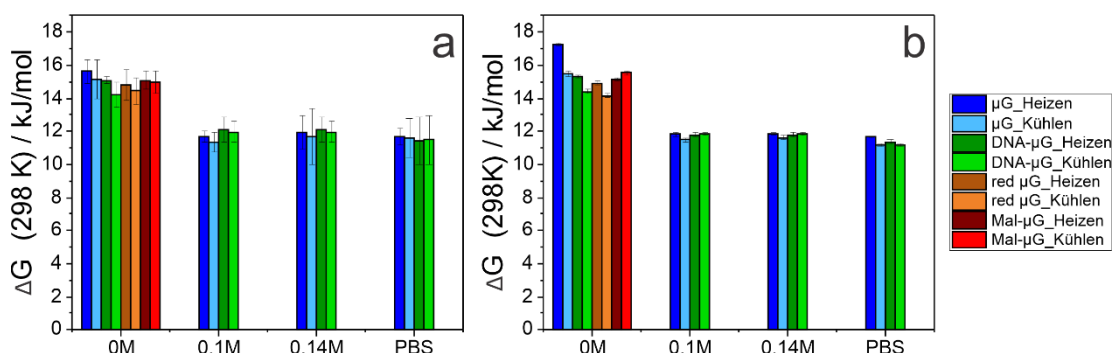


Abb. 26: Gegenüberstellung von ΔG ermittelt über den linearen Fit (a) und den nicht linearen Fit (b) bei angepassten Salzkonzentrationen für die μG und DNA- μG und in D_2O für die red μG und Mal- μG .

Der Vergleich der ΔG , welche über den linearen Fit und den nicht linearen Fit erhalten wurden, zeigt ähnliche Werte mit den gleichen Trends. Auffällig sind die signifikant kleineren Fehlerbereiche des nicht linearen Fits.

Um einen Vergleich der thermodynamischen Daten mit Literaturdaten und anderen μG zu ermöglichen, werden diese auf kooperative Einheiten bezogen. Eine kooperative Einheit beschreibt hierbei die Polymerketten zwischen Vernetzpunkten. Der Bezug wird daher durch die Division durch die theoretische Vernetzdichte möglich, auch wenn die reale kooperative Einheit nicht bekannt^{140, 146-148} und aufgrund möglicher physikalischer Vernetzungen³⁵ schwierig zu ermitteln ist.

In der Literatur werden zwei separate Schritte während des Phasenübergangs beobachtet und analysiert. Der erste Schritt wird hierbei der Bildung hydrophober Bindungen zugeordnet und der zweite Schritt dem Brechen der Wasserstoffbrückenbindungen und der Reorganisation der Wassermoleküle.^{140, 146-148} Aufgrund der Messbedingungen von 25 °C bis 50 °C sind die hier ermittelten Werte auf den zweiten Schritt zu beziehen und werden somit nur mit diesem verglichen.

Der Vergleich der über den nicht linearen Fit erhalten thermodynamischen Daten, bezogen auf kooperative Einheiten, mit Daten aus der Literatur ist in Abb. 27 dargestellt und im Anhang (Tabelle 25) zusammengefasst.

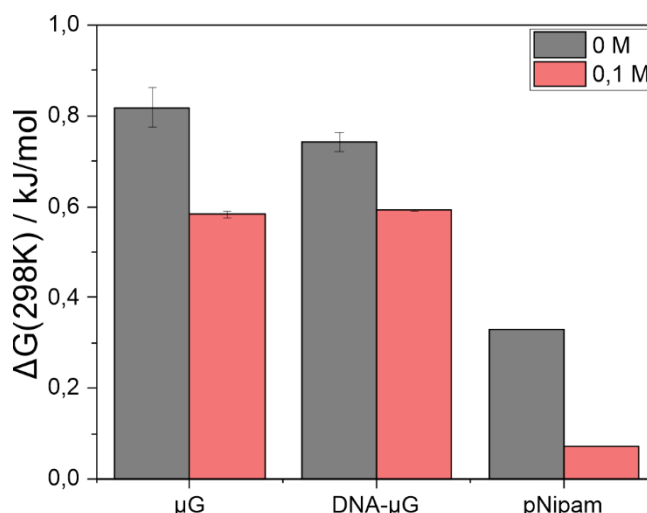


Abb. 27: Vergleich von ΔG für das μG und DNA- μG bezogen auf kooperative Einheiten, ermittelt über einen nicht linearen Fit mit Literaturdaten für pNipam in 0 M^{146, 147} und 0,1 M¹⁴⁰. Die Daten für das μG und DNA- μG wurden hierbei für das Heiz- und Kühlexperiment zusammengefasst und die Abweichung als Fehlerbalken dargestellt.

Die hier ermittelten ΔG für das μG und DNA- μG , beide basierend auf pNipmam, sind höher als die Literaturdaten für pNipam. Dies ist in Übereinstimmung mit der höheren T_{VPT} des pNipmam. Bei einem Vergleich der Differenz der ΔG für das μG und pNipam bei Salzzugabe kann unabhängig vom enthaltenen Monomer eine Differenz von etwa 0,3 kJ/mol beobachtet werden. Bei den DNA- μG ist mit etwa 0,2 kJ/mol eine geringere Differenz zu beobachten. Dies ist auf das beginnende Aussalzen in D₂O durch das Einbringen der DNA zurückzuführen.

Durch die Einführung hydrophiler DNA in die μG konnte eine unerwartete Erniedrigung der T_{VPT} beobachtet werden. Einher damit gingen niedrigere ΔG als bei den reinen μG . Durch die Betrachtung der DNA als Polyanion inklusive Gegenionen ergibt sich eine mögliche Erklärung, da bereits ein Aussalzen auftreten kann. Hierbei muss jedoch berücksichtigt werden, dass auch die modifizierten red μG und Mal- μG in D₂O ähnliches Verhalten zeigten ohne DNA zu beinhalten. Die Konzentration der Gegenionen der DNA ist im Vergleich zur Konzentration der verwendeten Salzlösungen während der Messungen vernachlässigbar. In Salzlösungen konnten ähnliche T_{VPT} und ΔG für die μG und DNA- μG beobachtet werden, wodurch die Erklärung des Aussalzens durch die DNA inklusive der Gegenionen unterstützt wird. In PBS zeigten die μG und DNA- μG eine T_{VPT} um 38 °C.

Der hier vorgestellte nicht lineare Fit ermöglicht die direkte Bestimmung thermodynamischer Größen ohne Linearisierung der Daten über den gesamten Messbereich. Die erhaltenen thermodynamischen Größen waren vergleichbar mit den Werten, die über den literaturbeschriebenen, linearen Fit erhalten wurden. Die Daten aus dem nicht linearen Fit zeigten signifikant kleinere Fehlerbereiche. Zudem konnten im Vergleich mit Literaturdaten eines anderen Mikrogels, welches auf pNipam basierte,

vergleichbare Änderungen der freien Gibbs Energie durch Salzzugabe gezeigt werden.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass NMR-Untersuchungen die Analyse des Phasenübergangs von μG selbst dann ermöglichen, wenn Aggregation auftritt, welche eine Analyse über DLS-Messungen nicht zulässt. Zudem wird ein quantitativer Vergleich des Phasenübergangs von μG Systemen unter verschiedenen Bedingungen oder mit unterschiedlichen Zusammensetzungen ermöglicht.

4.2 Kern-Schale-Mikrogele mit regioselektiven Funktionalitäten

Für die Synthese von Kern-Schale- μ G mit regioselektiven Funktionalitäten wurden zunächst Kern- μ G synthetisiert, die die Vernetzer BAC und MBA enthalten. Bei der Synthese der Schale wurde ausschließlich der Vernetzer MBA verwendet, um die anschließenden DNA-Funktionalisierung ausschließlich im Kern zu ermöglichen (Abb. 28).

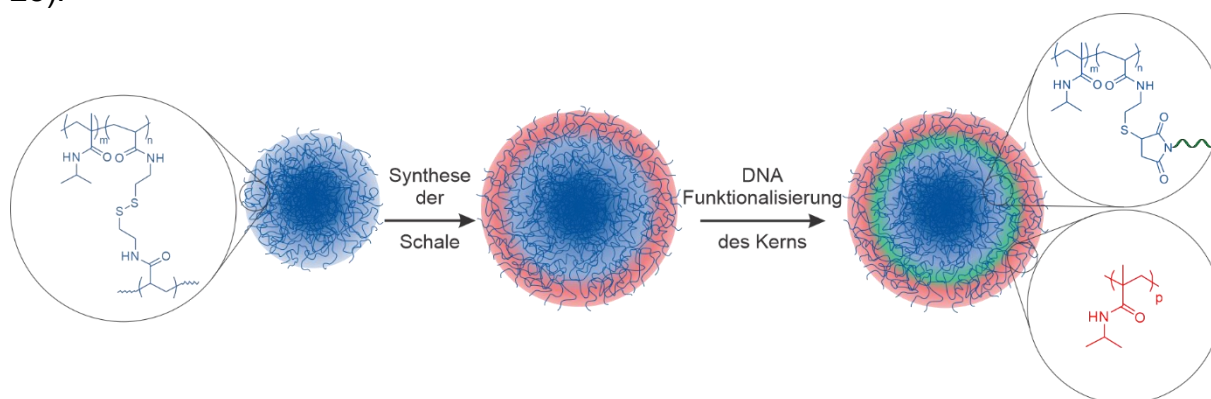


Abb. 28: Schematische Darstellung der Synthese von Kern-Schale- μ G mit regioselektiven Funktionalitäten mit anschließender DNA-Funktionalisierung.

Die erhaltenen μG wurden mittels TEM, REM, AFM, DLS und Fluoreszenzmikroskopie analysiert. Somit konnten zum einen die Größen der μG unter unterschiedlichen Bedingungen verglichen und die Kern-Schale-Struktur verifiziert werden und zum anderen konnte eine Lokalisierung der Funktionalisierungen überprüft werden. Unabhängig vom Nachweis einer Kern-Schale-Struktur beziehungsweise deren anteiligen Verhältnis werden alle in diesem Teilkapitel vorgestellten μG als Kern-Schale- μG bezeichnet.

Die Synthesen der Kern- und Kern-Schale- μG wurden von Ali Cetin im Rahmen einer Forschungsarbeit unter meiner Anleitung durchgeführt. Die TEM-Messungen wurden von Thorsten Ohlerth (Arbeitsgruppe Simon, Institut für Anorganische Chemie, RWTH Aachen University) durchgeführt.

Die regioselektiven Funktionalitäten der μG wurden mittels dSTORM und DNA-PAINT von Pia Lenßen (Arbeitskreis Wöll, Institut für Physikalische Chemie, RWTH Aachen University) überprüft. Die Fluoreszenzmikroskopie-Daten werden hier ausschließlich zur Verifizierung der regioselektiven Funktionalisierungen verwendet. Daher erfolgt eine Auswertung der Daten nur hinsichtlich der erhaltenen Größen der funktionalisierten Bereiche.

4.2.1 Charakterisierung der Kern- und Kern-Schale-Mikrogele

Die Kern- μ G sowie die Kern-Schale- μ G, bei denen die Menge an zugegebenem Edukt je Schritt variiert wurde, wurden mittels TEM untersucht (Abb. 29).

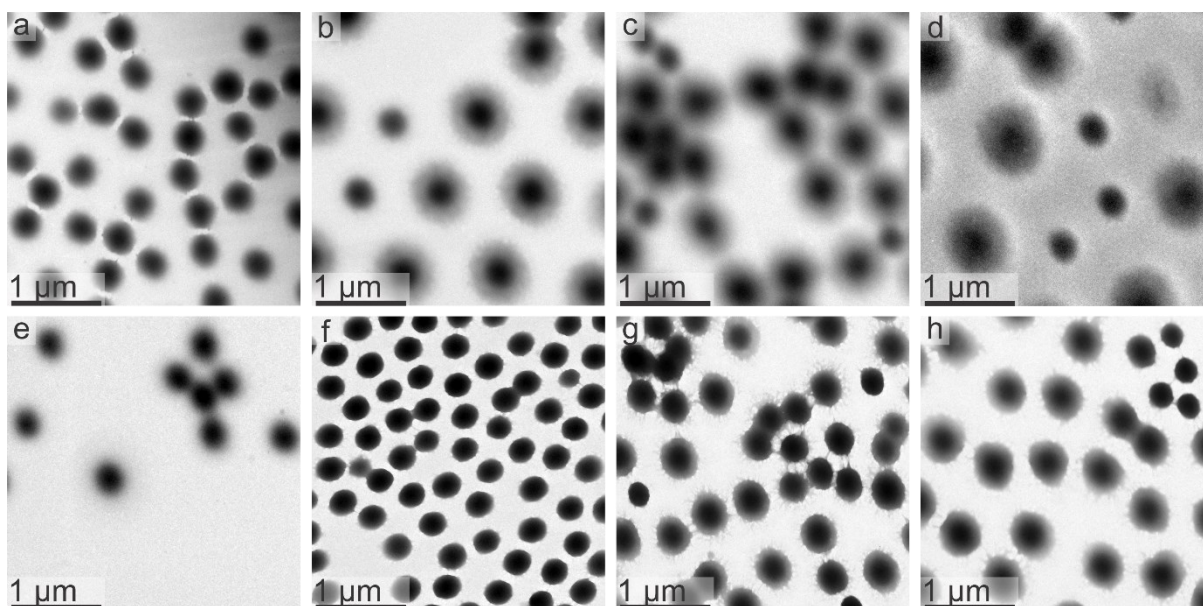


Abb. 29: TEM-Aufnahmen Kern- μ G (a), Kern-Schale- μ G₁₀ (b), Kern-Schale- μ G_{1,5M} (c), Kern-Schale- μ G_{2,0M} (d) Kern-Schale- μ G_{0,5V} (e) Kern-Schale- μ G_{0,25V} (f), Kern-Schale- μ G_{1,25M-0,75V} (g) Kern-Schale- μ G_{1,5M-0,5V} (h).

In den TEM-Aufnahmen (Abb. 29) sind die μ G als dunkle, annähernd runde Strukturen zu sehen. μ G nach Synthesen, die eine Schale erzeugen sollen, zeigen mitunter einen helleren Randbereich. Die Helligkeitsunterschiede lassen sich auf unterschiedliche Dichten der Kern- und Schale-Strukturen zurückführen. Während anhand des Bildes ohne Schale (Abb. 29, a) von den Kernen ausgegangen wird, können die helleren Bereiche den Schalen zugeordnet werden. Die Kern- μ G (Abb. 29, a) zeigen einen Durchmesser von etwa 350 nm mit einer engen Größenverteilung. Das Kern-Schale- μ G₁₀ (Abb. 29, b) weist eine bimodale Größenverteilung mit Größen von etwa 420 nm und 720 nm auf. Die kleineren μ G machen etwa 10 % aus. Bei den kleineren μ G kann es sich entweder um während der Synthese der Schale neu entstandene μ G oder um verbliebene Kern- μ G handeln. Die größeren Strukturen zeigen Schalen, welche die Kerne regelmäßig umgeben. Sie lassen sich an einer geringeren Helligkeit erkennen und zeigen in engem Kontakt zueinander eine Deformation. Aufgrund der Helligkeit lässt sich vermuten, dass die kleineren μ G verbliebene Kern- μ G sind, welche bei der Aufreinigung nicht abgetrennt werden konnten.

Die Kern-Schale- μ G_{1,5M} (Abb. 29, c) und Kern-Schale- μ G_{2,0M} (Abb. 29, d) bei denen im Vergleich die 1,5- beziehungsweise 2-fache Menge an Monomer in jedem Zugabeschritt eingesetzt wurde, zeigen unregelmäßigere Strukturen und eine höhere Polydispersität. Zudem sind bei den Kern-Schale- μ G_{2,0M} auch kleinere Strukturen zu erkennen. Die hellere, kleine Struktur (Abb. 29, d, oben rechts) könnte ein neu gebildetes μ G aus Schalenmaterial darstellen, während es sich bei den dunkleren Strukturen (Abb. 29, d, mittig) vermutlich um verbliebene Kern- μ G handelt.

Bei den Synthesen, bei denen weniger Vernetzer eingesetzt wurde, lässt sich sowohl für die Kern-Schale- $\mu\text{G}_{0,5\text{V}}$ (Abb. 29, e) als auch für die Kern-Schale- $\mu\text{G}_{0,25\text{V}}$ (Abb. 29, f) anhand der TEM-Aufnahmen keine Schale erkennen. Die Kern-Schale- $\mu\text{G}_{1,25\text{M}-0,75\text{V}}$ (Abb. 29, g) und Kern-Schale- $\mu\text{G}_{1,5\text{M}-0,5\text{V}}$ (Abb. 29, h) zeigen ansatzweise die Bildung einer Schale, welche jedoch deutlich weniger ausgeprägt und weniger regelmäßig ist als die der Kern-Schale- μG_{10} . Zudem sind μG ohne Schale zu erkennen.

Kern-Schale-Struktur sind anhand der TEM-Aufnahmen für die Kern-Schale- μG_{10} , Kern-Schale- $\mu\text{G}_{1,5\text{M}}$ und Kern-Schale- $\mu\text{G}_{2,0\text{M}}$ zu erkennen. Eine Erhöhung der Menge an Monomer scheint hierbei zu größeren Schalen zu führen. Die Variation der Menge an Vernetzer sowie die Kombination aus Variation an Vernetzer und Monomer führt zu unzureichenden Schalen. Die regelmäßigsten Kern-Schale Strukturen konnten bei dem Kern-Schale- μG_{10} erzielt werden, auch wenn die Abtrennung kleinerer μG noch optimiert werden muss.

Bezogen auf das Ausgangsrezept für Kern-Schale- μG_{10} wurde bei gleichen Mengen an Monomer und Vernetzer die Anzahl von Zugabeschritten von 10 auf 20 verdoppelt. Die resultierenden Kern-Schale- μG_{20} wurden ebenfalls mittels TEM untersucht (Abb. 30).

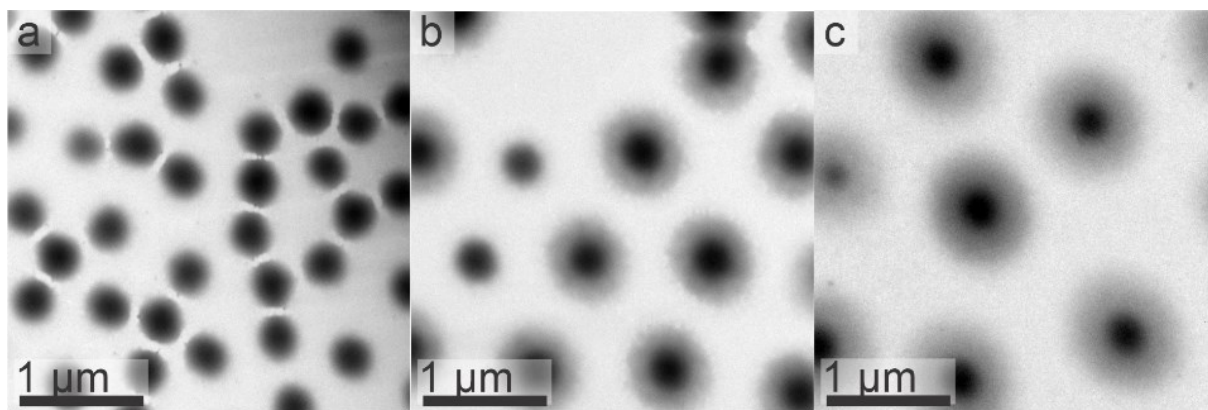


Abb. 30: TEM-Aufnahmen der Kern- μG (a), der Kern-Schale- μG mit 10facher Reaktanden Zugabe (b) und der Kern-Schale- μG mit 20facher Reaktanden Zugabe (c).

Der Vergleich der Kern- μG (Abb. 30, a) mit den Kern-Schale- μG_{10} (Abb. 30, b) und den Kern-Schale- μG_{20} (Abb. 30, c) zeigt die zunehmende Dicke der Schale. Die Kerne der Kern-Schale- μG sind dunkler als die Schalen, welche die Kerne regelmäßig umgeben. Bei beiden Kern-Schale- μG war aufgrund ihrer Größe und damit kleineren Anzahl in den TEM-Aufnahmen nur das Auszählen einer geringeren Anzahl an Einzelstrukturen möglich als bei den Kern- μG . Die anhand der TEM-Aufnahmen bestimmten Größen der μG sind zusammen mit der Anzahl der ausgezählten μG in Tabelle 7 zusammengefasst. Das zugehörige Histogramm befindet sich im Anhang (Abb. 69).

Tabelle 7: Durchmesser der Kern- und Kern-Schale- μG im getrockneten Zustand auf Kohlenstoff im TEM.

Mikrogel	d / nm	Anzahl der vermessenen Strukturen	Zunahme der Größe / % (bezogen auf Kern- μG)
Kern- μG	350 ± 40	223	-
Kern-Schale- μG_{10}	420 ± 30	9	20
	720 ± 20	82	110
Kern-Schale- μG_{20}	950 ± 50	91	170

Die synthetisierten Kern- μG , Kern-Schale- μG_{10} und Kern-Schale- μG_{20} wurden zudem mittels REM (Abb. 70, Anhang) untersucht. Die Kern- μG (Abb. 70, a) zeigten sowohl in den Aufnahmen mittels SE-Detektor als auch in den Aufnahmen mittels InLens-Detektor vergleichbare Größen mit einem Durchmesser um 400 nm. Diese Größe ist unter Berücksichtigung der Fehler bei der Größenbestimmung vergleichbar mit der anhand von TEM-Aufnahmen ermittelten Größe. Bei den Kern-Schale- μG_{10} (Abb. 70, b) konnten bei Berücksichtigung einer größeren Anzahl an Strukturen ebenfalls vergleichbare Größen, mit denen aus den TEM-Aufnahmen erhalten werden. Die Kern-Schale-Struktur konnte anhand der Aufnahmen mittels InLens-Detektor nicht beobachtet werden. Für die Kern-Schale- μG_{20} (Abb. 70, c) wurden deutlich kleinere Durchmesser ermittelt als anhand der TEM-Aufnahmen und die Schalen konnten mit dem InLens-Detektor erneut nicht beobachtet werden. REM eignet sich somit nicht ausreichend zur Charakterisierung der Kern-Schale-Struktur, kann aber das TEM bei der Größenbestimmung ergänzen. Die ermittelten Größen sind in Tabelle 8 zusammengefasst. Das zugehörige Histogramm ist in Abb. 71 im Anhang gezeigt.

Tabelle 8: Durchmesser der Kern- μG , Kern-Schale- μG_{10} und Kern-Schale- μG_{20} ermittelt anhand der REM-Aufnahmen.

μG	SE-Detektor		InLens-Detektor	
	d / nm	Anzahl der vermessenen Strukturen	d / nm	Anzahl der vermessenen Strukturen
Kern- μG	400 ± 30	247	400 ± 20	261
Kern-Schale- μG_{10}	620 ± 70	223	650 ± 70	278
Kern-Schale- μG_{20}	670 ± 90	216	680 ± 90	202

Zusätzlich wurden die Kern- μG , Kern-Schale- μG_{10} und Kern-Schale- μG_{20} mittels AFM charakterisiert und anhand der Höhenbilder Profile zur Ermittlung der Höhe und Breite der Strukturen erstellt (Abb. 31).

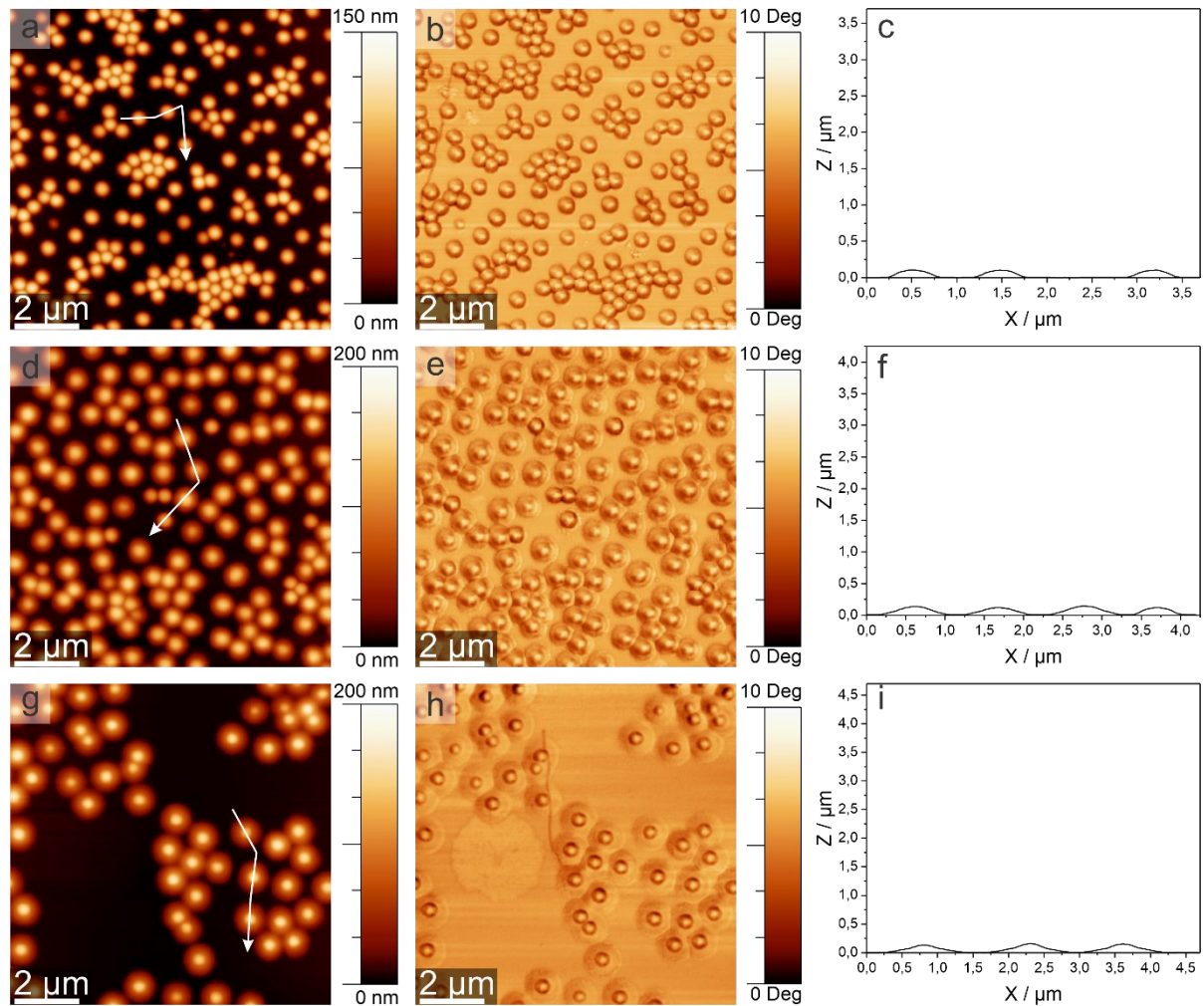


Abb. 31: AFM-Aufnahmen der Kern- μ G, (a, b) Kern-Schale- μ G₁₀ (d, e) und Kern-Schale- μ G₂₀ (g, h) mit zugehörigem Höhenprofil (c, f, i) und gekennzeichneten Pfad zur Bestimmung des Profils im Höhenbild.

Die μ G sind in den Topographiedarstellungen als erhöhte Strukturen zu erkennen (Abb. 31, a, d, g). In den Phasenbildern ist eine Phasenverschiebung an den gleichen Positionen und in gleicher Form wie in den Topographiebildern erkennbar (Abb. 31, b, e, h). Die Kern- μ G (Abb. 31, a-c) zeigen monodisperse Strukturen. Anhand des Höhenprofils lassen sich Breite und Höhe der μ G bestimmen. Das Verhältnis von Breite zu Höhe liegt bei etwa neun zu eins. Die Deformation ist im direkten Vergleich mit den Kern-Schale- μ G in Abb. 32, d verdeutlicht. Alle Strukturen zeigen eine deutliche Abflachung. Die Höhenprofile mit vergrößerter Darstellung der y-Achse befindet sich im Anhang (Abb. 72).

Bei den Kern-Schale- μ G₁₀ (Abb. 31, d-f) und Kern-Schale- μ G₂₀ (Abb. 31, g-i) sind sowohl im Höhen- als auch im Phasenbild die Kern-Schale-Strukturen zu erkennen. Die Schalen sind hierbei flacher und zeigen eine andere Phasenverschiebung als die Kerne. Die abweichende Phasenverschiebung lässt sich durch weniger dichte Schalenstrukturen erklären, da eine Interpenetration der Schale in die Kerne möglich ist und zu dichteren Strukturen führen würde.^{27, 201} Bei den Kern-Schale- μ G₁₀ sind erneut auch kleinere Strukturen zu erkennen, welche eine vergleichbare Größe zu den

Kern- μ G aufweisen. Ein vergrößerter Ausschnitt der Aufnahme ist als Ergänzung im Anhang (Abb. 73) abgebildet.

Der direkte Vergleich der Höhenprofile der drei μ G ist in Abb. 32 dargestellt. Hierbei wurden die Verformung der μ G durch gleiche Skalierung der Achsen verdeutlicht. Die vergrößerte Darstellung auf y-Achse ist im Anhang (Abb. 74) zu finden.

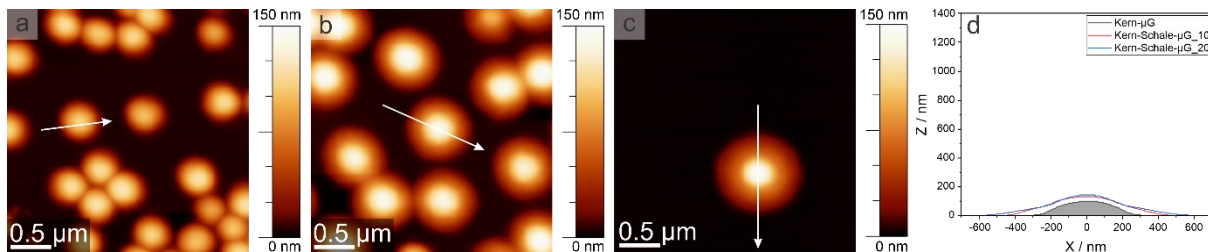


Abb. 32: AFM-Aufnahmen der Kern- μ G (a), der Kern-Schale- μ G_10 (b) und der Kern-Schale- μ G_20 (c) mit eingezeichneten Pfaden zur Bestimmung der Höhenprofils (d).

Der Vergleich der Kern-Schale- μ G_10 mit den Kern-Schale- μ G_20 zeigt eine vergrößerte Schale durch die erhöhte Anzahl an Zugabeschritten. Anhand der Höhenprofile lässt sich zudem erkennen, dass die Schalen auf der Oberfläche stärker spreiten als die Kerne obwohl vergleichbare Monomer zu Vernetzer Verhältnisse in den Synthesen von Kern und Schale eingesetzt wurden. Eine mögliche Erklärung hierfür wäre, dass die Synthese der Schale nicht ausschließlich außerhalb der Kerne stattfindet. Eine Interpenetration der Schale in die Kerne ist möglich, wodurch dichter gepackte und somit weniger flexible Strukturen entstehen.^{27, 201} Die Spiegelei-ähnliche Struktur^{4, 24, 38, 39} der drei Systeme an der Oberfläche wird anhand der Höhenprofile mit gleich skalierten Achsen deutlich.

Die Größen der μ G wurden als Stichproben über je drei Strukturen gemittelt und sind in Tabelle 9 zusammengefasst.

Tabelle 9: Größe der Kern- und Kern-Schale- μ G, ermittelt anhand von AFM.

Mikrogel	Breite / nm	Höhe / nm	Anzahl der vermessenen Strukturen
Kern- μ G	915 ± 5	105 ± 5	3
Kern-Schale- μ G_10	1065 ± 5	130 ± 10	3
	905	120	1
Kern-Schale- μ G_20	1290 ± 60	145 ± 10	3

Analog zur Charakterisierung mittels TEM können zunehmende Größen mit zunehmender Anzahl an Zugabeschritten beobachtet werden. Die Größen der kleineren Strukturen der Kern-Schale- μ G_10 sind vergleichbar mit denen der Kern- μ G, wobei hier nur einzelne μ G betrachtet wurden. Die ermittelten Breiten aus den AFM-Aufnahmen sind größer als die aus den TEM-Bildern bestimmten Durchmesser. Dies kann durch verschiedene Spreizverhalten auf den unterschiedlichen Oberflächen verursacht werden oder durch unterschiedliche Sensitivitäten in AFM und TEM. Bei den TEM-Messungen sind Kontrastlimitierungen durch die Messung von Kohlenstoff-basierten Strukturen auf Kohlenstoffträgern möglich, wodurch dünne Strukturen nicht

dargestellt werden können. Zudem fanden die TEM-Messungen im Vakuum statt, wodurch kleinere Strukturen zu erwarten sind.

Die Kern-Schale- μG_{10} sind sowohl breiter als auch höher als die Kern- μG , während die Kern-Schale- μG_{20} wiederum breiter und höher sind als die Kern-Schale- μG_{10} . In Bezug auf die Kern- μG nimmt die Breite der Kern-Schale μG_{10} um 16 % zu, während die maximale Höhe um 23 % zunimmt. Die stärkere Zunahme der Höhe im Vergleich zur Breite der Kern-Schale- μG_{10} lässt sich durch ein eingeschränktes Spreiten der Kerne innerhalb der Kern-Schale- μG durch Interpenetration und somit ein dichteres Polymernetzwerk im Kern erklären.^{27, 201} Die Kerne sind weniger flexibel und somit höher und weniger breit als bei den Kern- μG , während die Schale flexibel ist und spreiten kann. Bei den Kern-Schale- μG_{20} ist, bezogen auf die Kern- μG , eine Zunahme der Breite um 41 % und der Höhe um 38 % zu beobachten. Die Höhe nimmt somit mit zunehmenden Zugabeschritten weniger stark zu als die Breite. Das Spreizverhalten der Kerne innerhalb der Kern-Schale- μG sollte für beide Systeme vergleichbar sein. Somit ist eine vergleichsweise geringere Zunahme der Höhe mit dem Spreiten der Schale zu erklären, welches zu flachen, breiten Strukturen um den weniger flexiblen Kern führt. Der Vergleich der prozentualen Zunahme der Breite der μG mit den prozentualen Zunahmen von 110 % beziehungsweise 170 % für die Kern-Schale- μG_{10} und Kern-Schale- μG_{20} , die anhand der TEM-Aufnahmen ermittelt wurden, zeigt deutlich geringere Werte für die Auswertungen der AFM-Daten. Hierbei ist zu beachten, dass, wie bereits diskutiert, aufgrund der unterschiedlichen Messbedingungen auch die ermittelten Durchmesser deutlich voneinander abwichen.

Die hydrodynamischen Größen sowie die T_{VPT} der Kern- μG , Kern-Schale- μG_{10} und Kern-Schale- μG_{20} wurden mittels DLS bestimmt, indem der hydrodynamische Durchmesser der μG in Abhängigkeit der Temperatur gemessen wurde (Abb. 33). Die zugehörigen berechneten hydrodynamischen Durchmesser und Pdl befinden sich im Anhang (Abb. 75).

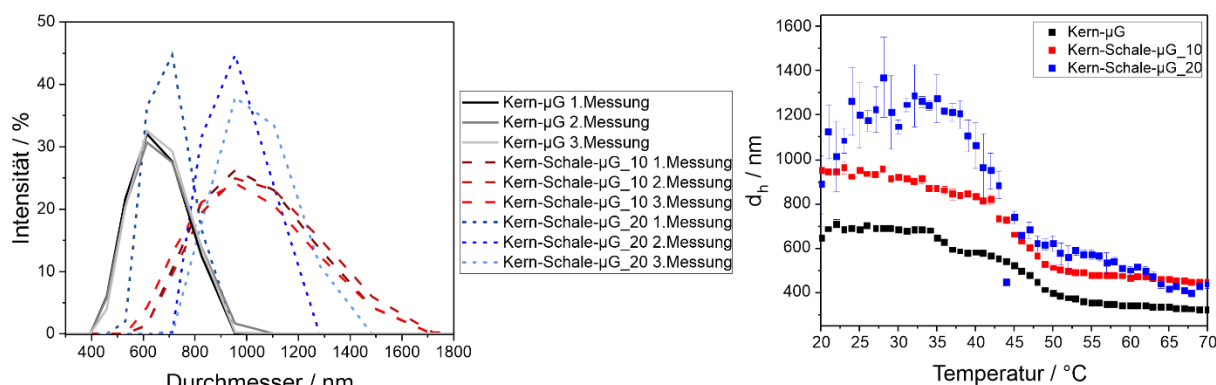


Abb. 33: Intensitäten der gemessenen Durchmesser der Kern- μG , Kern-Schale- μG_{10} und Kern-Schale- μG_{20} bei 20 °C (a) und intensitätsgewichtete hydrodynamische Durchmesser der Kern- μG , Kern-Schale- μG_{10} und Kern-Schale- μG_{20} in Abhängigkeit der Temperatur.

Die drei Messungen der Durchmesser der Kern- μG und Kern-Schale- μG_{10} bei 20 °C (Abb. 33, a) zeigen vergleichbare Werte. Bei den Kern-Schale- μG_{20} sind jedoch unterschiedliche Durchmesser für die drei Messungen zu beobachten. Für die

temperaturabhängige Auftragung der Durchmesser wurde der Mittelwert aus diesen drei Messungen mit zugehöriger Standardabweichung bestimmt. Unterhalb der T_{VPT} lassen sich hiermit hydrodynamische Durchmesser von etwa 700 nm für das Kern- μ G, 1000 nm für das Kern-Schale- μ G_10 und 1200 nm für das Kern-Schale- μ G_20 beobachten. Bei dem Kern-Schale- μ G_20 ist zu beachten, dass die Messung gerade im gequollenen Zustand Schwankungen der Messwerte (Abb. 33, a) und somit große Fehlerbereiche der gemittelten Werte aufweist (Abb. 33, b). Dies kann durch die strukturellen Abweichungen von dem Idealsystem einer harten Kugel erklärt werden. Die T_{VPT} der drei untersuchten Systeme sind bei Einbeziehung des Fehlers des sigmoidalen Fits vergleichbar (Tabelle 10).

Im kollabierten Zustand zeigt das Kern- μ G einen hydrodynamischen Durchmesser von 330 nm, die Kern-Schale- μ G_10 weisen einen hydrodynamischen Durchmesser von 440 nm auf. Die Kern-Schale- μ G_20 sind mit 480 nm erneut die größten Strukturen. Auch oberhalb der T_{VPT} zeigen die hydrodynamischen Durchmesser der Kern-Schale- μ G_20 Schwankungen.

Die hydrodynamischen Größen und T_{VPT} der drei μ G sind in Tabelle 10 zusammengefasst. Der sigmoidale Fit um die T_{VPT} zu bestimmen, wurde über den gesamten Messbereich angewendet.

Tabelle 10: T_{VPT} und hydrodynamische Durchmesser der Kern- und Kern-Schale- μ G.

Mikrogel	T_{VPT} / °C	d_h, gequollen / nm	d_h, kollabiert / nm
Kern- μ G	43 ± 5	700 ± 10	330 ± 10
Kern-Schale- μ G_10	43 ± 3	970 ± 30	440 ± 10
Kern-Schale- μ G_20	41 ± 3	1190 ± 120	480 ± 60

Die hydrodynamischen Durchmesser im gequollenen Zustand sind größer als die Durchmesser, die mittels TEM ermittelt wurden. Dies ist dadurch zu erklären, dass die μ G während der TEM-Messungen kollabiert und zudem im Vakuum vorliegen. Der Vergleich mit den hydrodynamischen Durchmessern im kollabierten Zustand jedoch zeigt größere Durchmesser während der TEM-Messungen. Dies kann durch das Spreiten der μ G auf den Probenträgern erklärt werden.

Im Vergleich mit den mittels AFM erhaltenen Größen sind sowohl die hydrodynamischen Durchmesser im gequollenen Zustand als auch die im kollabierten Zustand kleiner als die ermittelten Breiten und größer als die ermittelten Höhen. Dies ist durch das Spreiten der μ G auf den Probenträgern zur Minimierung der Grenzfläche zu erklären. Da die AFM-Messungen an Luft durchgeführt wurden, ist es möglich, dass die hydrophilen μ G nicht vollständig getrocknet vorlagen.⁵²

4.2.2 Regioselektive Funktionalisierung der Kern-Schale-Mikrogele

Eine Überprüfung der regioselektiven Funktionalisierung der μ G mit Farbstoffen ist über dSTORM-Messungen möglich. Für die dSTORM-Messungen wurden die μ G reduziert und mit Alexa647-Maleimid umgesetzt, sodass der Farbstoff kovalent in den μ G gebunden war. Die 3D-Darstellungen der Farbstoffverteilung sind in Abb. 34 dargestellt. Bei den hier betrachteten Größen muss beachtet werden, dass für die Messung eine Immobilisierung an einer Oberfläche gefolgt von einer Rehydratation mit

einer Cysteamin-Lösung notwendig ist, um die Lokalisierung und das Blinken der Farbstoffe zu ermöglichen.³⁹

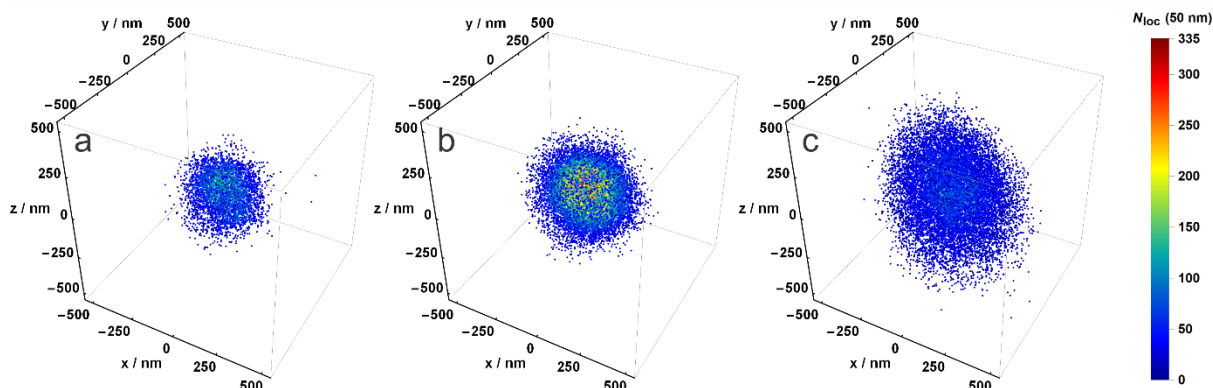


Abb. 34: 3D Darstellung der Farbstoffverteilung erhalten über dSTORM-Messungen mit kovalent gebundenem Alexa647-Farbstoff der Kern-µG (a), Kern-Schale-µG_10 (b) und Kern-Schale-µG_20 (c). Abbildungen zur 3D Darstellung der Farbstoffverteilung wurden von Pia Lenßen (Arbeitskreis Wöll, Institut für Physikalische Chemie, RWTH Aachen University) erstellt.

Anhand der 3D-Darstellung der dSTORM-Messungen wird deutlich, dass die mit Farbstoff umgesetzten Bereiche der Kern-µG (Abb. 34, a) kleiner sind als die der Kern-Schale-µG_10 (Abb. 34, b) und diese wiederum kleiner als die der Kern-Schale-µG_20 (Abb. 34, c). Bei den Kern-Schale-µG_20 kann zudem eine Elongation entlang der Z-Achse beobachtet werden, welche teilweise auch bei den Messungen der Kern-Schale-µG_10 auftrat. Da die Messungen somit fehlerbehaftet sein können, erfolgte ein weiterer Vergleich der Größen anhand von 2D-Lokalisierungsdichten entlang der x-y-Ebene.

Die Auftragung der normierten 2D-Lokalisierungsdichte gegen den Radius (Abb. 35) erlaubt einen direkten Vergleich der Ausdehnung der funktionalisierten Bereiche der µG.

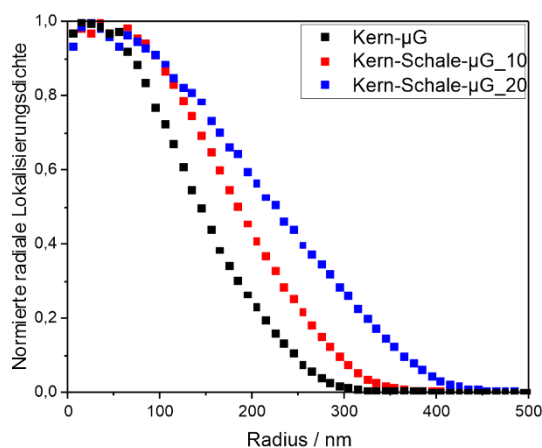


Abb. 35: Normierte 2D dSTORM Lokalisierungsverteilungen der Kern-µG, Kern-Schale-µG_10 und Kern-Schale-µG_20 mit kovalent gebundenem Alexa647-Farbstoff.

Die normierte 2D-Lokalisierungsdichte der Kern-µG zeigt einen steilen Abfall bei einem Radius von etwa 100 nm. Ab einem Radius von etwa 300 nm wird kein Farbstoff mehr detektiert. Ein Vergleich mit dem hydrodynamischen Durchmesser des Kern-µG zeigt mit etwa 700 nm einen um 100 nm größeren Durchmesser.

Bei den hydrodynamischen Durchmessern fließen frei bewegliche Polymerstränge aus der Peripherie mit ein, welche unter Umständen nicht ausreichend mit Farbstoff markiert wurden oder deren Lokalisierungen, gegenüber denen im Kern nicht ins Gewicht fallen. Zudem beeinflusst die Immobilisierung der μG für die dSTORM-Messungen die Größe.

Für die normierten Lokalisierungsdichten der Kern-Schale- μG_{10} ist ein ähnlicher Verlauf zu beobachten, der jedoch etwa 50 nm zu größeren Radien verschoben ist. Da für die Synthese der Schale kein BAC verwendet wurde und dort somit keine kovalente Bindung des Farbstoffs möglich ist, wurden die gleichen Radien erwartet. Der Vergleich von etwa 700 nm Durchmesser, in denen Farbstoff detektiert wurde, mit dem hydrodynamischen Durchmesser im gequollenen Zustand von 970 nm zeigt jedoch, dass nicht die gesamte Schale mit Farbstoff markiert wurde. Die mit Farbstoff markierte Größe entspricht dem hydrodynamischen Durchmesser der Kern- μG .

Der Verlauf der normierten Lokalisierungsdichten der Kern-Schale- μG_{20} weicht mit einem schwächeren Abfall der Lokalisierungsdichte, von dem der anderen beiden Systeme ab und es können größere Radien der markierten Bereiche beobachtet werden. Erst zwischen 400 nm und 450 nm können keine Farbstoffe mehr detektiert werden. Bezogen auf den hydrodynamischen Durchmesser von 1190 nm kann somit festgestellt werden, dass nicht die gesamte Schale mit Farbstoff markiert wurde. Aufgrund der Größe der Kern- μG lässt sich jedoch eine teilweise Markierung der Schale folgern.

Die Reproduzierbarkeit der Messungen wurde überprüft, indem dasselbe Kern-Schale- μG_{10} in drei getrennten Ansätzen analog mit Alexa647-Farbstoff umgesetzt und vermessen wurde, wobei sich voneinander abweichende Lokalisierungsdichten ergaben (Abb. 36).

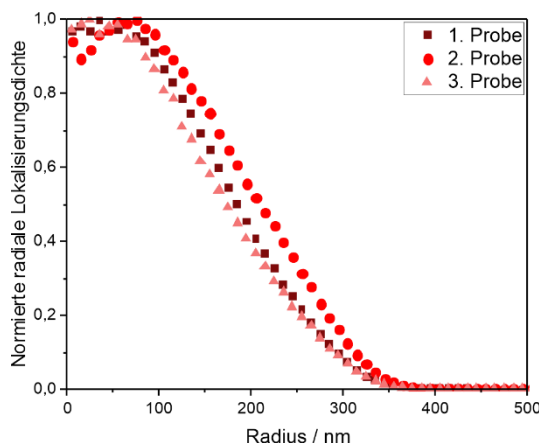


Abb. 36: Normierte 2D-dSTORM-Lokalisierungsverteilungen von drei analog mit Alexa647-Farbstoff markierten Kern-Schale- μG_{10} Proben.

Anhand der normierten 2D-dSTORM-Lokalisierungsverteilungen der drei Kern-Schale- μG_{10} Proben, die analog, jedoch getrennt voneinander präpariert und gemessen wurden, lassen sich Abweichungen in der Farbstoffverteilung erkennen. Der insgesamt mit Farbstoff markierte Radius ist bei den drei Proben reproduzierbar. Aufgrund der Varianz im Verlauf der Kurven der Lokalisierungsdichten wurde jedoch auf eine genauere Bestimmung der markierten Radien verzichtet.

Um Abweichungen durch freien Farbstoff innerhalb der Kern-Schale- μG_{10} auszuschließen, wurden die Bedingungen während der Aufreinigung einer gemeinsam angesetzten Probe variiert (Abb. 37). Die Aufreinigung nach der Funktionalisierung erfolgte hierbei durch Waschen mit Wasser und NaCl-Lösung, wobei insgesamt fünfmal gewaschen wurde. Bei der Referenzprobe wurde redispergiert und sofort erneut zentrifugiert. Bei einer Probe wurde bei jedem Waschschrift zunächst für 30 min bei 500 rpm geschüttelt und bei einer weiteren Probe für 60 Minuten bei 500 rpm geschüttelt, um die Diffusion der nicht gebundenen Farbstoffe aus den Kern-Schale- μG_{10} zu ermöglichen.

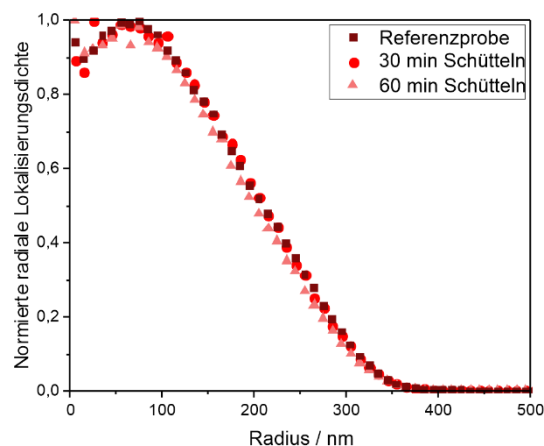


Abb. 37: Normierte 2D-dSTORM Lokalisierungsverteilungen von Kern-Schale- μG_{10} Proben die zwischen den fünf Waschschrift nicht, 30 min oder 60 min geschüttelt wurden.

Zwischen den normierten 2D-Lokalisierungsverteilungen der unterschiedlich aufgereinigten Proben lassen sich keine signifikanten Unterschiede feststellen. Hierbei ist zu beachten, dass die Messungen am gleichen Tag erfolgten. Anhand dieser Messungen ist freier Farbstoff als Ursache für die unterschiedlichen Farbstoffverteilungen unwahrscheinlich, da das Schütteln der Proben zwischen den Zentrifugationsschritten keine Auswirkung auf die Messung zeigt. Die mit Farbstoff markierten Bereiche weisen erneut einen Radius von etwa 350 nm auf.

Analog zu den dSTORM Messungen wurden DNA-PAINT Messungen an den Kern- μG , Kern-Schale- μG_{10} und Kern-Schale- μG_{20} durchgeführt. Die Bindung des Farbstoffes erfolgte über DNA-Hybridisierung. Die μG wurden reduziert und mit Maleimid modifizierter ssDNA umgesetzt. Für die Messung wurde komplementäre ssDNA, die mit Atto647N modifiziert wurde, zugegeben. Die Farbstoffe markieren somit die im μG gebundenen DNA-Stränge. Die Messungen fanden ebenfalls im immobilisierten und rehydratisierten Zustand statt. Die 3D-Darstellung der Farbstoffverteilung ist in Abb. 38 gezeigt.

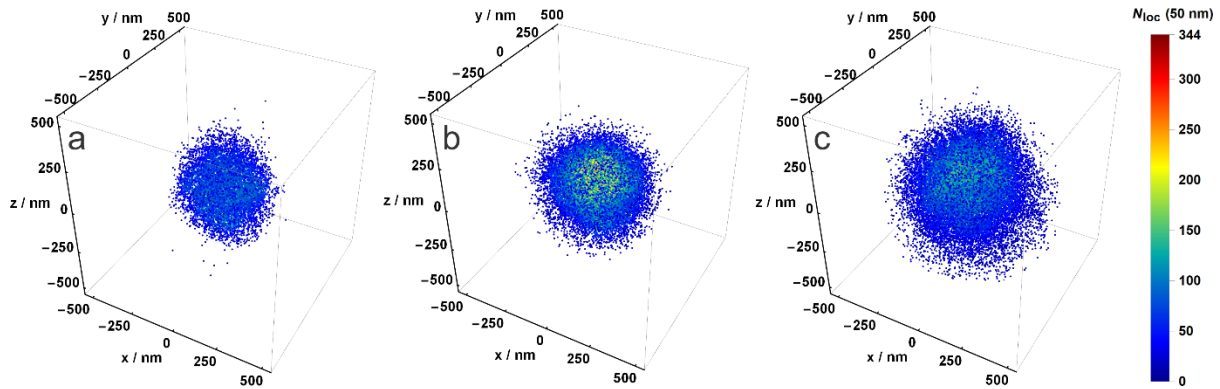


Abb. 38: 3D-Darstellung der Farbstoffverteilung erhalten über DNA-PAINT-Messungen der Kern- μ G (a), Kern-Schale- μ G_10 (b) und Kern-Schale- μ G_20 (c) mit über DNA-Hybridisierung gebundenem Alexa647-Farbstoff. Abbildungen zur 3D-Darstellung der Farbstoffverteilung wurden von Pia Lenßen (Arbeitskreis Wöll, Institut für Physikalische Chemie, RWTH Aachen University) erstellt.

Der Vergleich der Kern- μ G (Abb. 38, a), Kern-Schale- μ G_10 (Abb. 38, b) und Kern-Schale- μ G_20 (Abb. 38, c) in der 3D-Darstellung der DNA-PAINT-Messungen zeigt erneut größere Durchmesser der mit Farbstoff markierten Bereiche für die Kern-Schale- μ G. Bei einem Teil der Auswertungen konnte auch hier eine Elongation der Kern-Schale- μ G entlang der Z-Achse beobachtet werden (Abb. 76, Anhang).

Der Größenvergleich erfolgte erneut über die normierten 2D-Lokalisierungsdichten (Abb. 39) der Farbstoffe in Abhängigkeit der Radien.

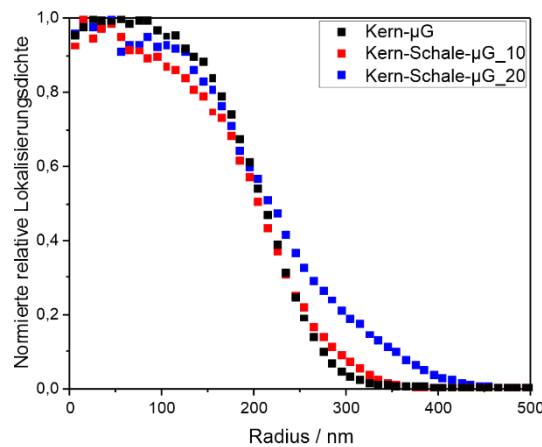


Abb. 39: Normierte 2D-DNA-PAINT Lokalisierungsverteilungen der Kern- μ G, Kern-Schale- μ G_10 und Kern-Schale- μ G_20.

Die 2D-Lokalisierungsdichten der Kern- μ G und Kern-Schale- μ G_10 zeigen einen starken Abfall der Lokalisierungsdichte ab etwa 150 nm und ab bei etwa 350 nm keine Detektion von Farbstoffen. Die Farbstoffverteilung der Kern-Schale- μ G_20 zeigt deutlich größere Radien mit etwa 450 nm.

Analog zu den dSTORM Messungen wurden auch für die DNA-PAINT Messungen analog präparierte Proben untersucht (Abb. 40).

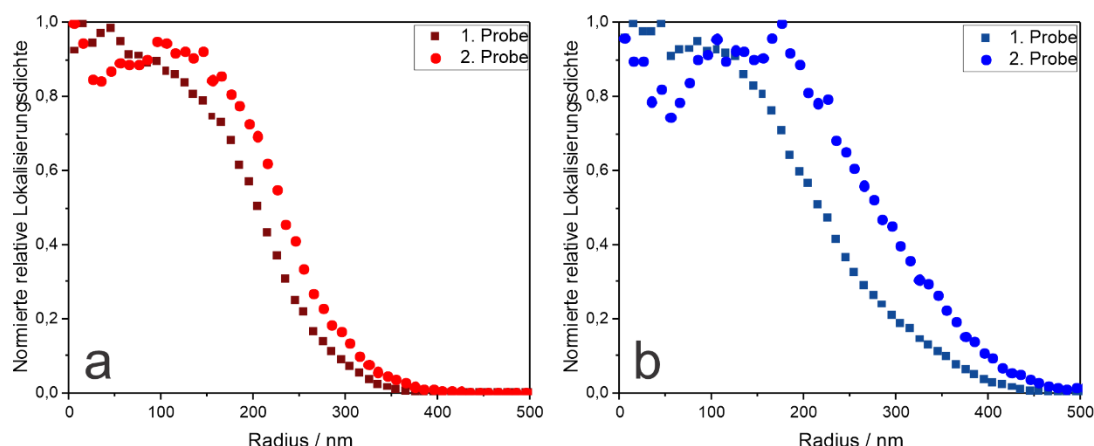


Abb. 40: Normierte 2D-DNA-PAINT Lokalisierungsverteilungen von jeweils zwei analog hergestellten Kern-Schale- μG_{10} (a) und Kern-Schale- μG_{20} (b) Proben.

Sowohl bei den Kern-Schale- μG_{10} (Abb. 40, a) als auch bei Kern-Schale- μG_{20} (Abb. 40, b) sind bei den beiden analog funktionalisierten Proben jeweils unterschiedliche Farbstoffverteilungen innerhalb der μG zu beobachten. Die mit Farbstoff markierten Radien liegen bei den Kern-Schale- μG_{10} zwischen 350 nm und 400 nm und bei den Kern-Schale- μG_{20} bei 450 nm bis 500 nm. Zusätzlich deutet die teilweise auftretende Z-Elongation der dSTORM und DNA-PAINT Messungen auf mögliche Mess- oder Auswertefehler hin.

Die ermittelten Durchmesser aus DLS, dSTORM und DNA-PAINT Messungen sind in Tabelle 11 zusammengefasst.

Tabelle 11: Durchmesser der Kern- μG , Kern-Schale- μG_{10} und Kern-Schale- μG_{20} ermittelt über DLS, dSTORM und DNA-PAINT.

		Kern- μG	Kern-Schale- μG_{10}	Kern-Schale- μG_{20}
d / nm	DLS gequollen	700 ± 10	970 ± 30	1190 ± 120
	dSTORM	600	700	900
	DNA-PAINT	700	700-800	900-1000

Die dSTORM Messungen wurden genutzt, um die Lokalisierung der für die DNA-Funktionalisierung genutzten funktionellen Gruppen in den μG zu ermitteln, während die DNA-PAINT Messungen die Lokalisierung der gebundenen DNA-Stränge anzeigen. Der Vergleich der mittels dSTORM und DNA-PAINT ermittelten Durchmesser zeigt bei den Kern- μG , den Kern-Schale- μG_{10} und den Kern-Schale- μG_{20} jeweils ähnliche Größen für den mit Farbstoff markierten Bereich der Systeme. Bei den Kern- μG stimmt dieser Durchmesser mit dem anhand von DLS-Messungen ermittelten Durchmesser überein. Sowohl bei den Kern-Schale- μG_{10} als auch bei den Kern-Schale- μG_{20} sind die Durchmesser der Farbstoffverteilung kleiner als die der hydrodynamischen Durchmesser der Kern-Schale-Strukturen, was auf eine Lokalisierung der Farbstoffe im Inneren hindeutet. Allerdings ist anhand des Vergleichs der Farbstofflokalisierungen der Kern- μG mit denen der Kern-Schale-Systeme bislang davon auszugehen, dass die Farbstoffe nicht ausschließlich im Kern lokalisiert sind. Dies könnte teilweise an freien Polymerenden des Kerns liegen, welche in die Schale reichen. Zudem sind aufgrund der beobachteten Z-Elongation Messfehler

anzunehmen. Bei wiederholten Messungen waren zudem Abweichungen von bis zu 15 % im Durchmesser der markierten Bereiche zu beobachten.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Kern-Schale- μ G mit unterschiedlichen Dicken der Schale auf Basis der gleichen Kern- μ G synthetisiert werden konnten. Die Größen der synthetisierten Systeme wurde über TEM, REM, AFM und DLS bestimmt, wobei abhängig von den jeweiligen Bedingungen bei der Charakterisierung unterschiedliche Größen erhalten wurden. Zusätzlich wurde die angestrebte Regioselektivität der funktionellen Gruppen von Pia Lenßen (Arbeitskreis Wöll, Institut für Physikalische Chemie, RWTH Aachen University) mittels SRFM überprüft. Alle erhaltenen Größen sind in Abb. 41 dargestellt und in Tabelle 26 im Anhang zusammengefasst.

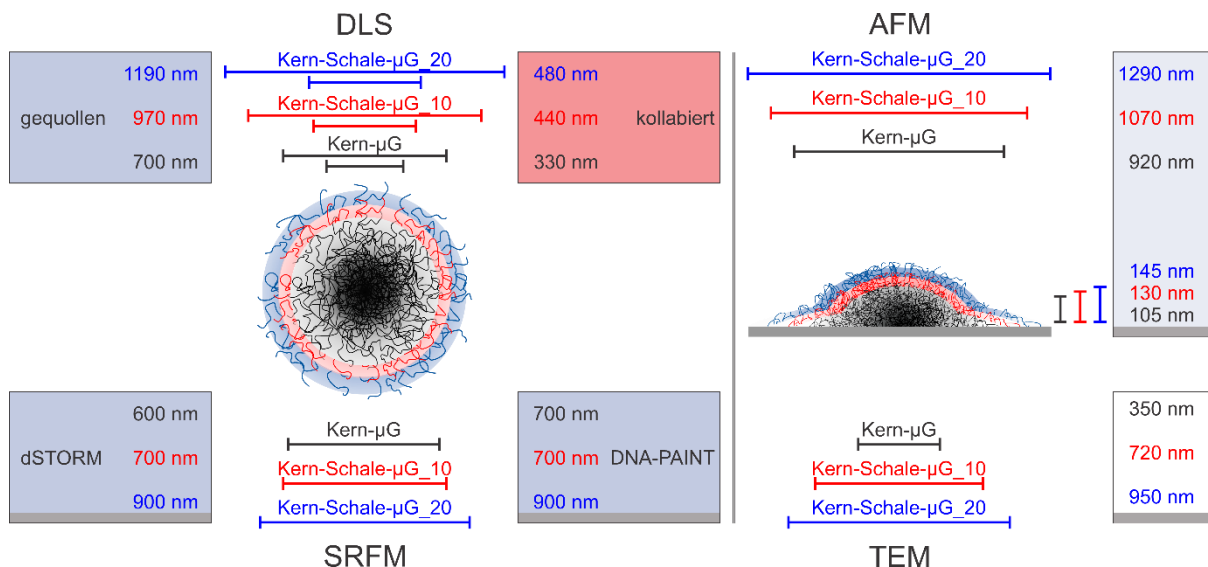


Abb. 41: Schematische Darstellung der mittels DLS, SRFM, AFM und TEM ermittelten Größen der Kern- μ G, Kern-Schale- μ G₁₀ und Kern-Schale- μ G₂₀ mit Angabe der Größen und symbolischer Darstellung der Messbedingungen.

Anhand der DLS-, AFM- und TEM-Messungen lässt sich die erfolgreiche Synthese von Kern-Schale- μ G mit unterschiedlichen Schalendicken erkennen. Der Vergleich der mittels DLS erhaltenen Größen mit den mittels SRFM erhaltenen Größen zeigt vergleichbare bis kleinere Größen der mit Farbstoff markierten Bereiche. Somit konnte eine Lokalisierung der Farbstoffe im Inneren der Kern-Schale-Systeme festgestellt werden, die anhand der markierten Bereiche der Kern-Schale- μ G₂₀ jedoch nicht ausschließlich auf den Kern begrenzt zu sein scheint. Ein direkter Vergleich der Größen der gequollenen μ G in DLS und SRFM mit den Größen der getrockneten μ G in AFM und TEM ist aufgrund der Deformierung der μ G nur bedingt möglich, wobei anhand dieses Vergleichs das erwartete Spreiten der μ G auf Oberflächen deutlich wird. Die Höhe der μ G im adsorbierten Zustand ist kleiner als die Durchmesser der dispergierten μ G sowohl im gequollenen als auch im kollabierten Zustand, während die mittels AFM ermittelte laterale Ausdehnung größer ist. Bei den AFM-Messungen ist im Vergleich zu den TEM-Messungen der Unterschied zwischen Messungen an Luft und im Vakuum deutlich zu erkennen, wobei auch unterschiedliche Spreizverhalten

auf den verwendeten Probenträgern sowie die Sensitivitäten der Methoden berücksichtigt werden müssen.

Durch die Anpassung der Anzahl an Zugabeschritten der Edukte konnte die Dicke der Schale gesteuert werden konnte. Es wurden monodisperse Kern- und Kern-Schale- μG synthetisiert. Die Kerne beinhalteten hierbei den zusätzlichen Vernetzer BAC, welcher durch die enthaltenen Disulfide für spätere Funktionalisierungen genutzt werden konnte.

4.3 Oberflächenpräparation zur gezielten Mikrogel-Immobilisierung

Bei der ungerichteten Adsorption an Oberflächen bilden μG bevorzugt hexagonale oder zufällige Strukturen⁴⁰ und zeigen eine Deformation in Abhängigkeit der Oberfläche und Elastizität der μG .^{4, 24, 38, 39} Eine gerichtete Immobilisierung von μG kann über Oberflächenstrukturierungen erfolgen.¹⁰³ Hier soll diese Strukturierung über lokale DNA-Funktionalisierung erreicht werden. Zudem soll die native, das heißt sphärische Struktur der μG , über eine Funktionalisierung der umgebenden Oberfläche mit PEG erhalten bleiben.³⁸ Das hydrophile PEG minimiert die Wechselwirkungen zwischen den μG und der Oberfläche und verhindert somit das Spreiten. Eine schematische Darstellung der schrittweisen Oberflächen-funktionalisierung ist in Abb. 42 gezeigt.

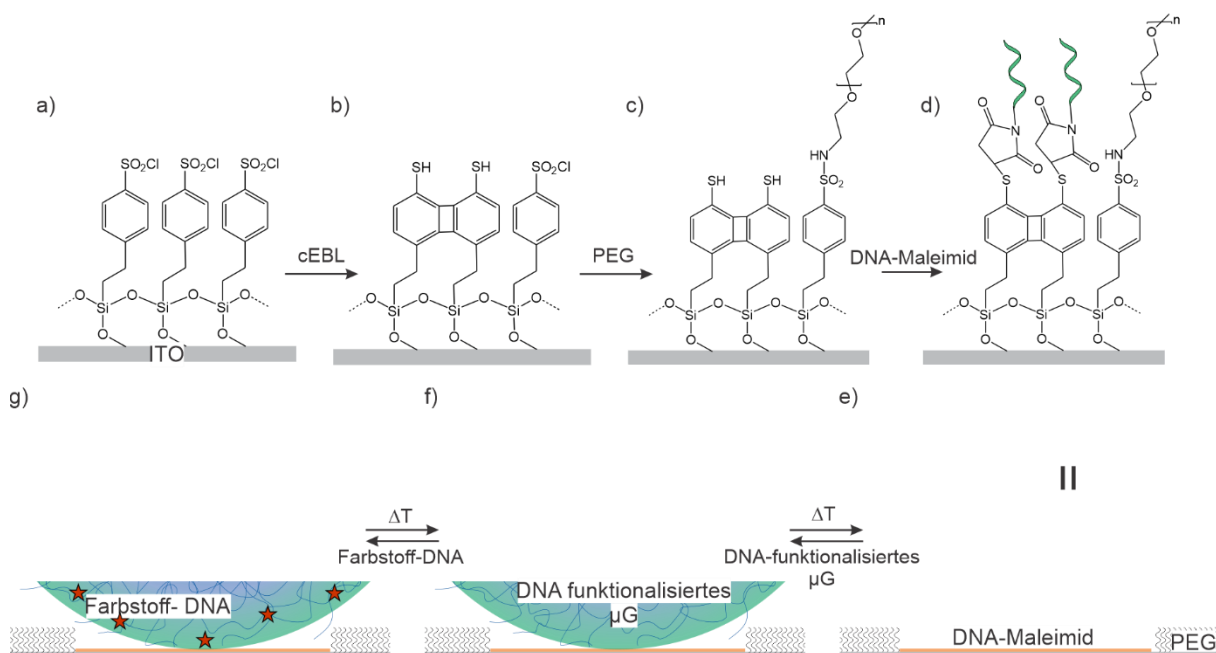


Abb. 42: Schematische Darstellung der Schritte zur gezielten Immobilisierung von μG an Oberflächen inklusive der Silanisierung der Oberfläche (a) der chemischen Elektronenstrahlolithografie (cEBL) (b), der PEGylierung der umgebenden Oberfläche (c), der DNA-Funktionalisierung des geschriebenen Musters (d, e) der Abscheidung der μG durch Hybridisierung (f) und der Fluoreszenzmarkierung der μG (g). Zur Veranschaulichung sind Schema auf molekularer Ebene (a-d) sowie Schema mit angedeuteten Größenverhältnissen (e-g) dargestellt.

Die Strukturierung erfolgt hierbei auf ITO-Oberflächen, da diese elektrisch leitfähig und zugleich optisch transparent sind. Die optische Transparenz ist entscheidend für die Analytik mittels optischer Mikroskopie und eine zukünftige Kombination mit

Fotolithografie. Die ITO-Oberflächen wurden zunächst mit 2-(4-Chlorosulfonylphenyl)Ethyltrimethoxy-silan funktionalisiert (Abb. 42, a) und mittels cEBL lokal bestrahlt. Eine dadurch hervorgerufene Reduzierung der Sulfonylgruppen kann Thiolgruppen erzeugen (Abb. 42, b),^{181, 182} die mit DNA-Maleimid umgesetzt werden können (Abb. 42, d, e). Die nicht belichteten Bereiche konnten mit PEG-Amin umgesetzt werden (Abb. 42, c). Durch Hybridisierung sollten schließlich DNA funktionalisierte μ G immobilisiert werden (Abb. 42, f). Als erste Überprüfung der lokalisierten Funktionalitäten der Oberfläche konnten die Thiole alternativ mit Farbstoff-Maleimid umgesetzt werden.

Die ITO-Schichten wurden von Niklas Lothmann (Arbeitsgruppe Simon, Institut für Anorganische Chemie, RWTH Aachen University) durch Sputtern erzeugt. Die in diesem Kapitel gezeigten REM-Aufnahmen wurden von Birgit Hahn (Arbeitsgruppe Simon, Institut für Anorganische Chemie, RWTH Aachen University) aufgenommen. Birgit Hahn hat zudem die Silanisierungen durchgeführt. Michael Noyong (Arbeitsgruppe Simon, Institut für Anorganische Chemie, RWTH Aachen University) programmierte die Lithografiemuster und führte zudem die Röntgenfluoreszenzanalyse der ITO-Oberflächen durch. Die optische Mikroskopie wurde von Pia Lenßen (Arbeitskreis Wöll, Institut für Physikalische Chemie, RWTH Aachen University) durchgeführt.

4.3.1 Herstellung und Optimierung der ITO-Oberfläche

Im Rahmen dieser Arbeit wurden ITO-Substrate von zwei verschiedenen Anbietern und im Arbeitskreis hergestellte Substrate verwendet.

Zur Qualitätskontrolle und Untersuchung der Homogenität der Oberfläche wurden REM- und AFM-Messungen an den kommerziell verfügbaren und im Arbeitskreis via Abscheidung durch Sputtern hergestellten Substraten vorgenommen. Der Vergleich der REM-Aufnahmen der Substrate von PGO und Diamond Coatings mit den ITO-Substraten, die im Arbeitskreis hergestellt wurden, ist in Abb. 43 gezeigt.

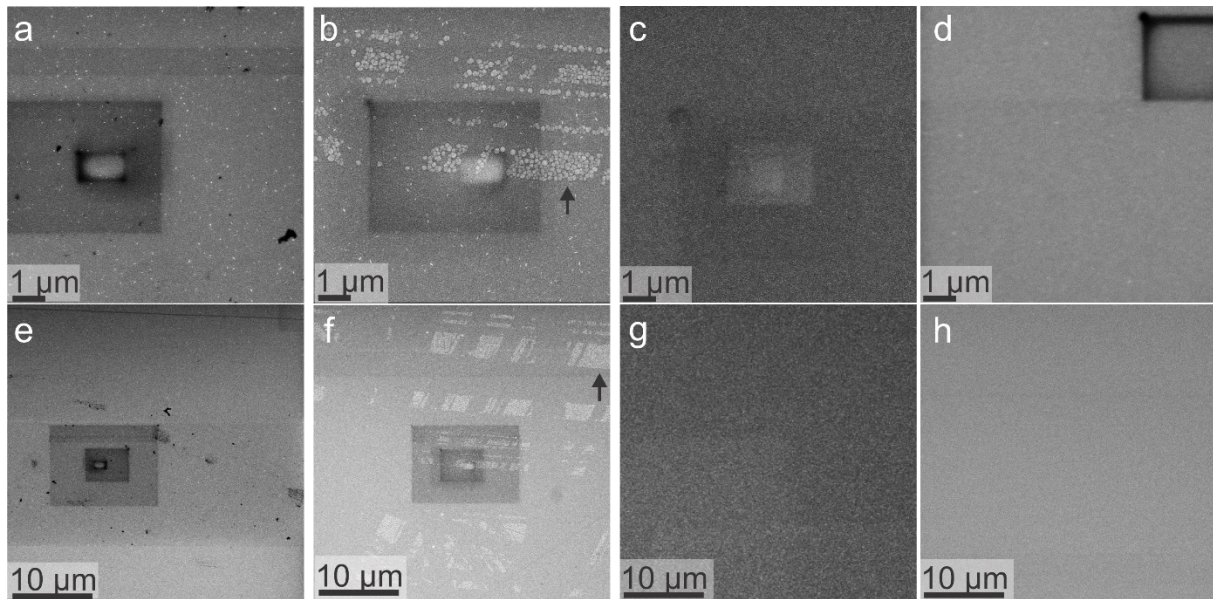


Abb. 43: REM-Aufnahmen der ITO-Substrate von PGO (a, e), Diamond Coatings (b, f) und der im Arbeitskreis hergestellten Substrate, bei denen für 270 s mit ITO (c, g) und 7 s mit Titan gefolgt von 30 min mit ITO beschichtet wurde (d, h).

Die Substrate von PGO und Diamond Coating zeigen eine durchgehend weitestgehend einheitlich graue Fläche und somit homogene Schicht. Darauf sind in den REM-Aufnahmen helle und dunkle Bereiche sichtbar (Abb. 43 a, e, b, f). Die hellen Strukturen sind vermutlich auf feste Adsorbate zurückzuführen, während es sich bei den dunklen Bereichen um Verunreinigungen oder Löcher handelt. Die ITO- Substrate von PGO zeigen verteilt über die gesamte Oberfläche hellere Strukturen (Abb. 43, a, e) sowie wenige, größere, dunkle Strukturen. Die Substrate von Diamond Coatings zeigten weniger gleichmäßig verteilte Verunreinigungen, dafür allerdings Strukturen mit größerer Ausdehnung (Abb. 43, b, f, Pfeile). Bei den Substraten, welche im Arbeitskreis hergestellt wurden, lässt sich eine homogene Oberfläche erkennen (Abb. 43 c, g, d, h). Die rechteckigen Strukturen auf den Oberflächen sind Kontaminationen wie beispielsweise Kohlenstoffabscheidungen durch die Elektronenmikroskopie (Abb. 43, a-f). Diese Kontaminationen können durch Kohlenwasserstoffe auf der Probe oder im REM hervorgerufen werden. Zudem ist eine Diffusion von Molekülen auf der Oberfläche im Elektronenstrahl möglich. ²⁰²⁻²⁰⁴

Es wurde versucht die Substrate der beiden kommerziellen Anbieter zu reinigen und die Substrate wurden zur Überprüfung mittels REM untersucht (Abb. 44).

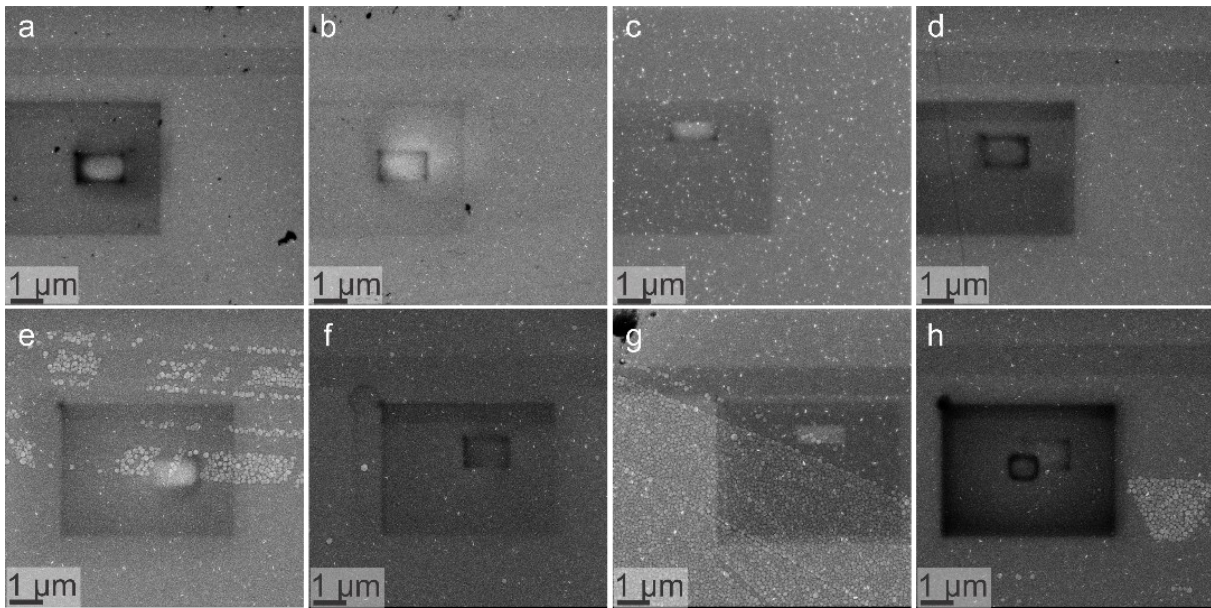


Abb. 44: REM-Aufnahmen der ITO-Substrate von PGO (a-d) und Diamond Coatings (e-h). Die unbehandelten Substrate (a, e) wurden mit Ethanol gespült (b, f) und mit Ar-Plasma behandelt (c, g) sowie mit Ethanol gespült und anschließend mit Ar-Plasma behandelt (d, h).

Bei den ITO-Substrate von PGO konnten sowohl die helleren als auch die dunkleren Strukturen, die bei den unbehandelten Substraten zu erkennen waren, auch nach dem Spülen mit Ethanol beobachtet werden. Die größeren, dunkleren Strukturen konnten durch eine Behandlung mit Ar-Plasma entfernt werden (Abb. 44, c), die helleren, kleineren Strukturen jedoch nicht. Bei den dunkleren Strukturen handelte es sich somit vermutlich um lose Adsorbate oder organische Verunreinigungen.

Bei den Substraten von Diamond Coatings führten weder das Spülen der Substrate mit Ethanol noch die Behandlung mit Plasma zu einer Entfernung der hellen Strukturen. Eine Kombination von Spülen mit Ethanol und Behandlung mit Argon-Plasma zeigte bei keinem der ITO-Substrate zusätzlichen Erfolg. Eine Reinigung der Substrate beider Anbieter konnte somit nicht erfolgreich durchgeführt werden. Die rechteckigen Strukturen sind erneut auf Kontaminationen durch die Elektronenmikroskopie zurückzuführen. ²⁰²⁻²⁰⁴

Zusätzlich wurde für die Substrate von PGO, Diamond Coatings und aus dem Arbeitskreis eine Oberflächenanalyse mittels AFM durchgeführt (Abb. 45). Die zugehörigen Phasenbilder und Höhenbilder, bei denen der zur Ermittlung der Höhenprofile verwendete Pfad gekennzeichnet ist, befinden sich im Anhang (Abb. 77).

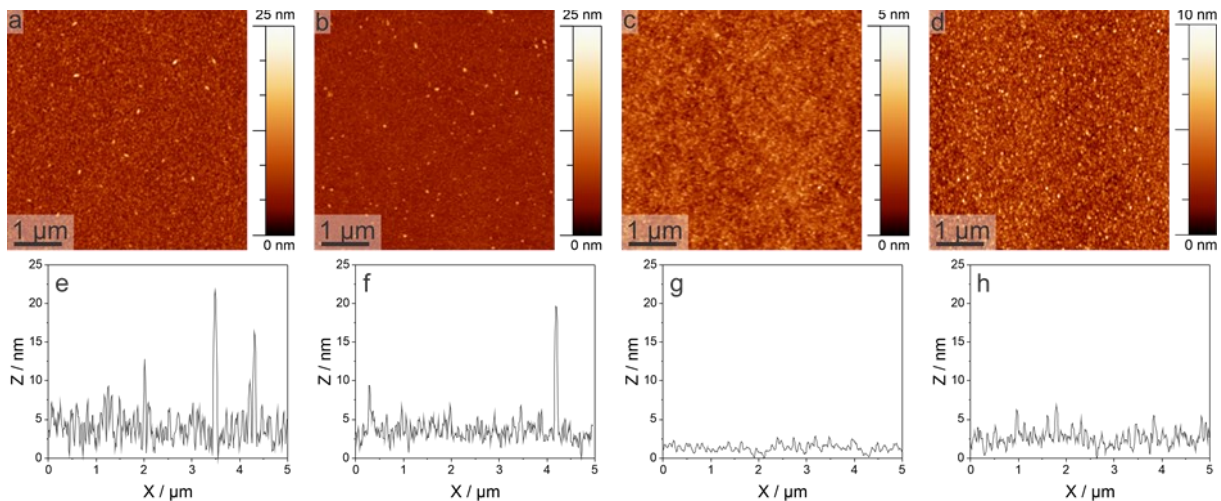


Abb. 45: AFM-Höhenbilder (a-d) mit zugehörigen Höhenprofilen (e-h) der ITO-Substrate von Diamond Coatings (a, e), PGO (b, f) und aus dem Arbeitskreis bei denen für 270 s mit ITO (c, g) und bei denen für 7 s mit Titan gefolgt von 30 min mit ITO (d, h) beschichtet wurde.

Die Oberflächenanalyse der Substrate von Diamond Coatings und PGO zeigt eine Höhenvarianz von etwa 7 nm mit einzelnen höheren Bereichen auf den Oberflächen bis etwa 22 nm (Abb. 45, e, f). Auf den zugehörigen AFM-Bildern lassen sich diese Partikel verteilt über den gesamten untersuchten Bereich beobachten (Abb. 45, a, b). Im Vergleich dazu zeigen die im Arbeitskreis hergestellten Substrate homogene Oberflächen mit gleichmäßigen Rauigkeiten im Bereich weniger Nanometer (Abb. 45, c, g, d, h). Bei längeren Sputterzeiten sind größere Differenzen der Höhen zu beobachten. Die Rauigkeit steigt von $1,3 \text{ nm} \pm 0,5 \text{ nm}$ (Abb. 45, g) auf $2,6 \text{ nm} \pm 1,1 \text{ nm}$ (Abb. 45, h).

Die Zusammensetzung der Oberflächen der Substrate aus dem Arbeitskreis, von PGO und von Diamond Coatings wurde zudem mittels Röntgenfluorenanalyse (XRF) untersucht (Tabelle 12).

Tabelle 12: Sputterzeiten und resultierende Atomprozente von Indium und Zinn im Vergleich zu den Atomprozenten von Indium und Zinn des Sputtertargets und auf den Substraten von PGO und Diamond Coatings. Die Atomprozente wurden durch XRF ermittelt.

Sputterzeit / s	mol% (In)	mol% (Sn)	Verhältnis In/Sn
170	0,0024	0,0006	4
220	0,0027	0,0006	4,5
270	0,0036	0,0009	4
320	0,0042	0,0009	4,7
1800	0,0264	0,0032	8,3
Sputtertarget	89,68	9,89	9,1
Hersteller	mol% (In)	mol% (Sn)	
PGO	0,0189	0,0023	8,2
Diamond Coatings	0,0423	0,0046	9,2

Bei kürzeren Sputterzeiten zwischen 170 und 320 Sekunden ist das detektierte Verhältnis der Atomprozenten von Indium zu dem von Zinn niedriger als das bei den Substraten von PGO und Diamond Coatings und des verwendeten Sputtertargets.

Eine mögliche Erklärung hierfür sind das Erreichen sehr geringer Atomprozente und Messfehler durch die Detektionsgrenze sowie Überlappungen von Signalen mit den Elementen aus dem Glassubstrat. Eine Sputterzeit von 30 Minuten führte zum angestrebten Verhältnis von Indium zu Zinn und einer vergleichbaren Zusammensetzung, wie der des Targets.

Die ITO-Substrate von PGO und Diamond Coatings zeigten Artefakte, welche sich nicht durch Spülen oder kurze Plasmabehandlung entfernen ließen und zu einer rauerer Oberfläche führten. Die Herstellung eigener ITO-Substrate im Arbeitskreis führte zu homogenen Oberflächen mit geringer Rauigkeit und vergleichbarer Zusammensetzung mit der der gekauften Substrate.

Für die folgenden Untersuchungen wurden ausschließlich die ITO-Substrate verwendet, die im Arbeitskreis hergestellt wurden. Die Sputterzeit betrug 7 Sekunden für Titan als Haftvermittler und 30 Minuten für ITO.

4.3.2 Optimierung der Oberflächenfunktionalisierung der ITO-Oberflächen

Die lokalisierte Oberflächenfunktionalisierung der ITO-Substrate sollte zunächst über eine Markierung der reduzierten Bereiche der Oberfläche mit Maleimid modifiziertem Alexa647-Farbstoff gezeigt werden (Abb. 46).

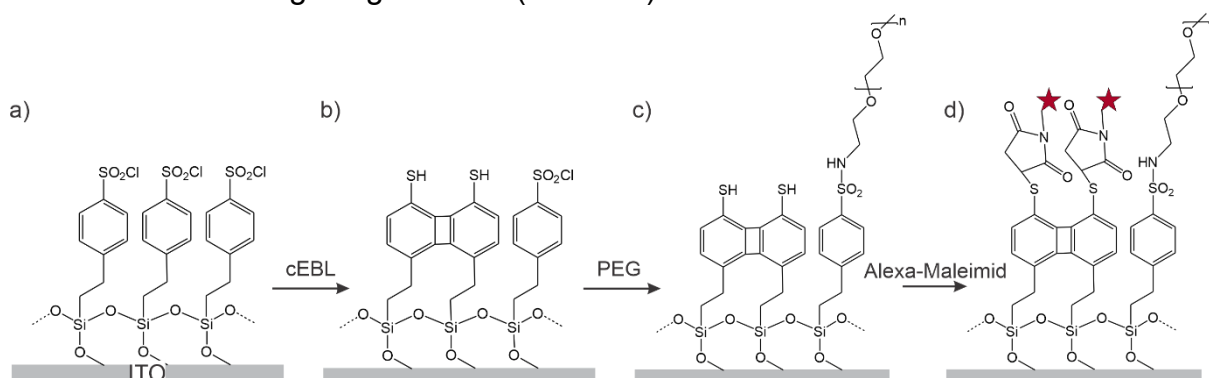


Abb. 46: Schematische Darstellung der Schritte zur Markierung reduzierter Bereiche der Oberfläche inklusive der Silanisierung der Oberfläche (a) der chemischen Elektronenstrahlolithografie (b), der PEGylierung der umgebenden Oberfläche (c) und der Funktionalisierung mit Alexa647-Maleimid (d).

Für die Oberflächenfunktionalisierung wurde zum einen kommerziell erhältliches 2-(4-Chlorosulfonylphenyl)-Ethyltrimethoxy-silan verwendet und zum anderen eine Synthese eines vergleichbaren Silan-Derivates in Lösung sowie oberflächengebunden untersucht. Für die Synthese wurden unter Berücksichtigung des Parameterfeldes, wie Reaktionstemperatur und -zeit, gezielte Stichproben experimentell untersucht.

Nach der Oberflächenfunktionalisierung wurden die Sulfonylgruppen mittels cEBL lokal zu Thiolen reduziert. Die verwendeten Muster zur lokalen Belichtung sind in Abb. 47 dargestellt.

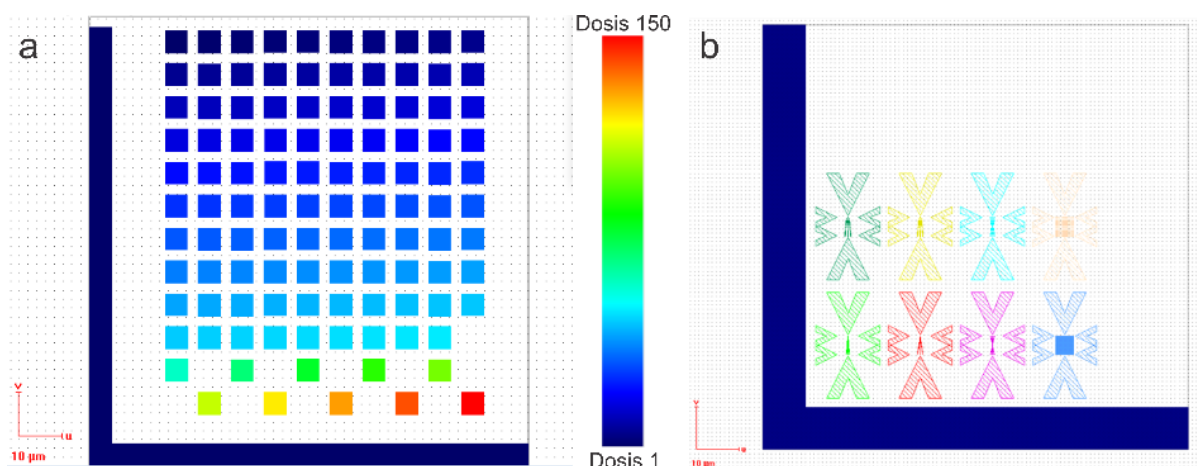


Abb. 47: Verwendete Lithografiemuster für den Test der optimalen Dosis (a) und die Kombination mit optischer Mikroskopie (b). Die Muster wurden von Doktor Michael Noyong (Arbeitsgruppe Professor Doktor Ulrich Simon, Institut für Anorganische Chemie, RWTH Aachen University) programmiert.

Anhand dieser Muster sollte zum einen die optimale Dosis (Abb. 47, a) und zum anderen eine mögliche Kombination mit der optischen Mikroskopie (Abb. 47, b) überprüft werden. Eine Optimierung der relativen Dosis ist für eine vollständige Reduktion zu Thiolen ohne Kontamination der Oberfläche und somit für eine ideale weitere Umsetzung notwendig.¹⁸¹ Die Pfeile in Abb. 47, b dienen der Orientierung für eine Kombination mit der optischen Mikroskopie. Hier ist es notwendig Strukturen zu verwenden, welche auch unterhalb der Abbe Limitierung²⁰⁵ sichtbar sind. Zusätzlich wurde für eine bessere Orientierung in beiden Mustern ein Referenz-L als teilweise Umrandung verwendet. Dieses Referenz-L sollte durch Überbelichtung in der optischen Mikroskopie als Markierung dienen.

Die Analyse der Strukturen erfolgte unmittelbar nach der cEBL mittels REM und nach der Umsetzung mit Alexa647-Maleimid mittels Fluoreszenzmikroskopie. Zudem wurde überprüft ob die Strukturen in der Durchlichtmikroskopie sichtbar waren. Für die oberflächengebundene Synthese wurde zudem die Hydrophilie der Oberfläche mittels Messungen der Kontaktwinkel überprüft. Vor der cEBL wurde die Leitfähigkeit der Substrate mit Hilfe eines Multimeters überprüft, um eine Beschädigung der ITO-Schicht durch die Synthese auszuschließen.

4.3.2.1 Oberflächenfunktionalisierung der ITO-Oberflächen mit kommerziellem 2-(4-Chlorosulfonylphenyl)-Ethyltrimethoxy-silan

Für die Funktionalisierung der Oberfläche sollte in Anlehnung an die Literatur^{181, 182} 2-(4-Chlorosulfonylphenyl)-Ethyltrimethoxy-silan verwendet werden (Abb. 48).

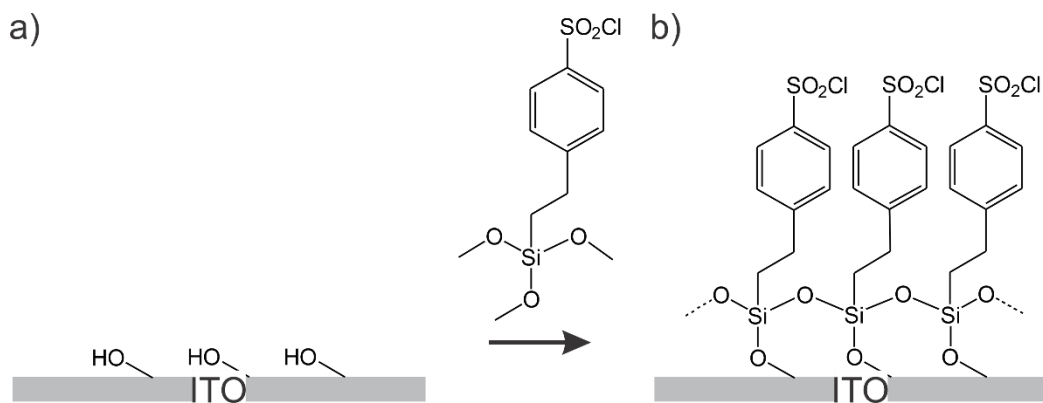


Abb. 48: Schematische Darstellung der Oberflächenfunktionalisierung des ITO-Substrats mit 2-(4-Chlorosulfonylphenyl)ethyltrimethoxy-silan.

Für die Überprüfung der Möglichkeit der Kombination mit optischer Mikroskopie wurde zunächst mit Substraten mit den Lithografiemustern mit Pfeilstrukturen (Abb. 47, b) unter Verwendung unterschiedlicher Dosen gearbeitet. Die Platzierung der Muster auf dem Substrat erfolgte anhand von Kratzern zur groben Orientierung, während eine genaue Positionsbestimmung über das REM erfolgte (Abb. 49).

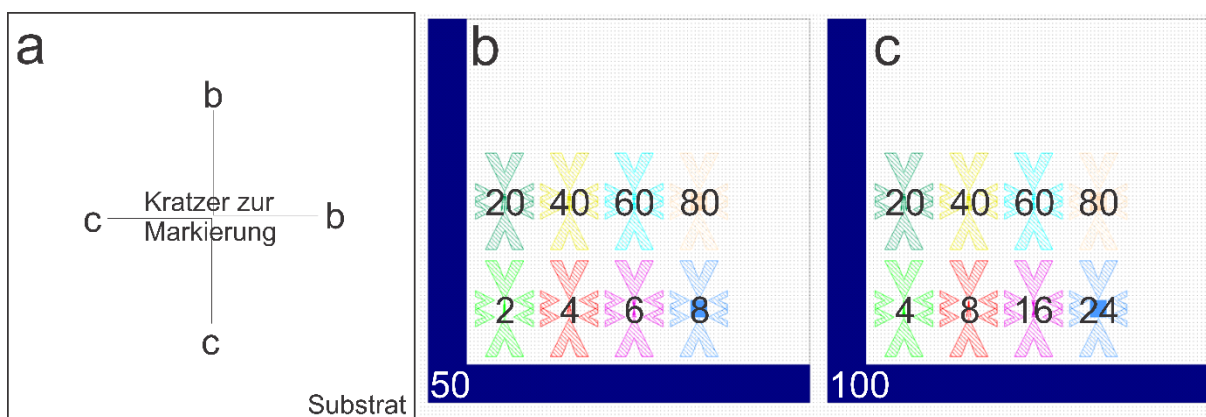


Abb. 49: Schematische Darstellung der Strukturierung der Substrate mit vier Mustern zur Überprüfung einer Kombination mit optischer Mikroskopie inklusive der Anordnung der Muster auf dem Substrat mit Orientierung zum Kratzer (a) und der zum Schreiben der jeweiligen Muster verwendeten Dosen (b, c).

Durch die Verteilung der Muster auf der Oberfläche sind zum einen eine Überprüfung der Homogenität des gesamten Substrats und zum anderen zukünftig eine unterschiedliche Funktionalisierung der Muster möglich. Die weitere Funktionalisierung der Muster erfolgte hierbei durch manuelles Absetzen von Tropfen auf den einzelnen Mustern.

Durch die elektronenmikroskopische Betrachtung größerer Bereiche der Oberflächen konnten Inhomogenitäten der Oberflächen beobachtet werden (Abb. 50).

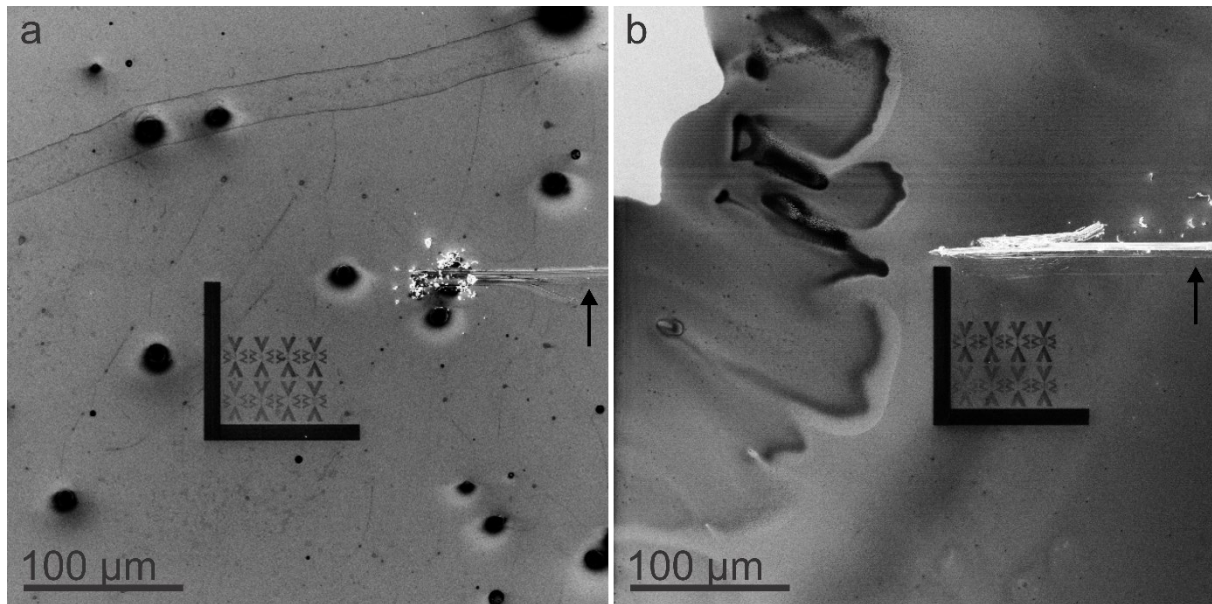


Abb. 50: REM-Aufnahmen von ITO-Substraten nach der Oberflächenfunktionalisierung mit 2-(4-Chlorosulfonylphenyl)Ethyltrimethoxy-silan und der Lithografie.

Anhand der REM-Aufnahmen lassen sich die Lithografiemuster auf der Oberfläche sowie die Kratzer zur Markierung rechts davon erkennen (Abb. 50, Pfeile). Zudem sind auf beiden Substraten unterschiedliche Verunreinigungen zu erkennen. Auf einem Substrat (Abb. 50, a) sind dunklere Flecken zu erkennen und auf dem anderen Substrat (Abb. 50, b) scheint eine ungleichmäßige Beschichtung vorzuliegen, deren Ränder zu erkennen sind.

Nach der Lithografie wurden die Substrate mittels REM, Fluoreszenzmikroskopie und Durchlichtmikroskopie untersucht (Abb. 51).

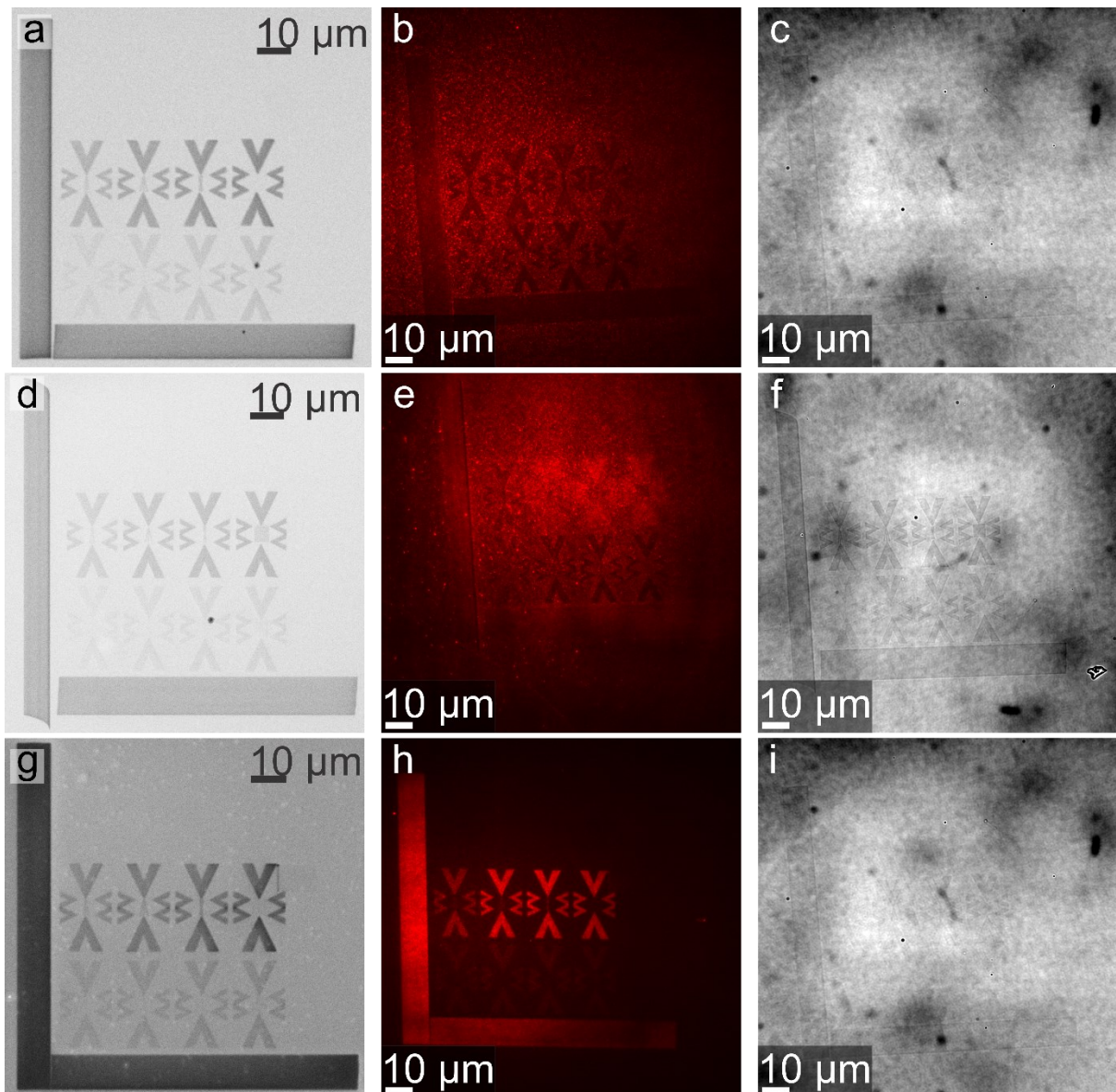


Abb. 51: Ausgewählte Beispiele von Lithografiemustern (nach Abb. 49, b) auf drei analog behandelten Substraten, untersucht mittels REM (a, d g), Fluoreszenzmikroskopie (b, e, h) und Durchlichtmikroskopie (c, f, i). a, b und c sowie d, e und f und g, h und i zeigen hierbei jeweils das gleiche Muster.

Die REM-Aufnahmen der Muster zeigen eine Verzerrung des Referenz-L aufgrund eines Drifts bei der für die L gewählten langen Belichtungsdauer. Aufgrund der kürzeren benötigten Zeiten zum Schreiben der kleineren Strukturen tritt dieser hier nicht auf (Abb. 51, d) und stellt für die nanoskalige Strukturierung der Oberflächen somit kein Problem dar. Zudem sind einzelne, dunklere Artefakte zu beobachten (Abb. 51, a, d). Bei der Betrachtung der Fluoreszenzmikroskopie- sowie Durchlichtmikroskopie-Aufnahmen können deutliche Unterschiede zwischen den drei Mustern beobachtet werden. In den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erscheinen die Bereiche mit mehr Farbstoff heller. Somit sollten bei erfolgreicher lokaler Funktionalisierung der Lithografiemuster die Bereiche hell erscheinen, die in den REM-Aufnahmen dunkler erschienen. Der Vergleich der REM- und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen zeigt teilweise ein inverses Muster (Abb. 51, b)

bei dem der Hintergrund stärker fluoresziert als das Muster. Teilweise sind Muster zu beobachten, die bei höheren Dosen leichte Fluoreszenz zeigen, bei niedrigeren Dosen jedoch wiederum eine stärkere Hintergrundfluoreszenz und zudem unscharf erscheinen (Abb. 51, e). Vereinzelt konnten Muster beobachtet werden, bei denen die Strukturen fluoreszieren und klar zu erkennen sind (Abb. 51, h). Alle Muster der drei Substrate sind im Anhang zusammengefasst und zeigen, dass selbst innerhalb eines Substrats deutliche Unterschiede auftraten (Abb. 79, Abb. 80, Abb. 81). Ein Zusammenhang mit der chronologischen Reihenfolge der cEBL und somit ein Einfluss des Vakuums auf beispielsweise adsorbiertes Wasser, war hierbei nicht zu erkennen. Durch Wasser auf den Oberflächen könnte es, statt der angestrebten Reduktion der SAM, zu einem Ätzen kommen.²⁰⁶⁻²⁰⁸ Mittels Durchlichtmikroskopie wurde überprüft, ob die Lithografiemuster gefunden werden können. Der Vergleich von Fluoreszenzmikroskopie und Durchlichtmikroskopie zeigt, dass eine erfolgreiche Umsetzung der Muster mit Farbstoff nicht einhergeht mit der Sichtbarkeit der Muster in der Durchlichtmikroskopie und umgekehrt. Dies ist dadurch zu erklären, dass überlichtete Muster in der Durchlichtmikroskopie deutlicher zu erkennen sein sollten. Eine Funktionalisierung überbelichteter Muster hingegen ist schlechter oder nicht mehr möglich, da die SAM beschädigt werden kann.¹⁷⁸

In Anlehnung an die Literatur^{181, 182} wurde zudem versucht AuNP an die cEBL-Muster zu binden. Die Abscheidung der AuNP basiert hierbei auf der bevorzugten Bindung des Golds an die Thiole der reduzierten Muster gegenüber des Citrat-Liganden. Für die Lithografie wurden sowohl das Muster zum Optimieren der Dosis als auch das Muster für die Kombination mit optischer Mikroskopie verwendet wurden (Abb. 52).

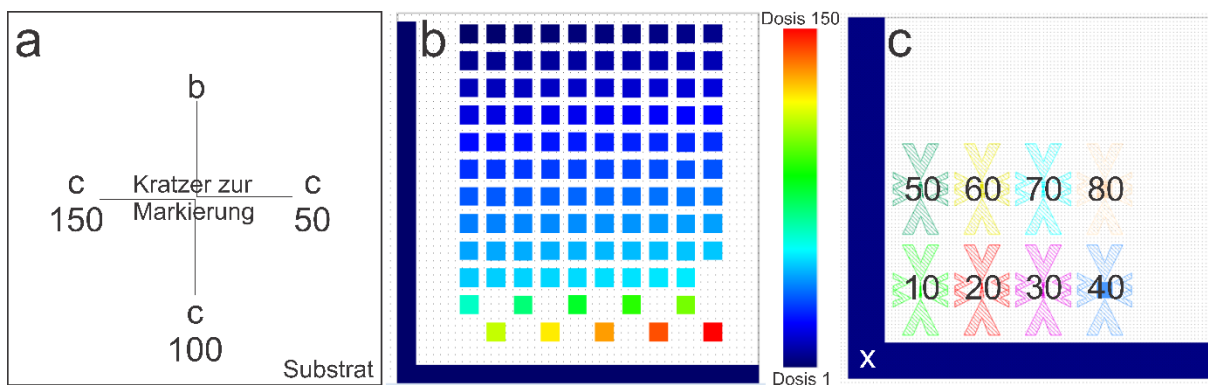


Abb. 52: Schematische Darstellung der Strukturierung der Substrate mit Muster für den Dosistest inklusive der Anordnung der Muster auf dem Substrat und mit Orientierung zum Kratzer zur Markierung (a) und der zum Schreiben der jeweiligen Muster verwendeten Dosis (b, c). Die Angabe der Dosis x (c) ist in (a) beinhaltet.

Es wurden REM-Aufnahmen eines Substrates mit PEG-Funktionalisierung (Abb. 53) außerhalb des Musters und eines Substrates ohne PEG-Funktionalisierung (Abb. 82, Anhang) angefertigt.

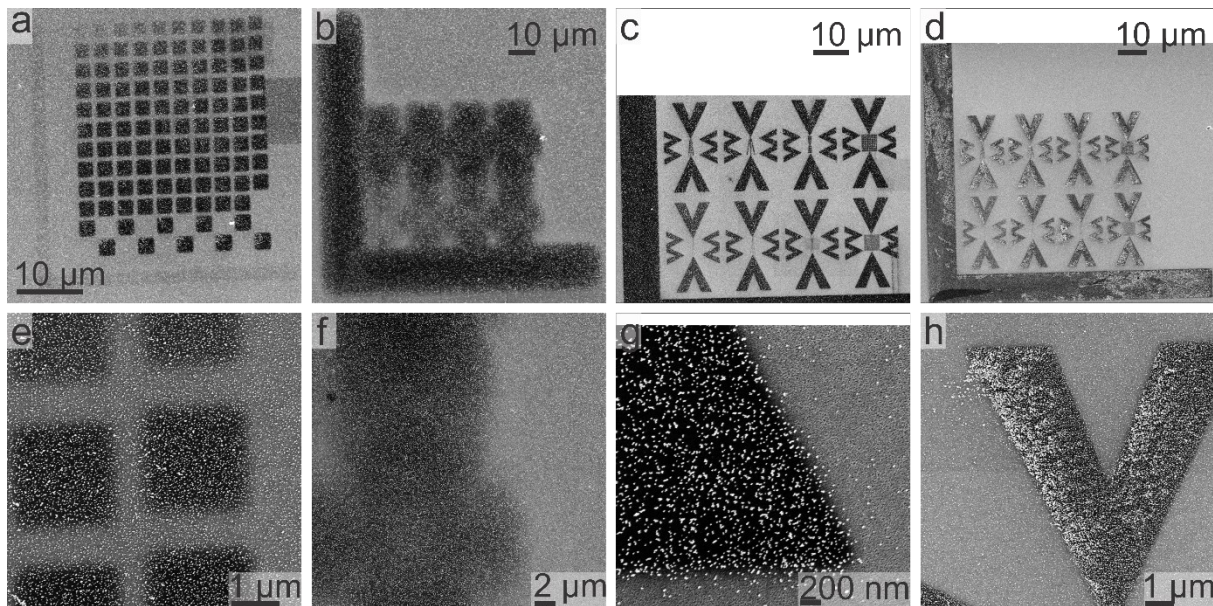


Abb. 53: REM-Aufnahmen der Markierung des Lithografiemusters mit AuNP. Zwischen der Lithografie und der Abscheidung der AuNP erfolgte eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster). Die Muster wurden nach Abb. 52 geschrieben. (a, e) Muster oberhalb des Kratzers, (b, f) Muster rechts vom Kratzer, (c, g) Muster unterhalb des Kratzers, (d, h) Muster links vom Kratzer.

Die hellen sphärischen Strukturen in den REM-Aufnahmen stellen die AuNP dar. Die cEBL-Muster sind in dunkel zu erkennen. Das weniger scharf abgegrenzte cEBL-Muster (Abb. 53, b, f) kann durch einen Fokusverlust während des Schreibvorgangs erklärt werden. Eine bevorzugte Abscheidung der AuNP innerhalb der Muster ist teilweise (Abb. 53 c-d, g-h) zu erkennen und zeigt keine Abhängigkeit von der verwendeten Dosis. Teilweise besteht der Eindruck einer erhöhten unspezifischen Adsorption auch außerhalb der belichteten Bereiche (Abb. 53, a-b, e-f), welcher aber nicht statistisch ausgewertet wurde. Die REM-Aufnahmen des Substrates ohne PEG-Funktionalisierung (Abb. 82, Anhang) hingegen zeigen weder innerhalb noch außerhalb des Musters AuNP. Dies deutet darauf hin, dass keine Thiole vorhanden waren. Die PEG-Funktionalisierung ist für die Abscheidung von AuNP an Thiolen nicht notwendig.^{181, 182} Bei erfolgreicher Oberflächenfunktionalisierung sollte eine Abscheidung somit auch ohne PEGylierung möglich sein.

Die Abscheidung der AuNP wurde nicht optimiert und sollte ausschließlich als Nachweis für die Oberflächenfunktionalisierung dienen. Es konnte eine teilweise Anbindung gezeigt werden. Dies spricht für die Bildung von Thiolen, die jedoch nur in einzelnen cEBL-Mustern gezeigt werden konnte.

Aufgrund fehlender Reproduzierbarkeit der Oberflächenfunktionalisierungen sowie der Verunreinigungen auf den Oberflächen und der eingestellten Produktion des 2-(4-Chlorosulfonylphenyl)Ethyltrimethoxysilans konnte die Oberflächenfunktionalisierung der ITO-Substrate lediglich als Teilerfolg betrachtet werden.

4.3.2.2 Oberflächenfunktionalisierung der ITO-Oberflächen mit im Arbeitskreis hergestellten Silan-Derivaten

Der Synthesansatz der Silan-Derivate basierte auf einer Synthese von sulfonierten Poly-2-(phenylethyl)siloxa-Polymer-Membranen,²⁰⁹ wobei die Vorschrift nur bis zur Einbringung der funktionellen Gruppe umgesetzt wurde (Abb. 54).

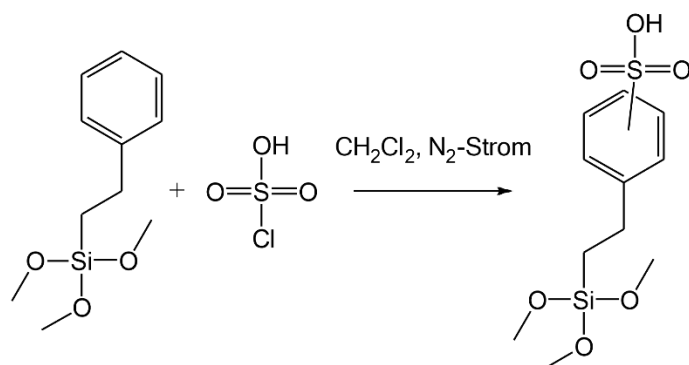


Abb. 54: Schematische Darstellung zur Synthese von 2-(Sulfonsäurephenyl)Ethyltrimethoxy-silan.

Das Produkt wurde ohne weitere Aufreinigung auf die ITO-Substrate gegeben (Abb. 55).

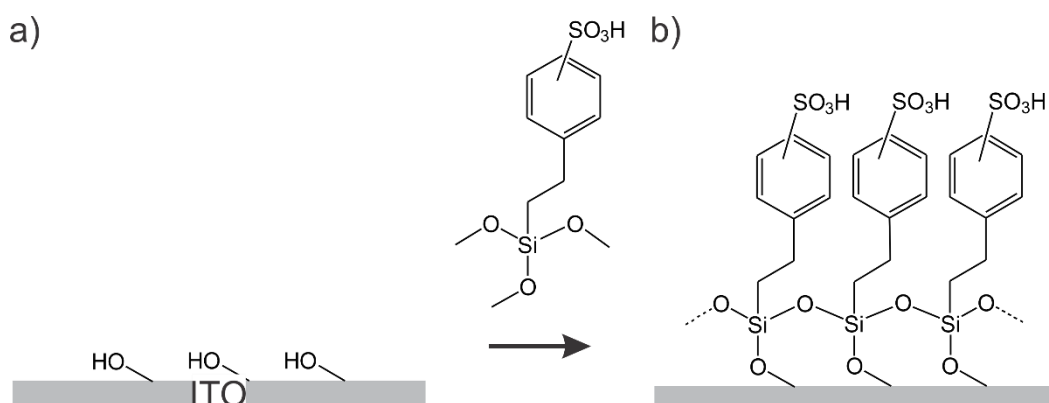


Abb. 55: Schematische Darstellung der Oberflächenfunktionalisierung der ITO-Substrate mit 2-(Sulfonsäurephenyl)Ethyltrimethoxy-silan.

Da die Substrate durch den Versuch der Oberflächenfunktionalisierung mit dem im Arbeitskreis hergestellten 2-(Sulfonsäurephenyl)Ethyltrimethoxy-silan ihre Leitfähigkeit verloren, waren die Lithografie und die nachfolgenden Funktionalisierungen sowie die damit verbunden Analytik nicht sinnvoll. Der Verlust der Leitfähigkeit ist vermutlich auf ein Ablösen der ITO-Schicht zurückzuführen, welches mit einer sichtbaren Veränderung des Farbeindrucks des Substrats einherging.

Als Alternative wurde versucht eine oberflächengebundene Synthese durchzuführen. Hierdurch sollte die Möglichkeit der unerwünschten Polymerisierung verringert und eine Aufreinigung durch Abspülen der Substrate ermöglicht werden (Abb. 56).

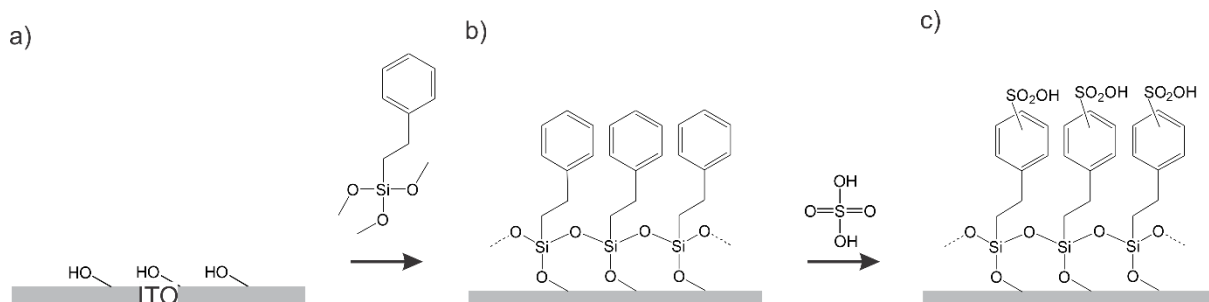


Abb. 56: Schematische Darstellung des schrittweisen Aufbaus von 2-(Sulfonsäurephenyl)-Ethyltrimethoxysilan. Im ersten Schritt wird Trimethoxy-(2-phenylethyl)-silan an die ITO-Oberfläche (a) gebunden, wodurch eine silanisierte Oberfläche mit unpolaren Endgruppen entsteht (b), welche dann mit Schwefelsäure umgesetzt wird (c).

Durch die Behandlung der Substrate mit Schwefelsäure zur Einbringung der Sulfonsäuregruppen ging erneut die Leitfähigkeit verloren, weshalb die Lithografie sowie die nachfolgende Funktionalisierung und Analytik nicht sinnvoll waren. Der Verlust der Leitfähigkeit ist auf den Verlust der ITO-Schicht durch Ätzen zurückzuführen.²¹⁰

Um die ITO-Schicht nicht zu beschädigen, wurde im Folgenden mit Ammoniumsulfat ein alternatives Edukt für die Sulfonierung verwendet (Abb. 57).

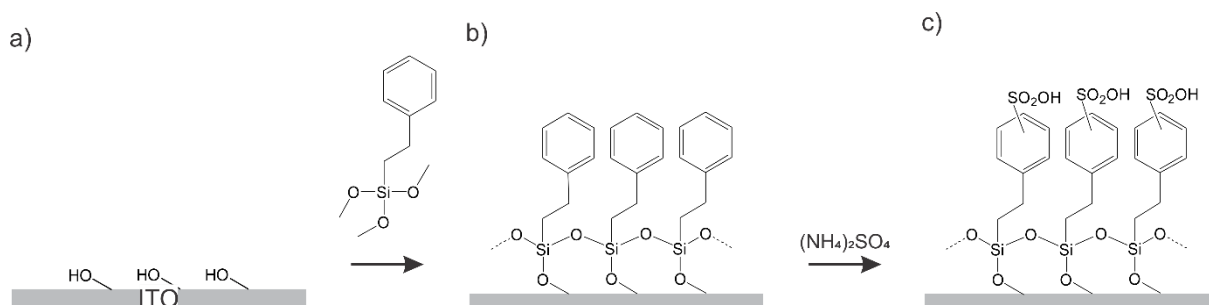


Abb. 57: Schematische Darstellung des schrittweisen Aufbaus von 2-(Sulfonsäurephenyl)Ethyltrimethoxysilan. Im ersten Schritt wird Trimethoxy-(2-phenylethyl)-silan an die ITO-Oberfläche gebunden (a), wodurch eine silanisierte Oberfläche mit unpolaren Endgruppen entsteht (b), welche dann mit Ammoniumsulfat zur gewünschten Oberflächenfunktionalisierung umgesetzt wird (c).

Durch die oberflächengebundene Synthese von 2-(Sulfonsäurephenyl)Ethyltrimethoxysilan mit Ammoniumsulfat konnten leitfähige Substrate erhalten werden.

Eine Charakterisierung der Hydrophilie der Oberflächen erfolgte mittels Kontaktwinkelmessungen nach den einzelnen Schritten und für 4 h sowie 50 h Reaktionszeit bei 10 °C und 30 °C für die Sulfonierung (Tabelle 13, Abb. 78., Anhang). Die Reaktionsbedingungen wurden variiert, um einerseits einen hohen Umsatz und andererseits wenig Nebenreaktionen zu erreichen.

4 Ergebnisse und Diskussionen

Tabelle 13: Kontaktwinkel von Wasser auf den Oberflächen bei den einzelnen Schritten der schrittweisen Oberflächenfunktionalisierung.

		Kontaktwinkel / °		
		Substrat 1	Substrat 2	Mittelwert
Gereinigtes Glas		4,9	5,2	5,1
ITO		26,6	26,4	26,5
Silanisiert		101,5	94,5	98,0
Sulfoniert	4 h; 10 °C	34,9	45,0	40,0
Sulfoniert	4 h; 30 °C	26,6	29,7	28,2
Sulfoniert	50 h; 10 °C	72,5	73,7	73,1
Sulfoniert	50 h; 30 °C	79,8	84,9	82,4

Die Kontaktwinkel zeigen exemplarisch eine Entwicklung von einer hydrophilen Oberfläche des gereinigten Glassubstrates hin zu einer weniger hydrophilen ITO-Oberfläche und einer hydrophoben, silanisierten Oberfläche. Die Sulfonierung sollte durch die polaren Endgruppen erneut zu einer hydrophileren Oberfläche führen. Dies ist bei allen untersuchten Reaktionsbedingungen zu beobachten, wobei die hydrophilste Oberfläche nach 4 h Reaktionszeit bei 30 °C zu beobachten ist. Durch die Hydrophilie der Oberfläche in Kombination mit der Reaktion im wässrigen Medium sowie Luftkontakt der Substrate ist Wasser auf den Oberflächen nicht auszuschließen und einer der Parameter, die bei den cEBL-Experimenten Einfluss nehmen kann. ²⁰⁶⁻²⁰⁸

Die Betrachtung von REM-Aufnahmen einer größeren Fläche der Substrate zeigt im Gegensatz zu den Substraten mit dem kommerziell erhältlichen Silan eine homogene Oberfläche mit Ausnahme der als Markierung gesetzten Kratzer (Abb. 58).

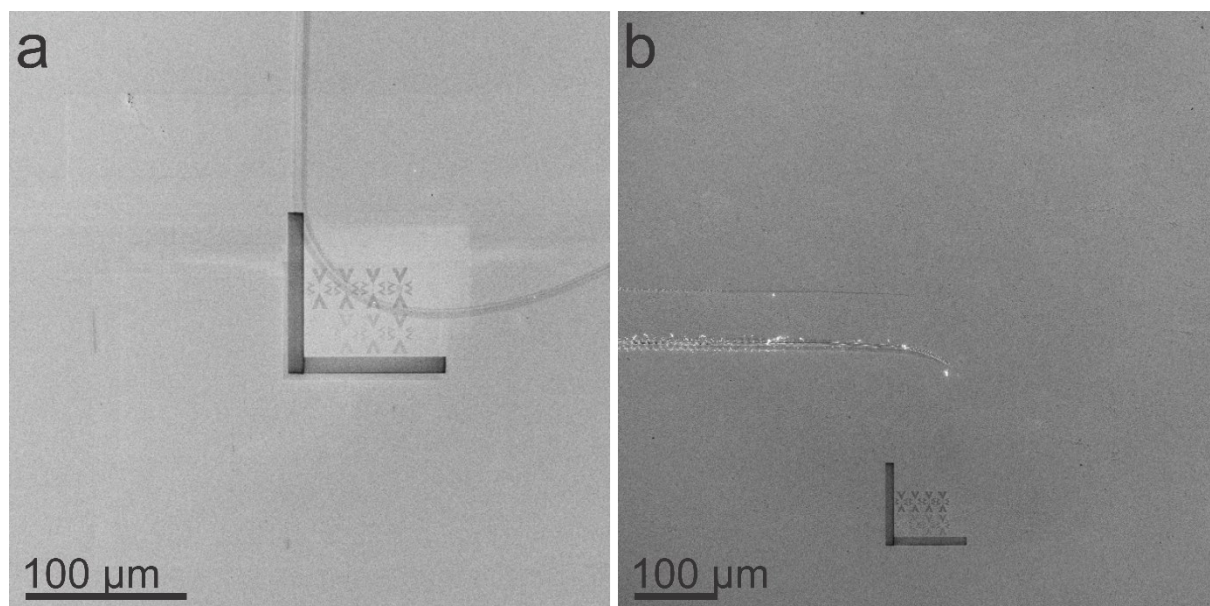


Abb. 58: REM-Aufnahmen von ITO-Substraten nach der oberflächengebundenen Synthese von 2-(Sulfonsäurephenyl)Ethyltri-methoxysilan und der Lithografie.

Für die Lithografie wurden sowohl das Muster zum Optimieren der Dosis als auch das Muster für die Kombination mit optischer Mikroskopie verwendet (Abb. 52).

Die an die Lithografie anschließende Funktionalisierung der Substrate erfolgte mit Alexa647-Maleimid nach Abb. 46 sowohl mit als auch ohne PEG. Die Reaktionsbedingungen der Sulfonierung wurden hinsichtlich Zeit und Temperatur variiert.

Substrate mit einer Sulfonierung über 4 h bei 30 °C und anschließender Funktionalisierung mit PEG-Amin und dann mit Alexa647-Maleimid wurden mittels REM und Fluoreszenzmikroskopie analysiert (Abb. 59).

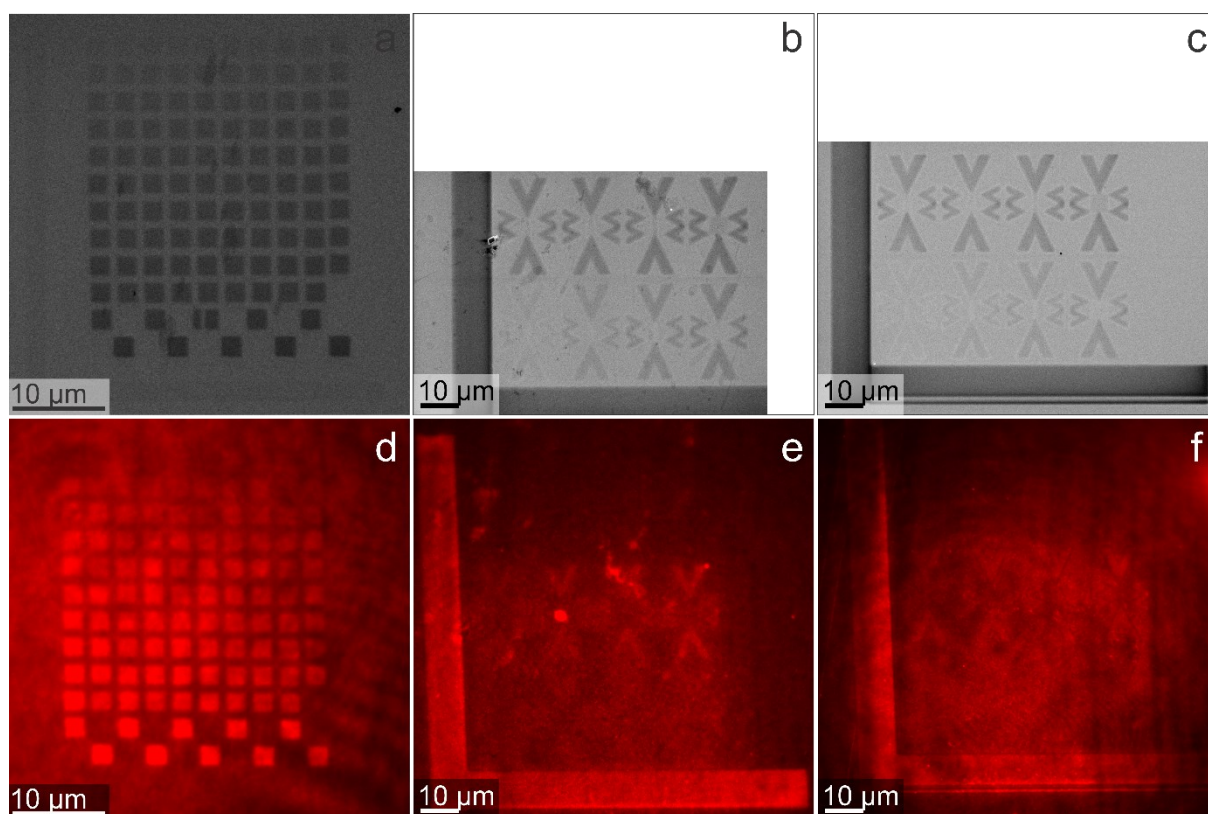


Abb. 59: REM- (a-c) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (d-f) der erfolgreichen Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf drei verschiedenen Substraten. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 4h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopieaufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster).

Die höchsten getesteten Dosen zeigen die stärkste Fluoreszenz. Dies zeigt, dass die optimale Dosis unter Umständen noch nicht erreicht war und die Notwendigkeit besteht die Dosen zu optimieren. Zudem lässt sich eine ungleichmäßige Farbstoff-Funktionalisierung erkennen. Bei Betrachtung der Referenz-L wird deutlich, dass in den äußeren Bereichen eine stärkere Farbstoff-Markierung vorliegt. Zudem ist zu beachten, dass es sich erneut um einzelne Muster verschiedener Substrate handelt. Die Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen zeigen somit einen teilweisen Erfolg der lokalisierten Anbindung des Farbstoffs, wobei zum einen die Dosis noch optimiert werden muss und zum anderen die zusammenhängenden Flächen nicht gleichmäßig fluoreszieren. Eine Zusammenfassung der Substrate, welche unter gleichen

Bedingungen umgesetzt wurden, und dennoch unterschiedlich funktionalisierte Muster aufweisen, befindet sich im Anhang (Abb. 83, Abb. 84, Abb. 85). Auf dem Substrat des gezeigten Dosistestmusters (Abb. 59, a, d) konnte in der optischen Mikroskopie kein weiteres Muster gefunden werden, weshalb dieses Substrat nicht in der Zusammenfassung aufgeführt ist. In der Durchlichtmikroskopie war keines der Muster sichtbar.

Da die erfolgreiche Farbstoffanbindung nicht ausschließlich von der Belichtungsdauer abzuhängen scheint, wurde eine Reihe Parameter, die eine Auswirkung auf die Oberflächenbenetzbarkeit, die Oberflächenfeuchtigkeit und die SAM selbst aufweisen können, variiert.

Es wurden Substrate ohne PEG-Funktionalisierung und Substrate mit Lagerung im Vakuum vor der Lithografie untersucht. Das Lagern der Substrate im Vakuum nach der Sulfonierung wurde untersucht, um zu überprüfen, ob es durch Wasser auf den Oberflächen zu einem Ätzen statt zu einer Reduktion kommt.²⁰⁶⁻²⁰⁸ Die Substrate zeigten ohne PEG-Funktionalisierung (Abb. 86) und mit Lagerung im Vakuum nach der Sulfonierung mit (Abb. 87) und ohne PEG (Abb. 88) keine Fluoreszenz innerhalb der Muster und wurden somit als nicht erfolgreich gewertet.

Als Parameter mit Einfluss auf die SAM wurden die Reaktionstemperatur und Reaktionszeit während der Sulfonierung untersucht. Das Absenken der Reaktionstemperatur auf 10 °C während der Sulfonierung führte ebenfalls zu keiner Farbstofffunktionalisierung der Muster (Abb. 89, Abb. 90).

Die Variation der Reaktionszeit der Sulfonierung von 4 h auf 1 h zeigte Teilerfolge (Abb. 91, Abb. 92), jedoch schlechtere Ergebnisse als bei der Reaktionszeit von 4 h. Das Erhöhen der Reaktionszeit auf 12 h (Abb. 93) und 5 h zeigte keine Erfolge, wobei auch bei 5 h Substrate mit (Abb. 95) und ohne PEG (Abb. 94) sowie nach dem Lagern im Vakuum (Abb. 96) untersucht wurden. In Übereinstimmung mit den Kontaktwinkelmessungen konnten bislang mit einer Sulfonierung über 4 h bei 30 °C und anschließender Funktionalisierung mit PEG-Amin und dann mit Alexa647-Maleimid die besten Resultate erzielt werden.

Die untersuchten Parameter sind in Tabelle 14 zusammengefasst. Für jeden Parameter ist die Anzahl der insgesamt hergestellten Muster zusammen mit der Anzahl der erfolgreich funktionalisierten und somit fluoreszenten Muster angegeben. Aufgrund der Kombination verschiedener Parameter für jedes Muster, werden die gleichen Muster mehrfach aufgeführt.

Tabelle 14: Übersicht der variierten Parameter mit Angabe der Anzahl der hergestellten Muster und der fluoreszierenden Muster.

	Muster insgesamt	Fluoreszierende Muster	Erfolgsquote / %
Mit PEG	37	5	14
Ohne PEG	16	0	0
Mit Lagerung im Vakuum	18	2	11
Ohne Lagerung im Vakuum	35	3	9
10 °C	2	0	0
30 °C	51	5	10
1 h	8	2	25
4 h	31	3	10
5 h	12	0	0
12 h	2	0	0

Das Lagern der Substrate im Vakuum zeigte Teilerfolge, wobei aufgrund der Kombination verschiedener Parameter sowie mangelnder Reproduzierbarkeit bislang keine verlässliche Korrelation möglich ist.

Zusätzlich zu der Variation der chemischen Parameter wurden die Strukturierung und Platzierung der Substrate während der Beschichtung als weiterer Parameter untersucht. Die mangelnde Reproduzierbarkeit der fluoreszierenden Muster ist nicht auf sichtbare Inhomogenitäten zurückzuführen (Abb. 58), sondern könnte ihre Ursache bereits in der durch Sputtern abgeschiedenen Schicht oder der Lithografie haben.

Für eine Überprüfung ungleichmäßiger ITO-Schichten als Ursache wurden die Muster weiter in die Mitte der Substrate verschoben. Hierdurch sollte der Effekt einer möglichen ungleichmäßigen Beschichtung minimiert werden. Zudem wurde die Abhängigkeit von der Substratplatzierung im Plasma während des Sputtervorgangs beobachtet (Abb. 60). Ungleichmäßige ITO-Schichten könnten durch veränderte Streuung der Elektronen während der cEBL zu unterschiedlicher Reduktion und somit Funktionalisierung führen. Während der Beschichtung mittels Sputterverfahren liegt eine radiale Verteilung des ITO in der Anlage vor, wodurch Bereiche im Äußeren der Anlage weniger dick beschichtet werden könnten.

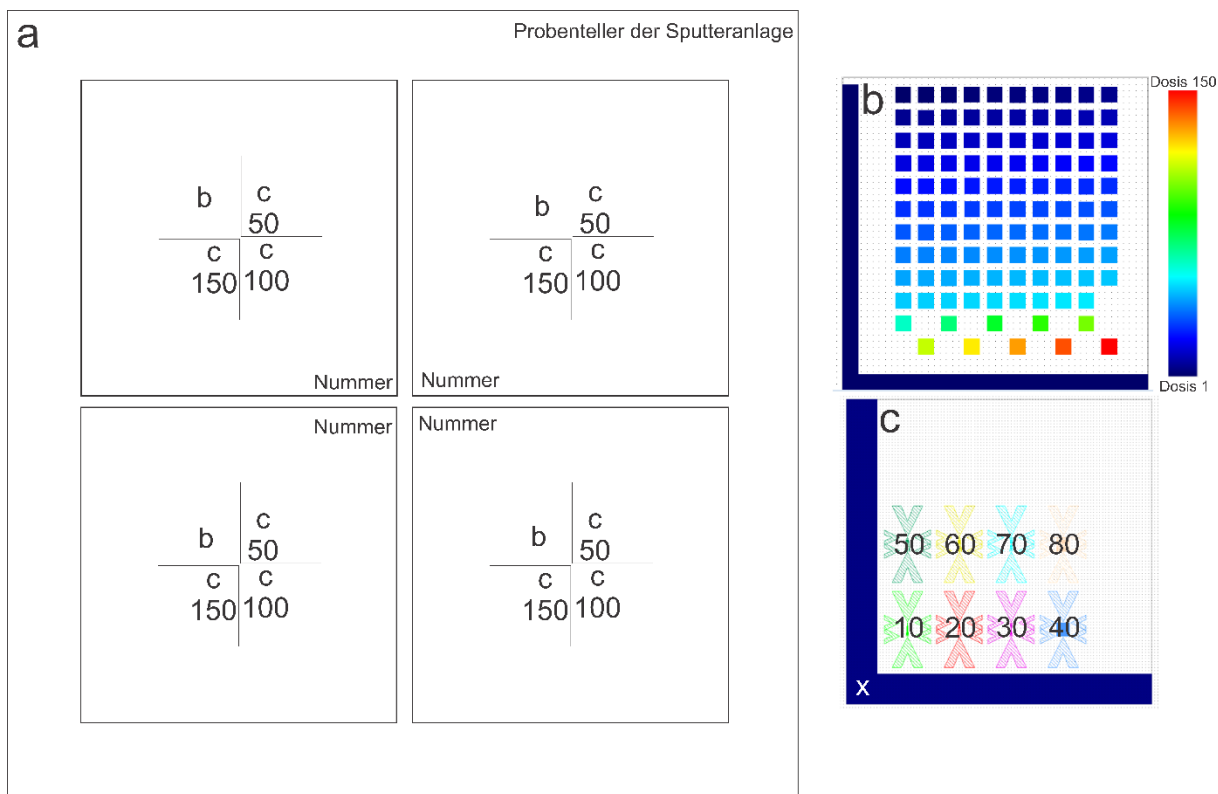


Abb. 60: Schematische Darstellung der Strukturierung der Substrate mit Muster für den Dosistest inklusive der Anordnung der Muster auf dem Substrat und mit Orientierung zum Kratzer zur Markierung sowie mit Kennzeichnung der Platzierung der Substrate im Plasma während des Sputtervorgangs (a) und der zum Schreiben der jeweiligen Muster verwendeten Dosis (b, c). Die Angabe der Dosis x (c) ist in (a) beinhaltet und befindet sich unterhalb der Kennzeichnung der Platzierung der Muster.

Die Reaktionszeit für die Sulfonierung wurde für 3 h und 4 h getestet. Für die Vergleichbarkeit mit den vorigen Substraten wurde auch die dort nicht optimale Reaktionszeit von 5 h untersucht. Die Temperatur betrug 30 °C. Es wurden PEGylierte und nicht PEGylierte Substrate untersucht.

Die REM- und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen eines Substrates, das für 4 h mit anschließender PEGylierung umgesetzt wurde, sind in Abb. 61 gezeigt.

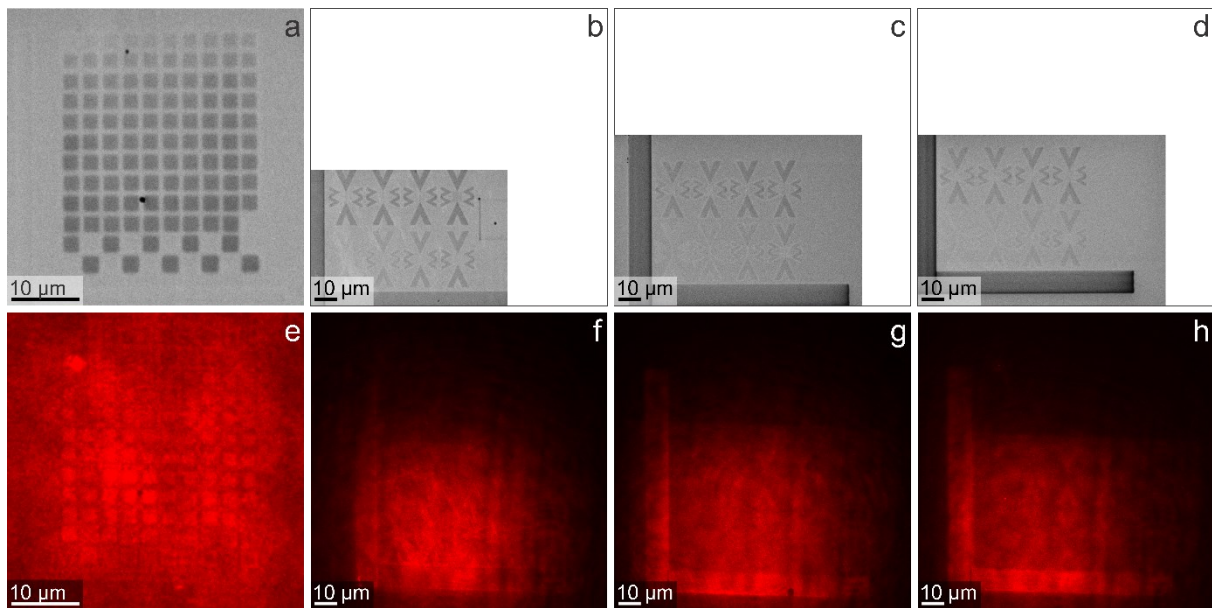


Abb. 61: REM- Aufnahmen (a-d) und Fluoreszenzmikroskopieaufnahmen (e-h) der erfolgreichen Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 4 h bei 30 °C. Zwischen den REM- und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster). Während der Beschichtung mit ITO war das Substrat hinten rechts platziert. Bei dem Dosistestmuster wurde die fünffache Dosis verwendet.

Die Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen zeigen eine erfolgreiche lokalisierte Funktionalisierung auf allen vier Mustern. Eine Verschiebung der Muster in die Mitte der Substrate ist somit als vorteilhaft anzusehen. Höhere Dosen, als bisher verwendet wurden, scheinen zu besseren Resultaten zu führen. Der umgebende Balken mit einer Dosis von 150 (Abb. 61, h) ist in der Fluoreszenzaufnahme am deutlichsten zu erkennen und das Dosistestmuster (Abb. 61, e), welches mit der fünffachen Dosis der bisherigen Muster geschrieben wurde, zeigt ein Optimum bei einer Dosis von etwa 200 bis 250. Ein Analog behandeltes Substrat (Abb. 97, Anhang) zeigte jedoch im Gegensatz zu dem hier gezeigten Substrat kein einziges fluoreszentes Muster. Beide Substrate wurden parallel behandelt und in den gleichen Lösungen funktionalisiert. Ohne PEG-Funktionalisierung aber mit ansonsten gleicher Behandlung ist ebenfalls keine Fluoreszenz der Muster zu beobachten (Abb. 98, Anhang, Abb. 99, Anhang).

Eine erfolgreiche lokalisierte Funktionalisierung aller Muster auf einem Substrat war auch bei einer Reaktionszeit von 3 h möglich. Die zugehörigen REM- und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen sind in Abb. 62 gezeigt.

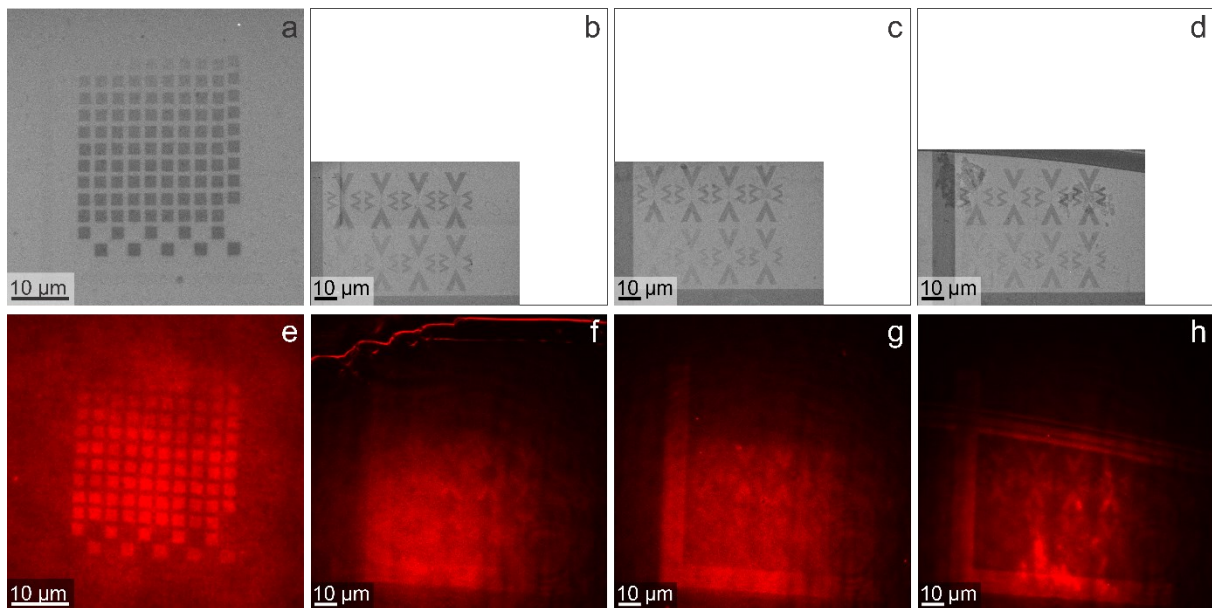


Abb. 62: REM- Aufnahmen (a-d) und Fluoreszenzmikroskopieaufnahmen (e-h) der erfolgreichen Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 3 h bei 30 °C. Zwischen den REM- und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster). Während der Beschichtung mit ITO war das Substrat hinten links platziert. Bei dem Dosistestmuster wurde die fünffache Dosis verwendet.

Die Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen zeigen erneut bessere Resultate bei relativ hohen Dosen von 200 bis 250 und der Vergleich zu dem Substrat mit einer Reaktionszeit von 4 h zeigt eine schärfere Abgrenzung des Dosistestmusters.

Eine Reaktionszeit von 5 h bei der Sulfonierung mit ansonsten gleicher Behandlung zeigt mit (Abb. 100, Anhang) und ohne (Abb. 101, Anhang) PEG keine fluoreszenten Muster, wobei ohne PEG erneut stärkere Hintergrundfluoreszenz und somit inverse Muster zu beobachten sind.

In diesem Abschnitt der Arbeit wurde die cEBL gestützte Strukturierung von ITO-Substraten zur gerichteten Immobilisierung von μ G beschrieben. Es wurden lokalisierte, lateral begrenzte Bindungsstellen erzeugt, bei denen durch Funktionalisierung der Umgebung die sphärische Form der μ G erhalten bleiben soll. Die vielen verschiedenen Einflussparameter konnten im Rahmen dieser Arbeit nicht erschöpfend evaluiert werden. Eine Variation der Reaktionsbedingungen bei der Sulfonierung der oberflächengebundenen Moleküle zeigte jedoch die bislang besten Ergebnisse bei einer Reaktionszeit von 3 h bis 4 h bei 30 °C mit einer PEG-Funktionalisierung außerhalb der Muster. Die Reproduzierbarkeit der Funktionalisierungen muss noch optimiert werden, da gleich behandelte Muster unterschiedliche Ergebnisse zeigen. Dies war teilweise auch auf dem gleichen Substrat zu beobachten. Eine Verschiebung der Lithographiemuster in die Mitte der Substrate scheint die Qualität der Muster auf dem gleichen Substrat einheitlicher werden zu lassen, wobei bisher nur einzelne Substrate untersucht wurden. Auch bei den Substraten mit den Mustern, die in der Mitte der Substrate platziert wurden, konnten Unterschiede zwischen gleich behandelten Substraten beobachtet werden.

Mögliche Erklärungen hierfür wären Unterschiede bei der Beschichtung mit ITO oder bei der Lithografie. Um Unterschiede während der Beschichtung zu untersuchen, wurde die Platzierung der Substrate während des Sputtervorgangs ebenfalls in Betracht gezogen, wobei hier anhand der bisherigen Experimente, aufgrund der zu geringen Anzahl an Substraten, noch keine Korrelation der Einflussparameter möglich ist.

Aufgrund von mangelnder Reproduzierbarkeit mit den ITO-Oberflächen und dem 2-(4-Chlorosulfonylphenyl)Ethyltrimethoxy-silan konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht der gesamte Prozess vollzogen werden, sondern nur die lokalisierte Funktionalität der Oberflächen. Eine Immobilisierung der μG steht noch aus.

Insgesamt konnten mit im Arbeitskreis hergestellten ITO-Substraten mit einer oberflächengebundenen Synthese des 2-(Sulfonsäurephenyl)Ethyltrimethoxy-silan mit anschließender Lithografie lokalisierte Funktionalitäten auf Oberflächen erzeugt werden. Die im Arbeitskreis hergestellten ITO-Substrate zeigten homogenere Oberflächen als die kommerziell erhältlichen Substrate und die oberflächengebundene Synthese führte zu weniger Verunreinigungen und einer gleichmäßigeren Funktionalisierung als mit kommerziellem 2-(4-Chlorosulfonylphenyl)Ethyltrimethoxy-silan.

5 Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen dieser Arbeit wurden multifunktionale Mikrogel-DNA-Hybridsysteme hergestellt und hinsichtlich ihres Phasenübergangs in angepassten Salzkonzentrationen und einer regioselektiven Funktionalisierung mit DNA untersucht. Zudem wurden Oberflächen entwickelt, die eine gezielte Immobilisierung von DNA funktionalisierten Mikrogelen in vorgegebenem Muster und in ihrer nativen Struktur ermöglichen sollten.

Bei der Untersuchung der Phasenübergänge der Mikrogele in angepassten Salzkonzentrationen konnte gezeigt werden, dass ^1H -NMR-Untersuchungen ein geeignetes Mittel sind Phasenübergänge kolloidal instabiler μG Systeme zu charakterisieren. Es sind sowohl die T_{VPT} als auch die thermodynamischen Größen wie ΔH , ΔS und ΔG zugänglich, sodass ein quantitativer Vergleich unterschiedlicher Systeme ermöglicht wird. Ein nicht linearer Fit zur Bestimmung der thermodynamischen Größen erlaubt die Betrachtung aller Messdaten ohne weitere Linearisierung, wodurch die Fehler des Fits verringert werden.

Die DNA-Funktionalisierung der μG bewirkte, entgegen der Erwartung, eine Erniedrigung der T_{VPT} und ΔG trotz der Einführung hydrophiler Moleküle. Gegenüber Salzlösungen zeigte die T_{VPT} der DNA- μG eine geringere Sensitivität als die T_{VPT} der μG und wurde weniger stark erniedrigt. In PBS, welches verwendet wurde, um physiologische Bedingungen nachzustellen, zeigten die μG und DNA- μG eine T_{VPT} um $38\text{ }^\circ\text{C}$. Dies ist im Hinblick auf biomedizinische Anwendungen vielversprechend, da hier ein Phasenübergang im Bereich der Körpertemperatur angestrebt wird.

Eine Regioselektivität der DNA-Funktionalisierung im Inneren der μG konnte durch die Verwendung von Kern-Schale- μG umgesetzt werden. Die Synthese von Kern-Schale- μG mit angepasster Schalendicke wurde erfolgreich durchgeführt. Der Nachweis des gezielten Schalenaufbaus geschah mittels TEM, AFM und DLS. Die Lokalisierung der für die DNA-Funktionalisierung verwendeten Disulfide im Kern- μG ermöglichte eine nachträgliche lokale DNA-Funktionalisierung. Die Lokalisierung der funktionellen Gruppen wurde durch Umsetzung mit Alexa647-Maleimid und durch Umsetzung mit DNA-Maleimid mit anschließender Hybridisierung mit komplementärer Alexa647-DNA mittels dSTORM und DNA-PAINT gezeigt. Die Markierung mit Farbstoffen erstreckte sich nicht über das gesamte Kern-Schale- μG , war allerdings auch nicht ausschließlich auf den Kern begrenzt. Eine DNA-Funktionalisierung im Inneren von μG ist für potenzielle Wirkstofftransportsysteme von Interesse, da das μG hier als Schutz fungieren könnte. Zudem werden zukünftige Experimente zur Diffusion innerhalb von μG , bei denen Farbstoffe im Inneren der μG freigesetzt und dann mittels SRFM verfolgt werden sollen, ermöglicht.

In der Auswahl der in Frage kommenden Substrate, die sowohl für cEBL als auch für optische Mikroskopie geeignet sind, wurden kommerzielle sowie eigene ITO-

Beschichtungen getestet. Den Anforderungen entsprechend haben im Vergleich die selbst hergestellten Substrate die besten Ergebnisse hinsichtlich Homogenität und Rauigkeit gezeigt. Ebenso wurde das SAM-bildende Silan untersucht, da auch durch die begrenzte kommerzielle Verfügbarkeit eine maßgeschneiderte Synthese entwickelt werden musste. Hierbei zeigte die oberflächengebundene Synthese die besten Erfolge.

In den Untersuchungen wurden zudem eine Reihe weiterer Einflussparameter, wie Reaktionszeit und -temperatur, PEGylierung der Substrate, sowie die Position der Substrate während der Beschichtung und die Position der cEBL-Muster auf den Substraten ermittelt, die sich auf die Lithografie unmittelbar auswirken. Eine Permutation aller Parameter hätte zu großen Zeitaufwand bedeutet, sodass gezielt eine Auswahl von Parametern getestet wurde. Als am erfolgreichsten haben sich bei den Reaktionsbedingungen bei der Sulfonierung der oberflächengebundenen Moleküle Reaktionszeiten von 3 h bis 4 h bei 30 °C mit einer PEG-Funktionalisierung außerhalb der Muster gezeigt. Die Positionierung der cEBL-Muster in der Mitte der Substrate führte zu einer gleichmäßigeren Umsetzung.

Es konnten wesentliche Parameter identifiziert werden, mit denen die Umsetzung bis zum fluoreszierenden Muster erfolgreich gezeigt werden konnte. Da auch zufällig auf alle Ansätze verteilt nicht umgesetzte Muster beobachtet wurden, für die bis jetzt keine Korrelation zu den Parametern hergestellt werden konnten, sind weitere Untersuchungen notwendig. Dennoch können mittels cEBL Substrate lokal und lateral begrenzt funktionalisiert werden, um Bindungsstellen für eine spätere Immobilisierung der μG zu erzeugen.

6 Anhang

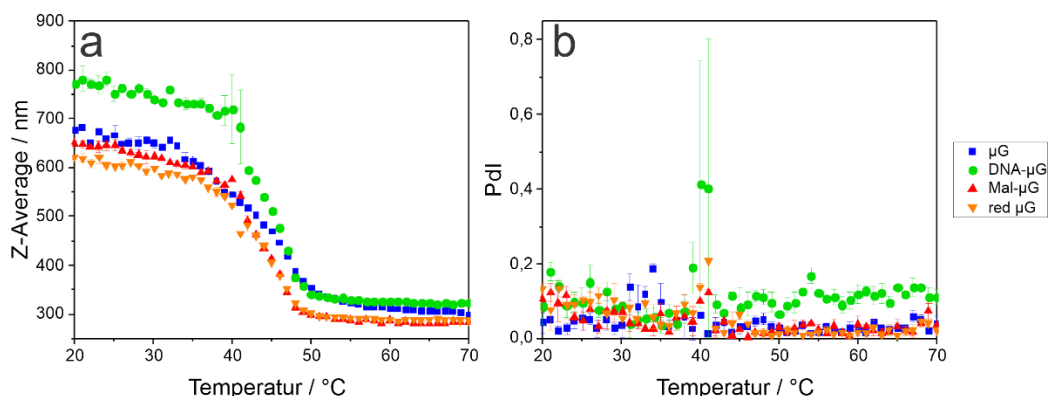


Abb. 63: Berechneter hydrodynamischer Durchmesser (a) der μG , DNA- μG , Mal- μG und red μG in Abhängigkeit der Temperatur und zugehörige Polydispersitätsindices (b) in H_2O .

Tabelle 15: T_{VPT} und hydrodynamische Durchmesser der μG , DNA- μG , Mal- μG und red μG im gequollenen und kollabierten Zustand.

Mikrogel	$T_{\text{VPT}} / ^\circ\text{C}$	$d_{\text{h, gequollen}} / \text{nm}$	$d_{\text{h, kollabiert}} / \text{nm}$
μG	41 ± 5	690 ± 20	320 ± 10
DNA- μG	44 ± 3	820 ± 40	350 ± 10
Mal- μG	43 ± 2	680 ± 30	290 ± 10
red μG	43 ± 3	660 ± 30	300 ± 10

Tabelle 16: Durchmesser der μG , DNA- μG , Mal- μG und red μG im getrockneten Zustand, ermittelt anhand von REM-Aufnahmen (InLens-Detektor) mit Angabe der zur Bestimmung verwendeten Anzahl.

	μG	DNA- μG	Mal- μG	red μG
d / nm	450 ± 20	490 ± 20	450 ± 30	440 ± 40
Anzahl	219	279	293	319

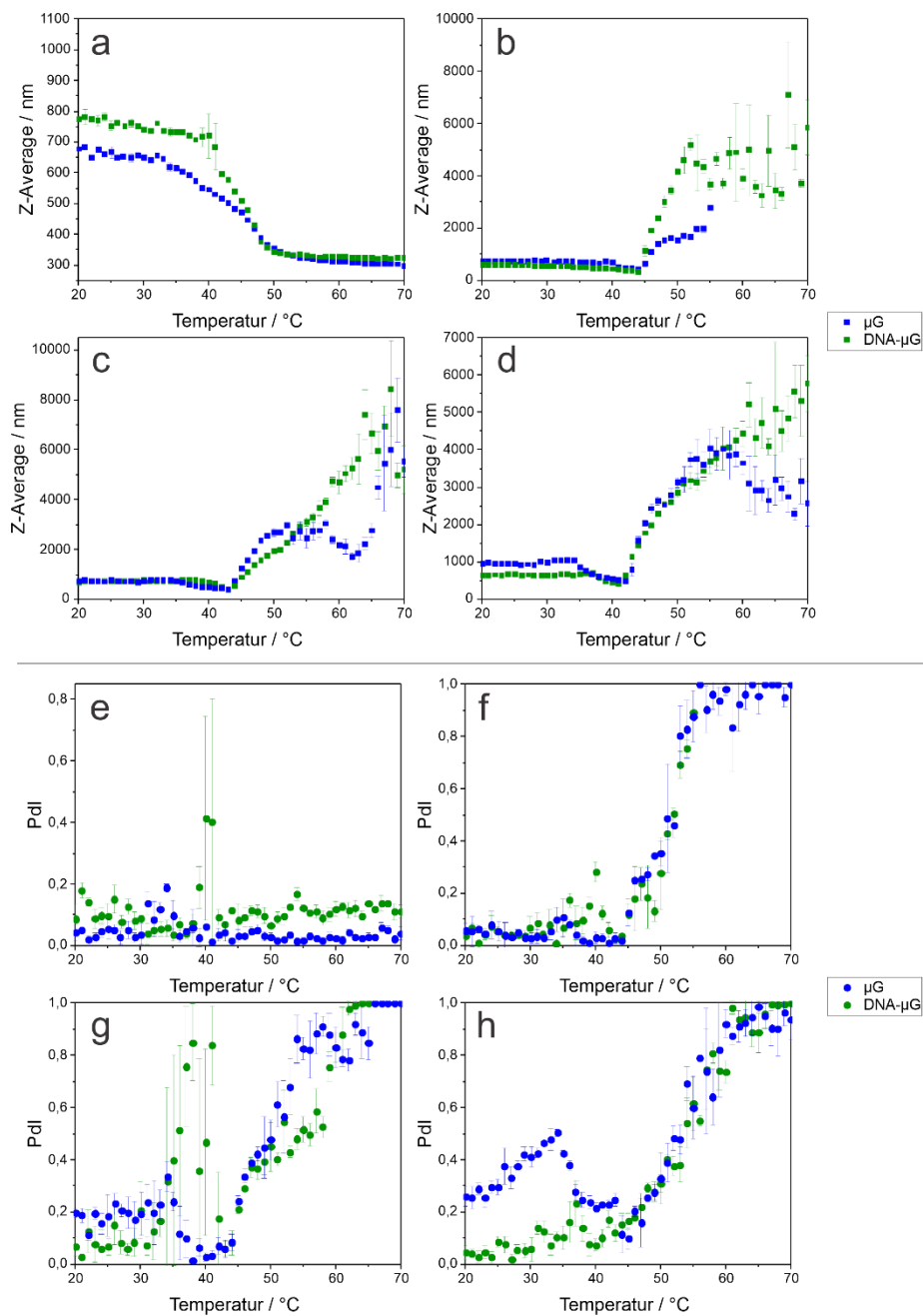


Abb. 64: Berechneter hydrodynamischer Durchmesser (a-d) und zugehörige Polydispersitätsindices (e-h) in Abhängigkeit der Temperatur der μG und DNA- μG in H_2O (a, e), 0,1 M NaCl (b, f), 0,14 M NaCl (c, g) und in PBS (d, h).

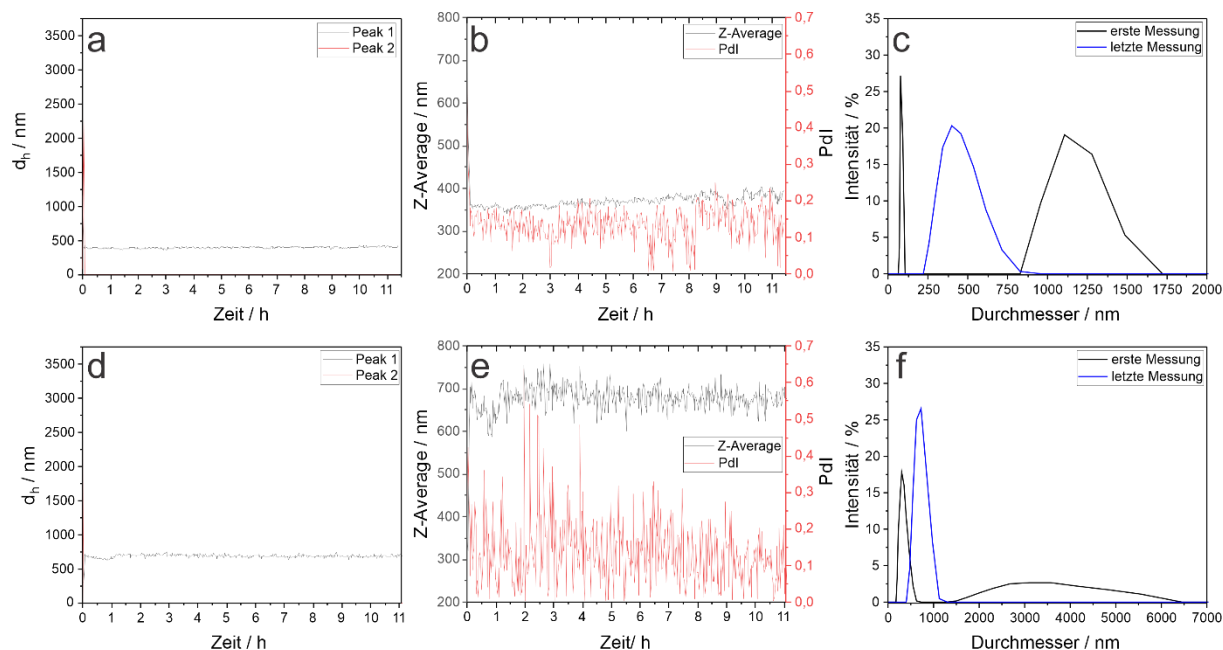


Abb. 65: Intensitätsgewichteter hydrodynamischer Durchmesser (a, d) und berechneter hydrodynamischer Durchmesser mit Polydispersitätsindices (b, e) der μ G in Abhängigkeit der Zeit nachdem für eine Stunde bei 20 °C temperiert wurde mit einer Messung bei 50 °C (a, b) und nachdem für eine Stunde bei 50 °C temperiert wurde mit einer Messung bei 20 °C (d, e) zusammen mit den gemessenen Peaks bei der ersten und letzten Messung nachdem für eine Stunde bei 20 °C temperiert wurde mit einer Messung bei 50 °C (c) und nachdem für eine Stunde bei 50 °C temperiert wurde mit einer Messung bei 20 °C (f).

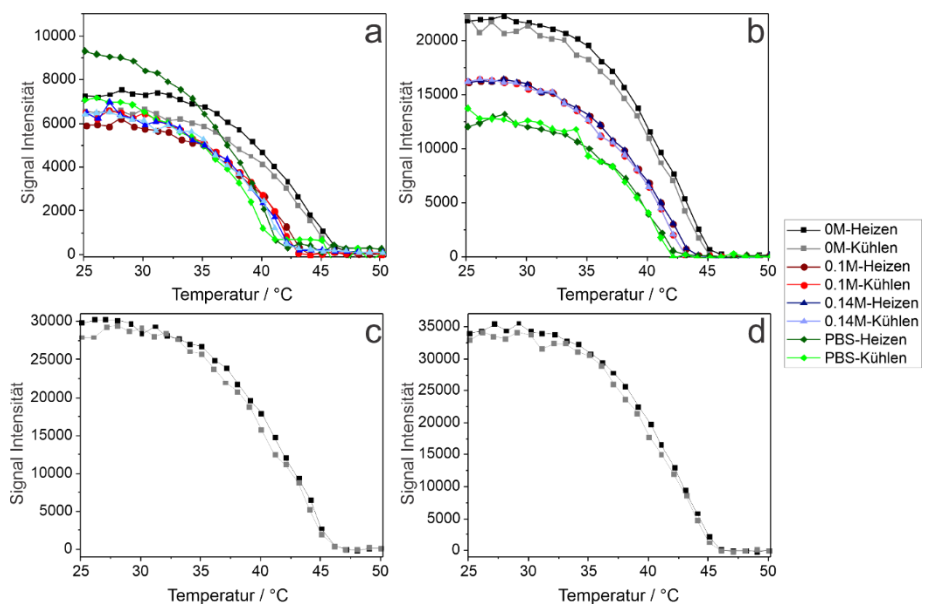


Abb. 66: Signalintensitäten der ^1H -NMR-Spektren der μ G (a), der DNA- μ G (b), der red μ G (c) und der Mal- μ G (d) in Abhängigkeit der Temperatur bei angepassten Salzkonzentrationen.

Tabelle 17: Natriumgehalt der μ G und DNA- μ G ermittelt über AAS.

	Menge Na / mg/L	c(Na) / mmol/L
μ G	0,1	2,3
DNA- μ G	0,25	5,7

Tabelle 18: T_{VPT} der μG , DNA- μG , red μG und Mal- μG bei angepassten Salzkonzentrationen.

Salzkonzentration	VPTT / °C							
	μG		DNA- μG		red μG		Mal- μG	
	Heizen	Kühlen	Heizen	Kühlen	Heizen	Kühlen	Heizen	Kühlen
0 M	41,5	41,5	40,5	40,1	40,9	40,2	40,5	40,2
0,1 M	39,2	39,2	39,2	39,1	-	-	-	-
0,14 M	38,2	38,5	39,2	39,1	-	-	-	-
PBS	37,5	38,0	38,6	38,2	-	-	-	-

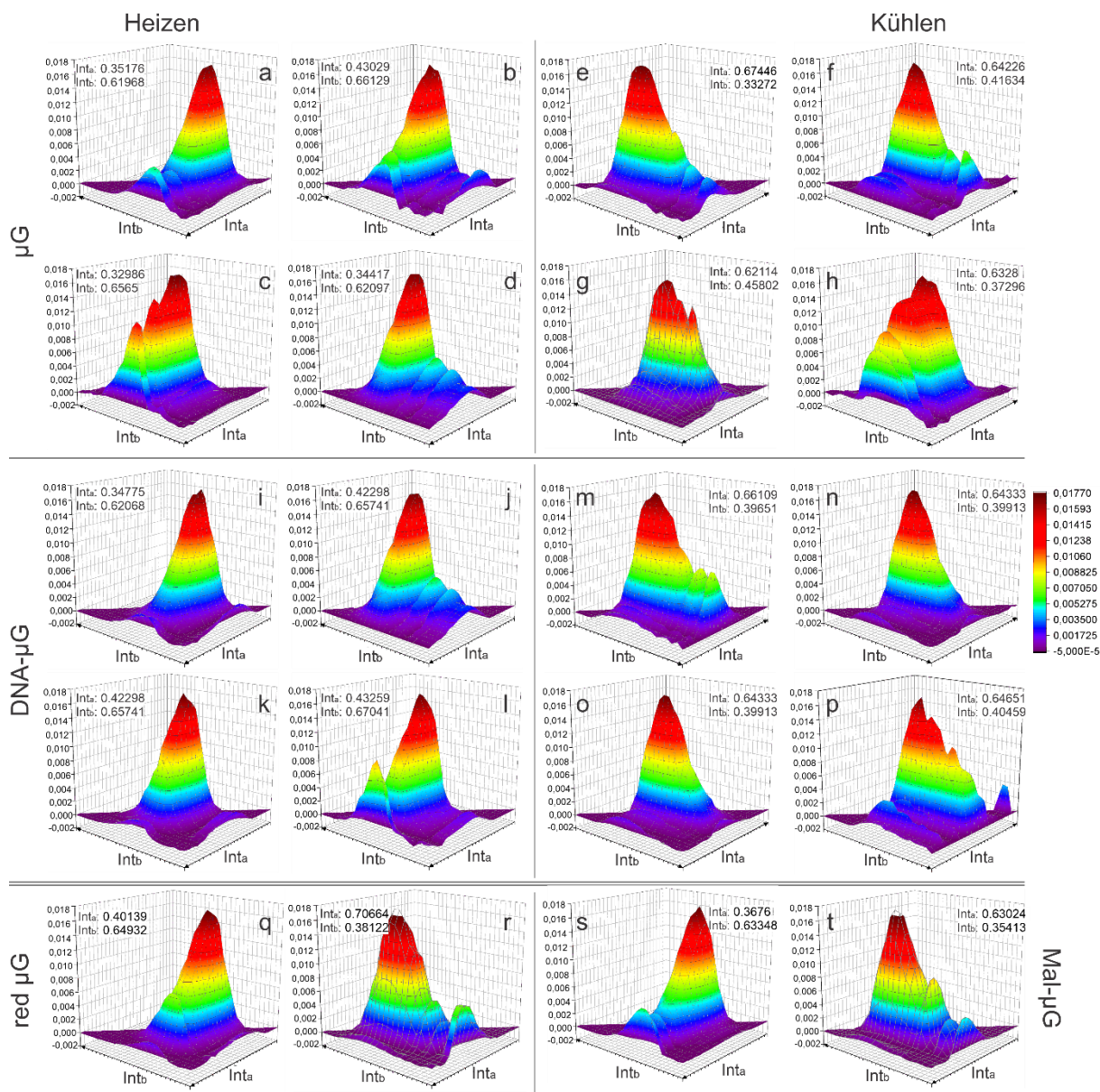


Abb. 67: Graphische Darstellung der nach Gleichung 2 ermittelten relativen Signalintensitäten Int der ^1H -NMR Spektren der μG (a-h), DNA- μG (i-p), red μG (q, r) und Mal- μG (s, t) mit maximalem Abstand zueinander sowie zu 0 und 1, in D_2O (a, e, i, m, q-t), 0,1 M NaCl (b, f, j, n), in 0,14 M NaCl (c, g, k, o) und in PBS (d, h, l, p) während der Heiz- (a-d, i-l, q, s) und Kühllexperimente (e-h, m-p, r, t).

Tabelle 19: Relative Signalintensitäten Int der ^1H -NMR Spektren der μG , DNA- μG , red μG und Mal- μG mit maximalem Abstand zueinander sowie zu 0 und 1, nach Gleichung 2 ermittelt, mit zugehörigen Temperaturen T und Gleichgewichtskonstanten K_{eq} bei angepassten Salzkonzentrationen.

			T / K	Int	K_{eq}	T / K	Int	K_{eq}
μG	0M	Heizen	316,1	0,35176	1,84	313,3	0,61968	0,61
		Kühlen	316,1	0,33272	2,01	312,1	0,67446	0,48
	0,1M	Heizen	313,2	0,43029	1,32	310,2	0,66129	0,51
		Kühlen	313,1	0,41634	1,40	310,2	0,64226	0,56
	0,14M	Heizen	309,1	0,6565	0,52	313,1	0,32986	2,03
		Kühlen	310,1	0,62114	0,61	312,1	0,45802	1,18
	PBS	Heizen	312,2	0,34417	1,91	309,1	0,62097	0,61
		Kühlen	312,1	0,37296	1,68	309,1	0,6328	0,58
DNA-μG	0M	Heizen	315,2	0,34775	1,88	312,2	0,62068	0,61
		Kühlen	314,1	0,39651	1,52	311,1	0,66109	0,51
	0,1M	Heizen	313,1	0,42298	1,36	310,1	0,65741	0,52
		Kühlen	313,1	0,39913	1,51	310,1	0,64333	0,55
	0,14M	Heizen	313,1	0,42298	1,36	310,1	0,65741	0,52
		Kühlen	313,1	0,39913	1,51	310,1	0,64333	0,55
	PBS	Heizen	312,2	0,43259	1,31	309,2	0,67041	0,49
		Kühlen	312,1	0,40459	1,47	309,1	0,64651	0,55
red μG	0M	Heizen	315,2	0,3676	1,72	312,2	0,63348	0,58
		Kühlen	315,1	0,35413	1,82	312,1	0,63024	0,59
Mal-μG	0M	Heizen	315,1	0,40139	1,49	312,2	0,64932	0,54
		Kühlen	315,1	0,38122	1,62	311,1	0,70664	0,42

Tabelle 20: Achsenabschnitt und Steigung des linearer Fits an die van't Hoff Plots der ^1H -NMR-Spektren der μG , DNA- μG , red μG und Mal- μG bei angepassten Salzkonzentrationen.

			Achsenabschnitt	Fehler	Steigung	Fehler
μG	0M	Heizen	113,66	5,01	-35,75	1,58
		Kühlen	111,01	8,92	-34,90	2,80
	0,1M	Heizen	98,32	2,85	-30,70	0,89
		Kühlen	97,13	5,03	-30,31	1,57
	0,14M	Heizen	108,67	9,39	-33,82	2,92
		Kühlen	102,86	15,59	-32,06	4,85
	PBS	Heizen	112,43	4,76	-34,91	1,48
		Kühlen	109,60	11,47	-34,06	3,56
μG-DNA	0M	Heizen	117,40	1,96	-36,80	0,61
		Kühlen	113,92	6,14	-35,66	1,92
	0,1M	Heizen	102,13	7,27	-31,89	2,26
		Kühlen	103,12	5,66	-32,17	1,76
	0,14M	Heizen	102,13	7,27	-31,89	2,26
		Kühlen	103,12	5,66	-32,17	1,76
	PBS	Heizen	101,42	14,08	-31,60	4,37
		Kühlen	105,37	14,73	-32,78	4,57
red μG	0M	Heizen	111,12	6,90	-34,90	2,16
		Kühlen	111,68	6,31	-35,02	1,97
Mal-μG	0M	Heizen	115,37	4,48	-36,20	1,40
		Kühlen	116,86	5,24	-36,63	1,64

Tabelle 21: Thermodynamische Größen ΔH , ΔS und ΔG für den Phasenübergang der μG , DNA- μG , red μG und Mal- μG bei angepassten Salzkonzentrationen, ermittelt über den linearen Fit von van't Hoff Plots.

			ΔH kJ/mol	Fehler	ΔS J/ mol·K	Fehler	ΔG (298K) kJ/mol	Fehler
μG	0 M	Heizen	297,23	13,14	944,97	41,65	15,62	0,72
		Kühlen	290,16	23,28	922,94	74,16	15,12	1,18
	0,1 M	Heizen	255,24	7,40	817,43	23,69	11,64	0,34
		Kühlen	252,00	13,05	807,54	41,82	11,35	0,59
	0,14 M	Heizen	281,20	24,30	903,52	78,11	11,96	1,02
		Kühlen	266,55	40,34	855,20	129,65	11,70	1,70
	PBS	Heizen	290,24	12,30	934,74	39,57	11,69	0,51
		Kühlen	283,17	29,60	911,21	95,36	11,63	1,18
	DNA-μG 0 M	Heizen	305,96	5,07	976,06	16,30	15,09	0,22
		Kühlen	296,48	15,96	947,13	51,05	14,23	0,75
red μG	0,1 M	Heizen	265,13	18,79	849,11	60,44	12,10	0,78
		Kühlen	267,46	14,63	857,34	47,06	11,97	0,61
	0,14 M	Heizen	265,13	18,79	849,11	60,44	12,10	0,78
		Kühlen	267,46	14,63	857,34	47,06	11,97	0,61
	PBS	Heizen	262,72	36,33	843,21	117,06	11,45	1,45
		Kühlen	272,53	37,99	876,05	122,47	11,47	1,50
	0M	Heizen	290,13	17,99	923,87	57,36	14,82	0,90
		Kühlen	291,14	16,42	928,50	52,43	14,45	0,79
	Mal-μG 0M	Heizen	300,95	11,68	959,22	37,24	15,10	0,58
		Kühlen	304,54	13,65	971,56	43,53	15,01	0,68

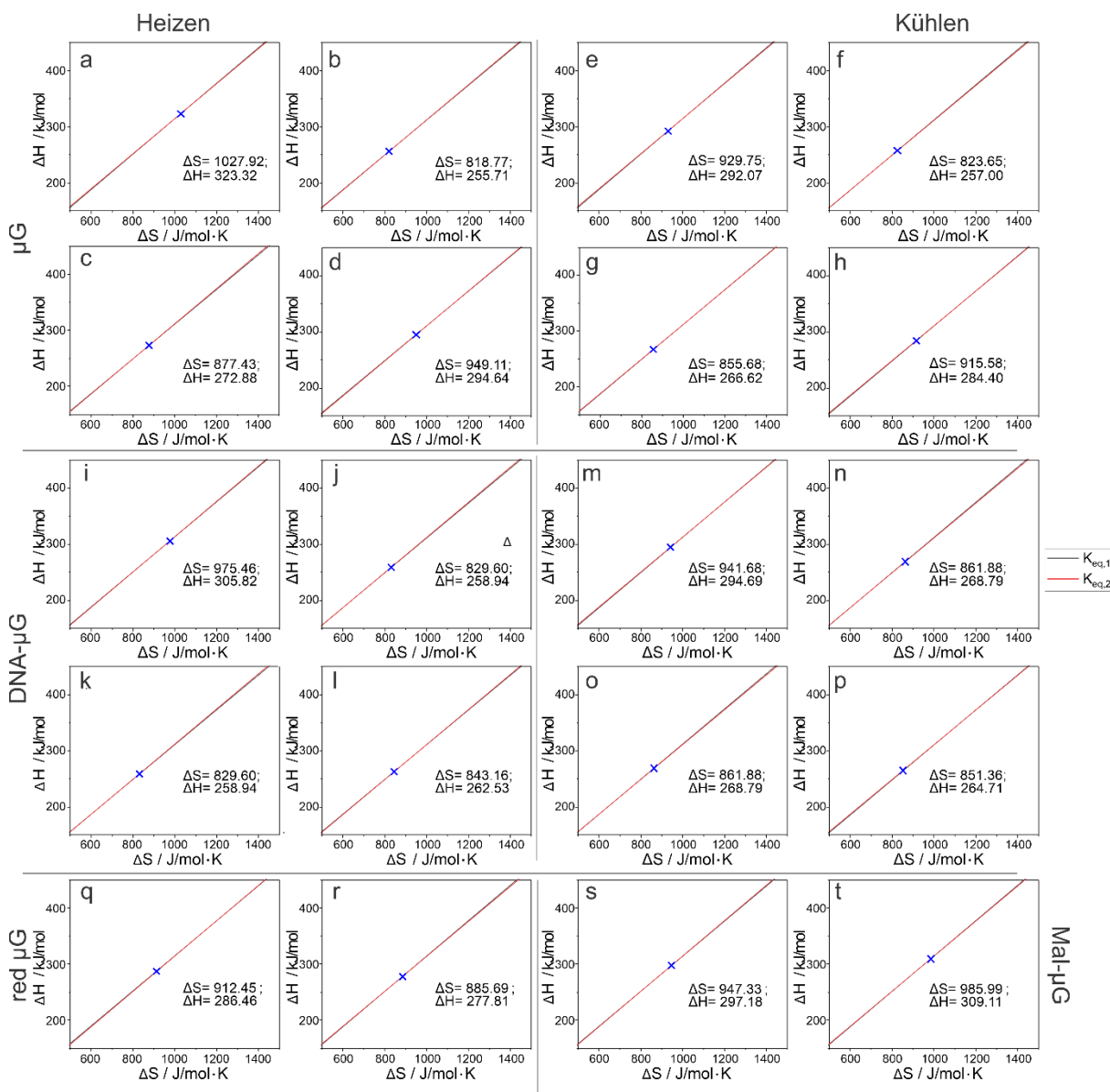


Abb. 68: Graphische Auftragung der Schnittpunkte der Geraden nach Gleichung 6 als Ausgangswerte von ΔS und ΔH für den nicht linearen Fit der relativen Signalintensitäten der 1H -NMR-Spektren der μG , DNA- μG , red μG und Mal- μG in D_2O (a, e, i, m, q-t), 0,1 M NaCl (b, f, j, n), in 0,14 M NaCl (c, g, k, o) und in PBS (d, h, l, p) während der Heiz- (a-d, i-l, q, s) und Kühllexperimente (e-h, m-p, r, t).

Tabelle 22: Zusammenfassung der Parameter des nicht linearen Fits der relativen Signale der ^1H -NMR-Spektren der μG , DNA- μG , red μG und Mal- μG bei angepassten Salzkonzentrationen.

			Int ₀	Fehler	Int ₁	Fehler	ΔH / kJ/mol	Fehler	ΔS / J/mol·K	Fehler
μG	0M	Heizen	-0,07	0,02	1,04	0,02	323,65	0,58	1028,20	1,60
		Kühlen	-0,10	0,03	1,08	0,03	291,39	0,88	925,77	2,41
	0,1M	Heizen	-0,09	0,03	1,08	0,05	255,16	1,34	816,62	4,03
		Kühlen	-0,09	0,04	1,10	0,05	255,47	1,44	818,71	4,39
	0,14M	Heizen	-0,07	0,03	1,02	0,04	271,12	1,23	870,02	3,79
		Kühlen	-0,08	0,03	1,10	0,04	265,90	1,30	853,20	4,02
	PBS	Heizen	-0,03	0,02	1,03	0,03	293,44	0,94	945,61	3,02
		Kühlen	0,02	0,02	0,98	0,03	281,29	1,04	906,43	3,35
DNA-μG	0M	Heizen	-0,07	0,02	1,06	0,02	305,52	0,64	973,92	1,85
		Kühlen	-0,07	0,02	1,04	0,03	293,58	0,84	936,80	2,46
	0,1M	Heizen	-0,09	0,03	1,11	0,04	258,46	1,13	827,75	3,41
		Kühlen	-0,08	0,03	1,09	0,04	267,41	1,12	857,50	3,43
	0,14M	Heizen	-0,09	0,03	1,11	0,04	258,46	1,13	827,75	3,41
		Kühlen	-0,08	0,03	1,09	0,04	267,41	1,12	857,50	3,43
	PBS	Heizen	-0,08	0,03	1,07	0,05	262,41	1,45	842,41	4,49
		Kühlen	-0,07	0,03	1,06	0,05	264,59	1,50	850,42	4,71
red μG	0M	Heizen	-0,10	0,03	1,08	0,03	285,16	0,78	906,84	2,16
		Kühlen	-0,10	0,03	1,09	0,03	277,14	0,84	882,51	2,37
Mal-μG	0M	Heizen	-0,09	0,02	1,07	0,03	295,38	0,68	940,33	1,92
		Kühlen	-0,07	0,02	1,06	0,02	308,94	0,66	984,57	1,90

Tabelle 23: Thermodynamische Größen ΔH , ΔS und ΔG für den Phasenübergang der μG , DNA- μG , red μG und Mal- μG bei angepassten Salzkonzentrationen, ermittelt über den nicht linearen Fit der relativen Signale der ^1H -NMR-Spektren.

			ΔH / kJ/mol	Fehler	ΔS / J/mol·K	Fehler	ΔG (298K)/ kJ/mol	Fehler
μG	0M	Heizen	323,65	0,58	1028,20	1,60	17,25	0,10
		Kühlen	291,39	0,88	925,77	2,41	15,51	0,16
	0,1M	Heizen	255,16	1,34	816,62	4,03	11,81	0,14
		Kühlen	255,47	1,44	818,71	4,39	11,49	0,13
	0,14M	Heizen	341,36	0,67	1094,87	2,06	11,85	0,10
		Kühlen	208,90	2,25	670,77	6,98	11,63	0,10
	PBS	Heizen	293,44	0,94	945,61	3,02	11,64	0,04
		Kühlen	281,29	1,04	906,43	3,35	11,17	0,04
$\mu\text{G-DNA}$	0M	Heizen	305,52	0,64	973,92	1,85	15,29	0,09
		Kühlen	293,58	0,84	936,80	2,46	14,41	0,11
	0,1M	Heizen	258,46	1,13	827,75	3,41	11,79	0,11
		Kühlen	267,41	1,12	857,50	3,43	11,87	0,10
	0,14M	Heizen	258,46	1,13	827,75	3,41	11,79	0,11
		Kühlen	267,41	1,12	857,50	3,43	11,87	0,10
	PBS	Heizen	262,41	1,45	842,41	4,49	11,37	0,11
		Kühlen	264,59	1,50	850,42	4,71	11,16	0,10
red μG	0M	Heizen	285,16	0,78	906,84	2,16	14,93	0,13
		Kühlen	277,14	0,84	882,52	2,37	14,15	0,13
Mal-μG	0M	Heizen	295,38	0,68	940,34	1,92	15,16	0,10
		Kühlen	308,94	0,66	984,58	1,90	15,53	0,10

Tabelle 24: Vergleich der der freien Gibbs Energie ermittelt über den linearen von van't Hoff Plots und den nicht linearen Fit der relativen Signale der ¹H-NMR-Spektren.

			Linearer Fit		Nicht linearer Fit	
			ΔG (298 K) kJ/mol	Fehler	ΔG (298K) kJ/mol	Fehler
μG	0 M	Heizen	15,62	0,72	17,25	0,10
		Kühlen	15,12	1,18	15,51	0,16
	0,1 M	Heizen	11,64	0,34	11,81	0,14
		Kühlen	11,35	0,59	11,49	0,13
	0,14 M	Heizen	14,95	0,81	15,09	0,05
		Kühlen	9,58	0,79	9,01	0,17
	PBS	Heizen	11,69	0,51	11,64	0,04
		Kühlen	11,63	1,18	11,17	0,04
μG-DNA	0 M	Heizen	15,09	0,22	15,29	0,09
		Kühlen	14,23	0,75	14,41	0,11
	0,1 M	Heizen	12,10	0,78	11,79	0,11
		Kühlen	11,97	0,61	11,87	0,10
	0,14 M	Heizen	12,10	0,78	11,79	0,11
		Kühlen	11,97	0,61	11,87	0,10
	PBS	Heizen	11,45	1,45	11,37	0,11
		Kühlen	11,47	1,50	11,16	0,10
red μG	0M	Heizen	14,82	0,90	14,93	0,13
		Kühlen	14,45	0,79	14,15	0,13
Mal-μG	0M	Heizen	15,10	0,58	15,16	0,10
		Kühlen	15,01	0,68	15,53	0,10

Tabelle 25: Vergleich der thermodynamischen Daten bezogen auf kooperative Einheiten, ermittelt über einen nicht linearen Fit mit Literaturdaten.

			ΔH / kJ/mol	Fehler	ΔS / J/mol·K	Fehler	ΔG (298K) / kJ/mol
μG	0 M	Heizen	16,2	0,03	51,4	0,08	0,862
		Kühlen	14,6	0,04	46,3	0,12	0,775
	0,1 M	Heizen	12,8	0,07	40,8	0,20	0,590
		Kühlen	12,8	0,07	40,9	0,22	0,575
μG-DNA	0 M	Heizen	15,3	0,03	48,7	0,09	0,765
		Kühlen	14,7	0,04	46,8	0,12	0,721
	0,1 M	Heizen	13,0	0,06	41,4	0,17	0,590
		Kühlen	13,4	0,06	42,9	0,17	0,594
pNipam¹⁴⁶	0 M	-	13,1	0,02	42,9	0,5	0,331
pNipam¹⁴⁷	0 M	-	14,8	1,0	48,4	4,2	0,331
pNipam¹⁴⁰	0,1 M	-	5,3	0,40	17,6	1,3	0,073

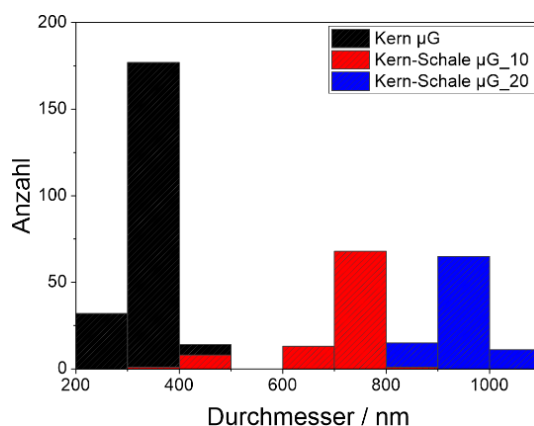


Abb. 69: Histogramm der Durchmesser der Kern-µG, Kern-Schale-µG_10 und Kern-Schale-µG_20 ermittelt anhand der TEM-Aufnahmen (Abb. 30).

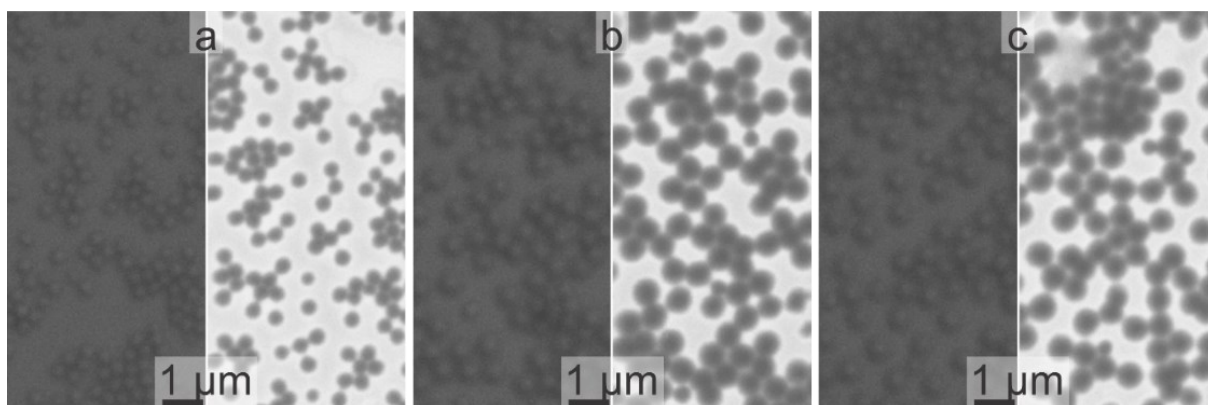


Abb. 70: REM-Aufnahmen mittels SE-Detektor (links) und InLens-Detektor (rechts) der Kern-µG (a), der Kern-Schale-µG mit 10facher Reaktanden Zugabe (b) und der Kern-Schale-µG mit 20facher Reaktanden Zugabe (c).

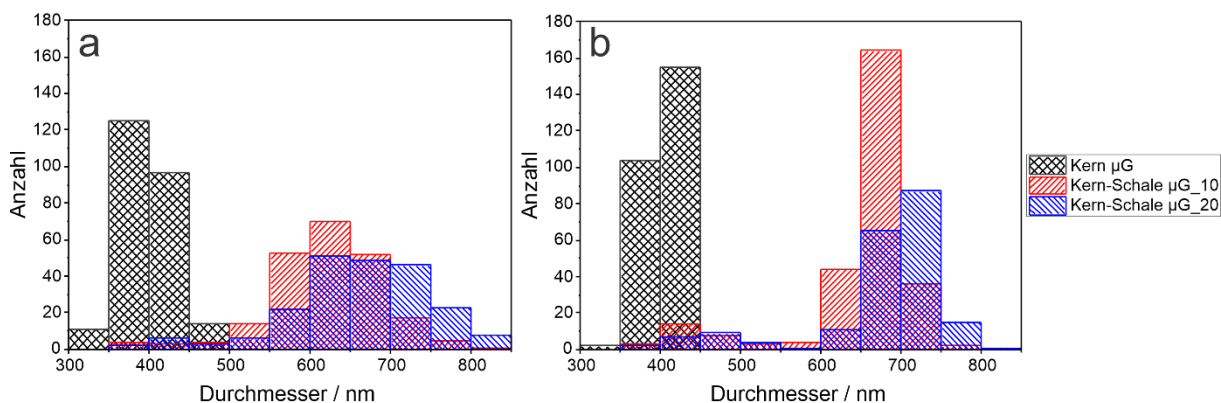


Abb. 71: Histogramm der Durchmesser der Kern-µG, Kern-Schale-µG_10 und Kern-Schale-µG_20 ermittelt anhand der REM-Aufnahmen.

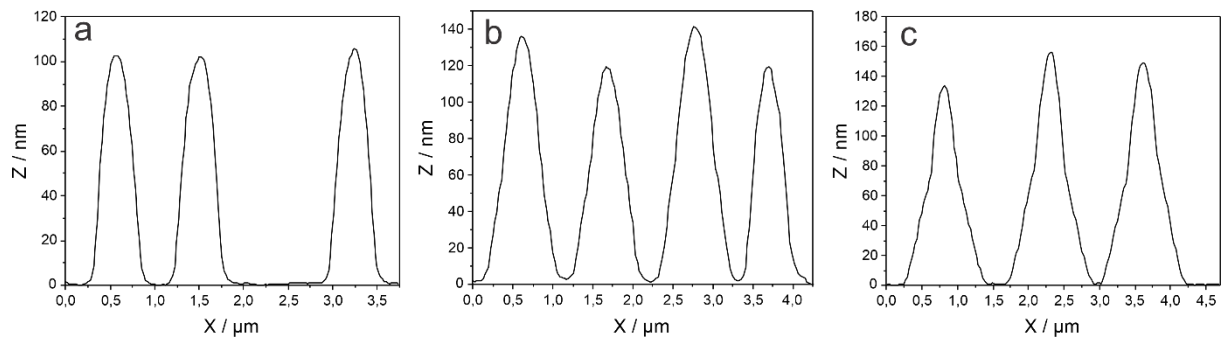


Abb. 72: Höhenprofile der Kern-μG (a), Kern-Schale-μG_10 (b) und Kern-Schale-μG_20 (c).

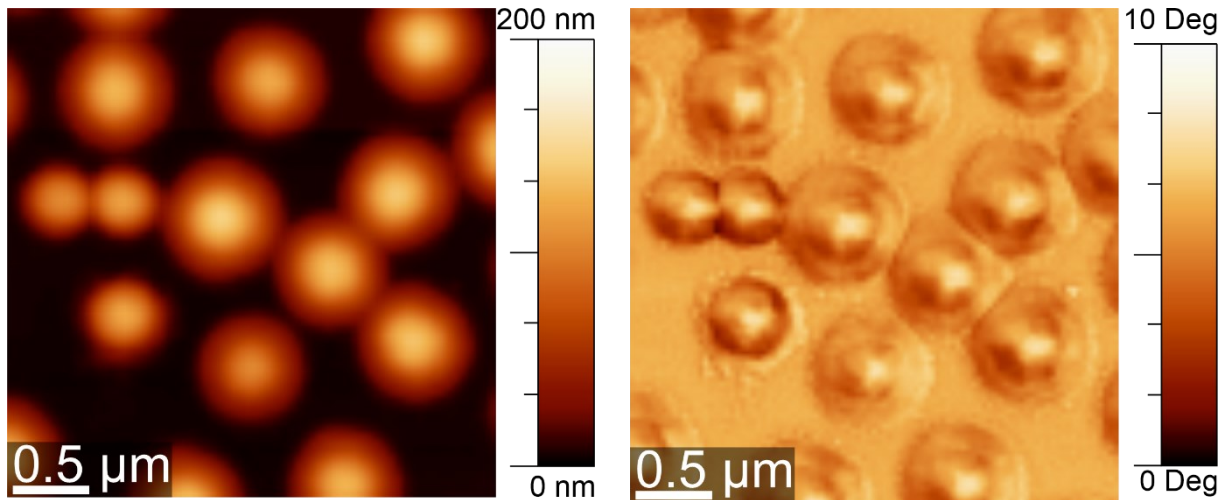


Abb. 73: Vergrößerter Ausschnitt der AFM-Aufnahme der Kern-Schale-μG_10 mit kleineren und größeren Strukturen im Höhen- (links) und Phasenbild (rechts).

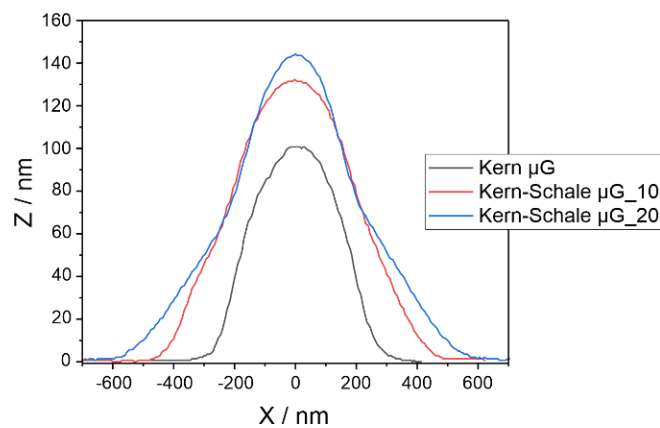


Abb. 74: Höhenprofile der Kern-μG, Kern-Schale-μG_10 und Kern-Schale-μG_20 im direkten Vergleich.

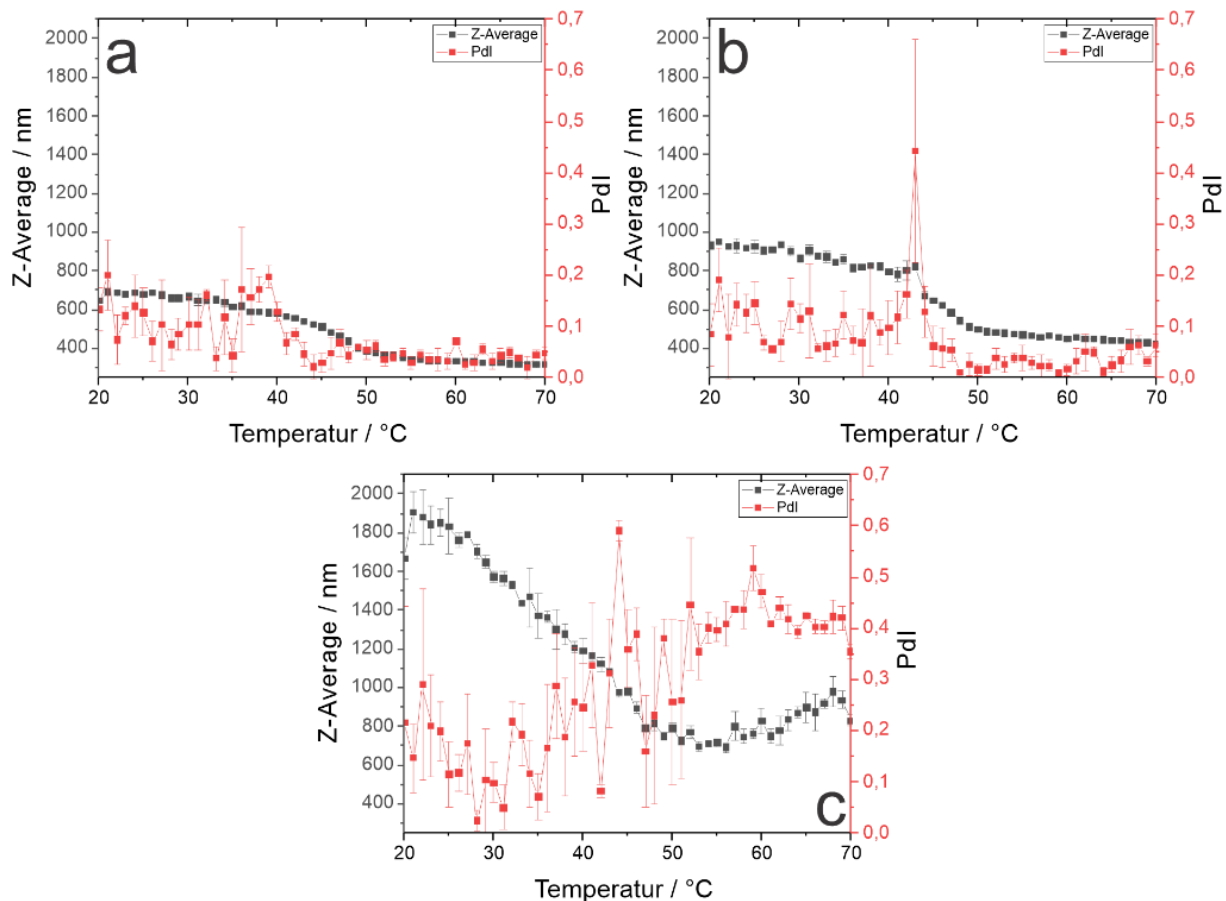


Abb. 75: Berechneter hydrodynamischer Durchmesser und Polydispersitätsindizes der Kern- μG (a), der Kern-Schale- μG mit 10facher Reaktanden Zugabe (b) und der Kern-Schale- μG mit 20facher Reaktanden Zugabe (c) in Abhängigkeit der Temperatur.

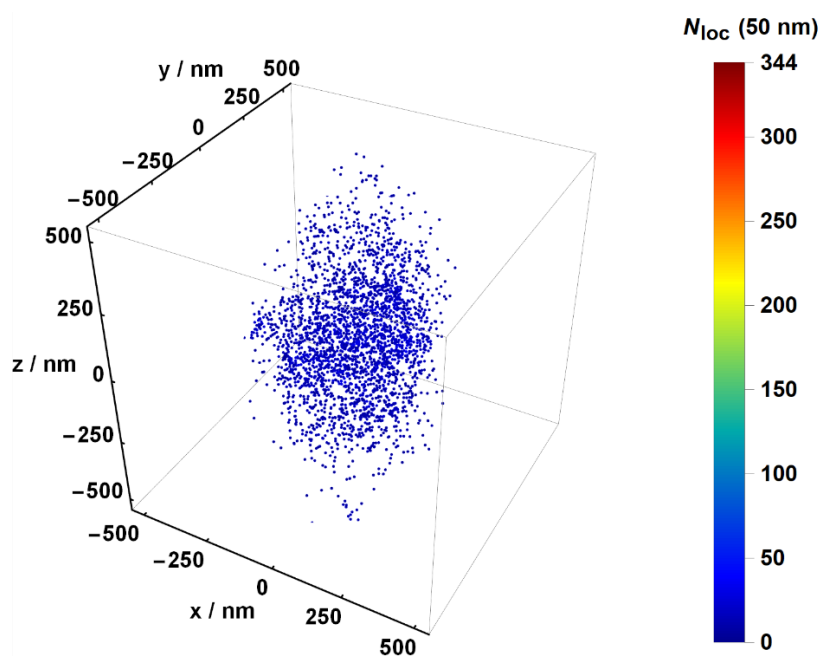


Abb. 76: 3D-Darstellung der Farbstoffverteilung erhalten über DNA-PAINT Messungen der Kern-Schale- μG_{10} mit über DNA-Hybridisierung gebundenem Alexa647-Farbstoff. Abbildung wurde von Pia Lenßen (Arbeitskreis Wöll, Institut für Physikalische Chemie, RWTH Aachen University) erstellt.

Tabelle 26: Vergleich der mittels TEM, REM, AFM, DLS und SRFM ermittelten Größen der Kern- μ G, Kern-Schale- μ G_10 und Kern-Schale- μ G_20.

	Kern- μ G	Kern-Schale- μ G_10	Kern-Schale- μ G_20
d (TEM) / nm	350 ± 40	720 ± 20	950 ± 50
d (REM) / nm SE-Detektor	400 ± 30	620 ± 70	670 ± 90
d (REM) / nm InLens-Detektor	400 ± 20	650 ± 70	680 ± 90
Breite (AFM) / nm	915 ± 5	1065 ± 5	1290 ± 60
Höhe (AFM) / nm	105 ± 5	130 ± 10	145 ± 10
d (DLS) / nm gequollen	700 ± 10	970 ± 30	1190 ± 120
d (DLS) / nm kollabiert	330 ± 10	440 ± 10	480 ± 60
d (dSTORM) / nm	600	700	900
d (DNA-PAINT) / nm	700	700	900

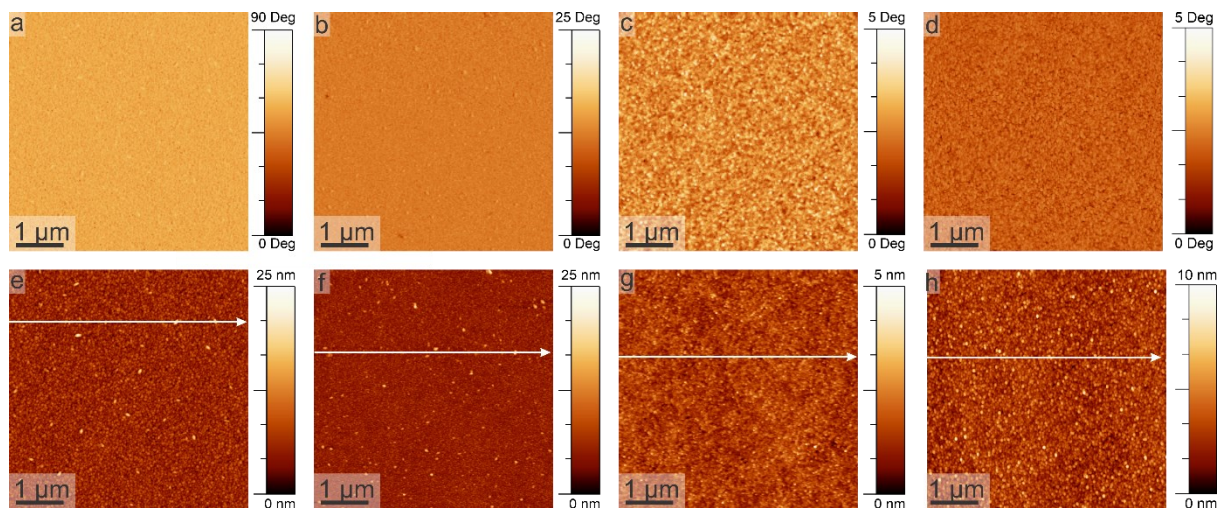


Abb. 77: AFM-Phasenbilder (a-d) und -Höhenbilder mit Pfad zur Bestimmung der Höhenprofile (e-h) der ITO-Substrate von Diamond Coatings (a, e), PGO (b, f) und aus dem Arbeitskreis bei denen für 270 s mit ITO (c, g) und bei denen für 7 s mit Titan gefolgt von 30 min mit ITO (d, h) beschichtet wurde.

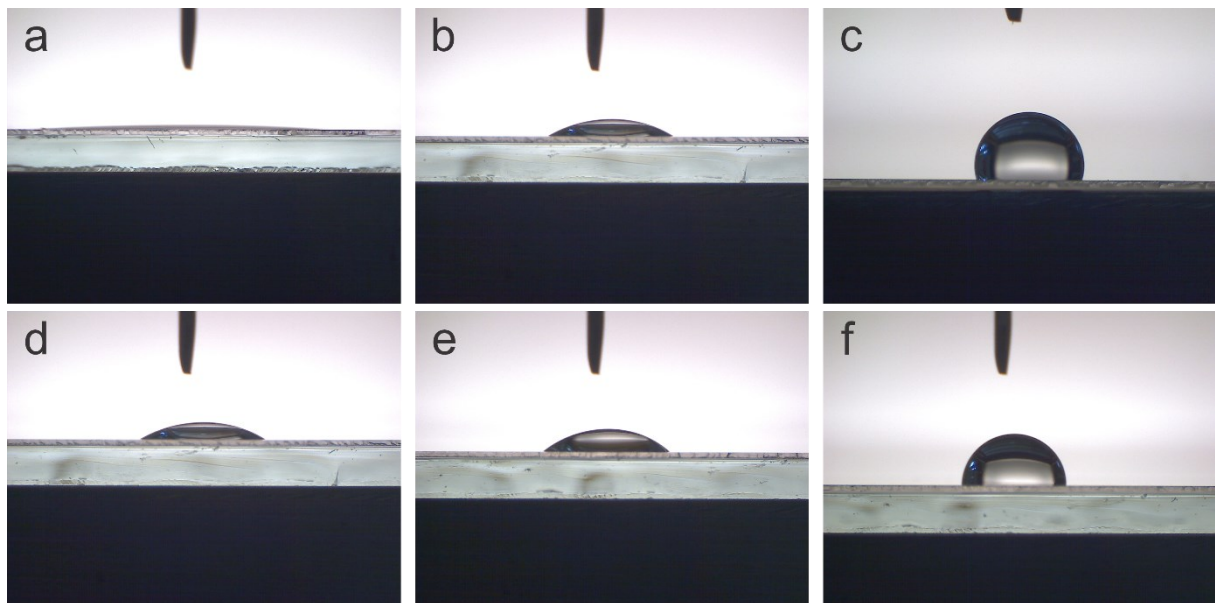


Abb. 78: Wassertropfen auf der Oberfläche des gereinigten Glassubstrates (a), der ITO-Oberfläche (b), der silanisierten Oberfläche (c) und nach der Sulfonierung für 4 h (d, e) und für 50 h (f). Die Temperatur bei der Sulfonierung wurde zwischen 10 °C (e) und 30 °C (d, f) variiert.

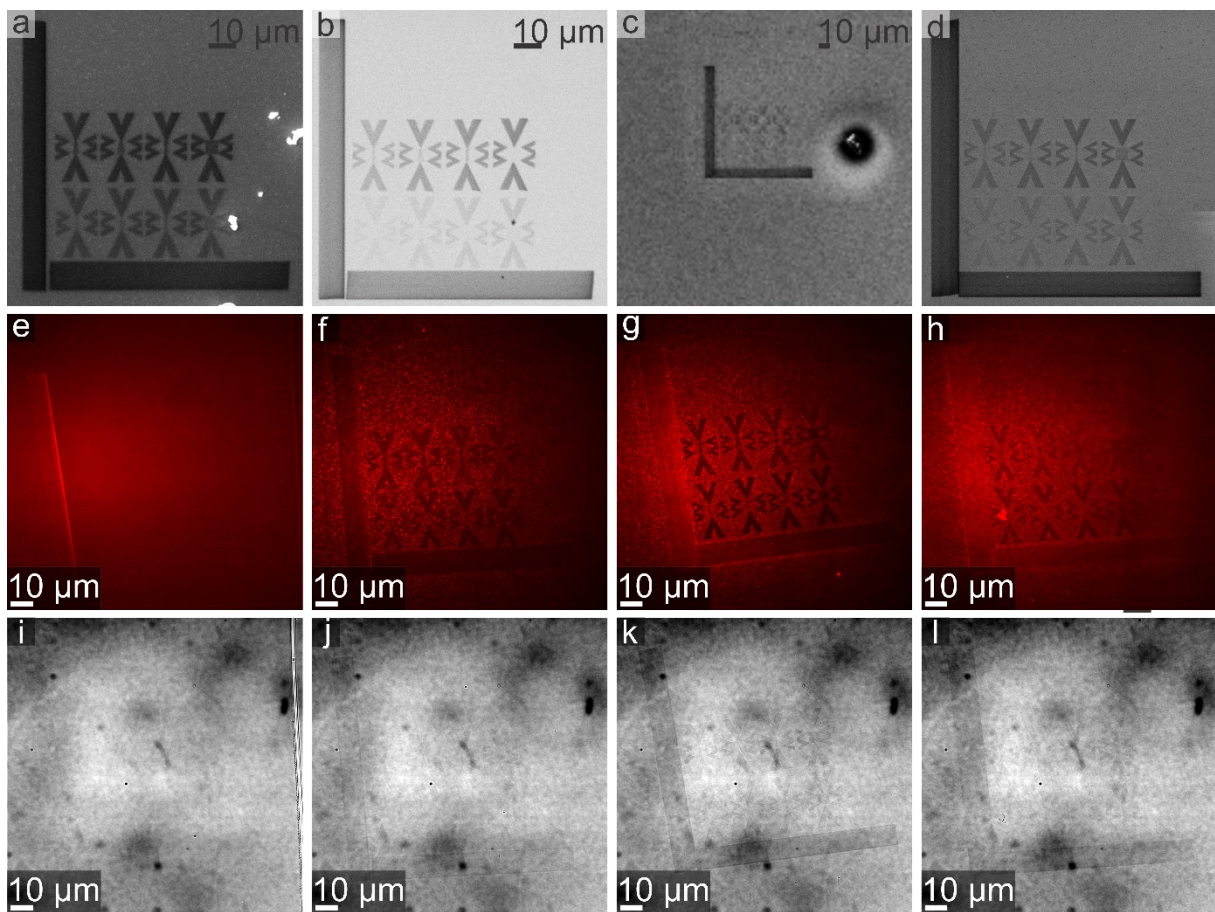


Abb. 79: Lithografiemuster eines Substrates (teilweise gezeigt in Abb. 51 a-c), untersucht mittels REM (a-d), Fluoreszenzmikroskopie (e-h) und Durchlichtmikroskopie (i-l). Die Strukturierung des Substrates erfolgte nach Abb. 49.

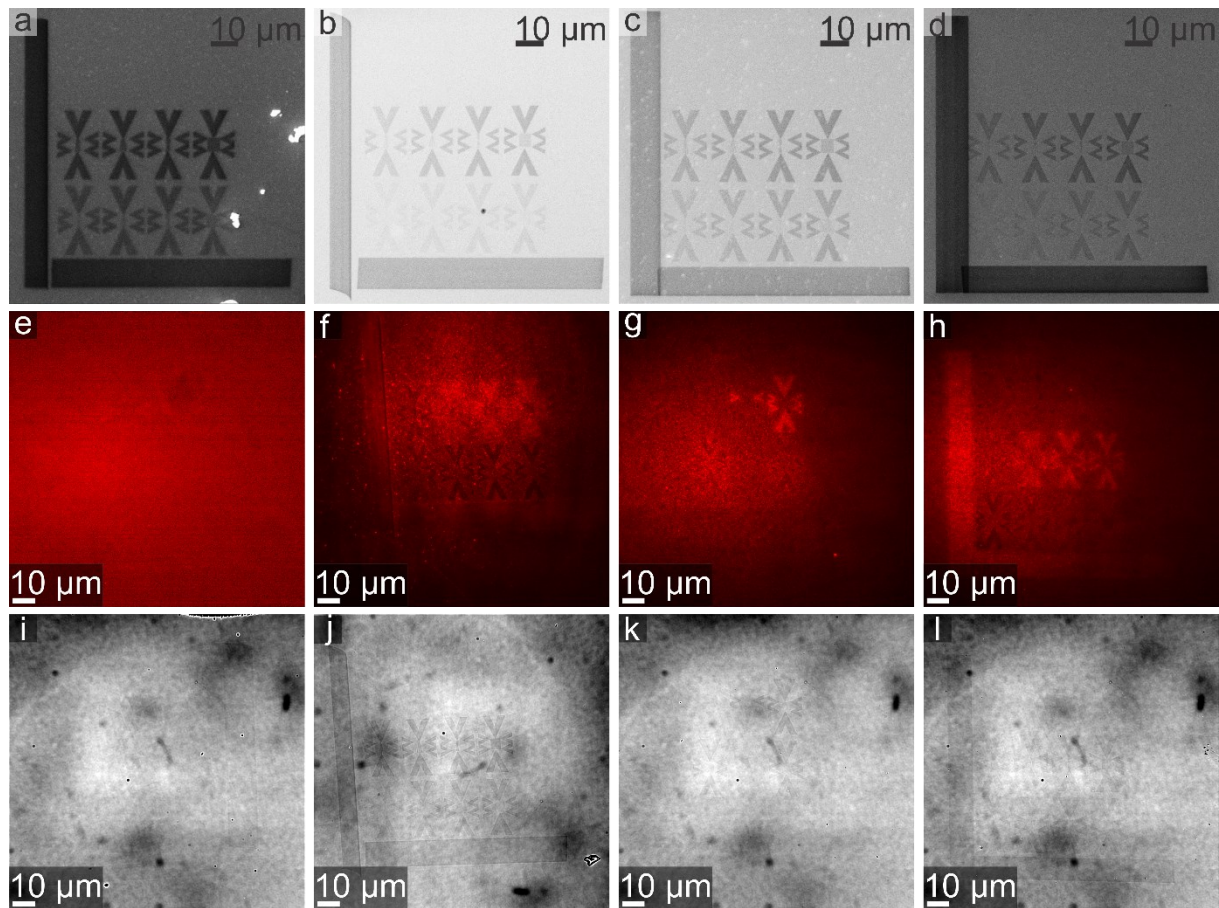


Abb. 80: Lithografiemuster eines Substrates (teilweise gezeigt in Abb. 51 d-f), untersucht mittels REM (a-d), Fluoreszenzmikroskopie (e-h) und Durchlichtmikroskopie (i-l). Die Strukturierung des Substrates erfolgte nach Abb. 49.

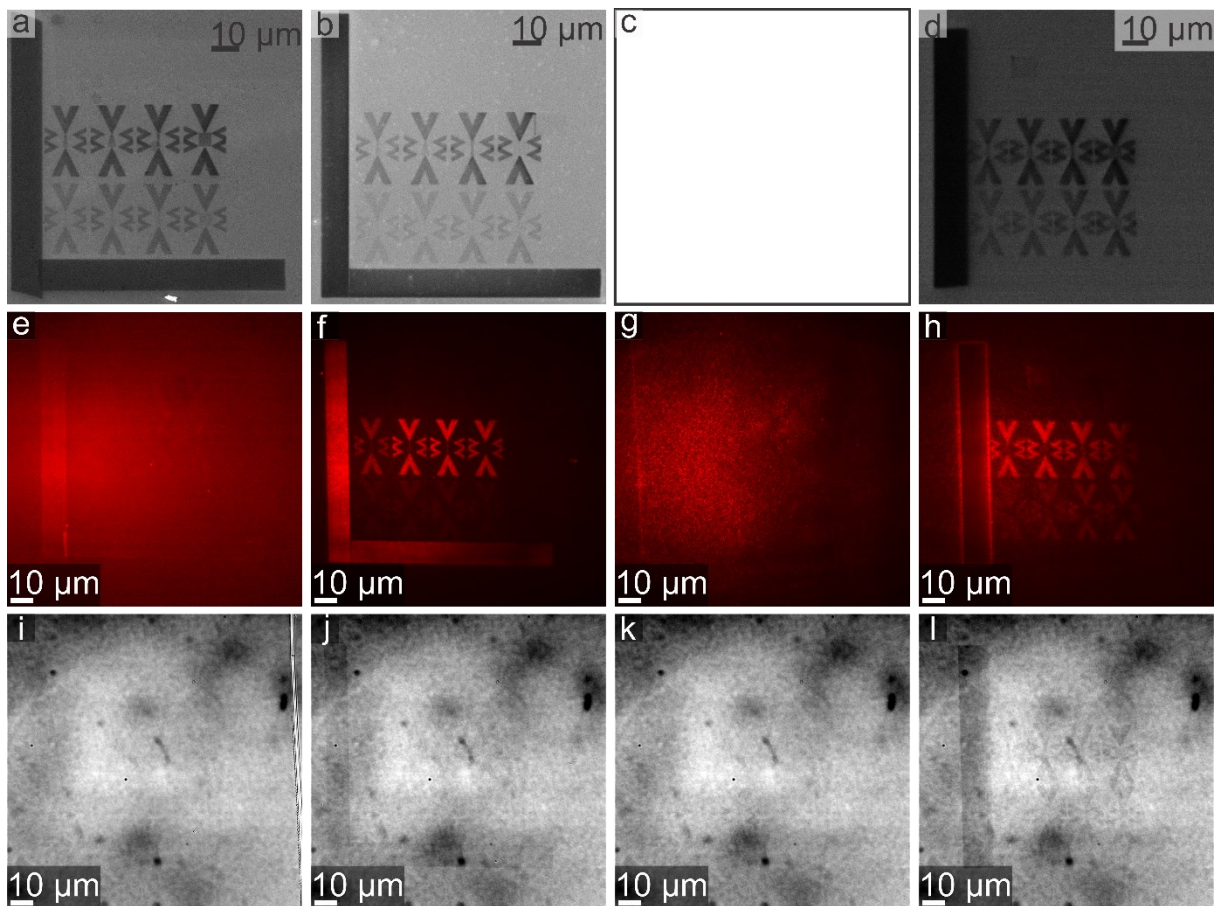


Abb. 81: Lithografiemuster eines Substrates (teilweise gezeigt in Abb. 51 g-i), untersucht mittels REM (a-d), Fluoreszenzmikroskopie (e-h) und Durchlichtmikroskopie (i-l). Die Strukturierung des Substrates erfolgte nach Abb. 49.

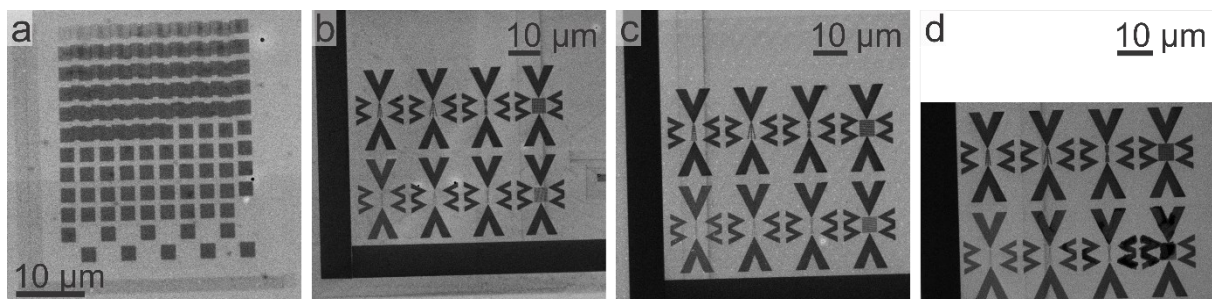


Abb. 82: REM-Aufnahmen der Markierung des Lithografiemusters mit AuNP. Die Muster wurden nach Abb. 52 geschrieben. (a, e) Muster oberhalb des Kratzers, (b, f) Muster rechts vom Kratzer, (c, g) Muster unterhalb des Kratzers, (d, h) Muster links vom Kratzer.

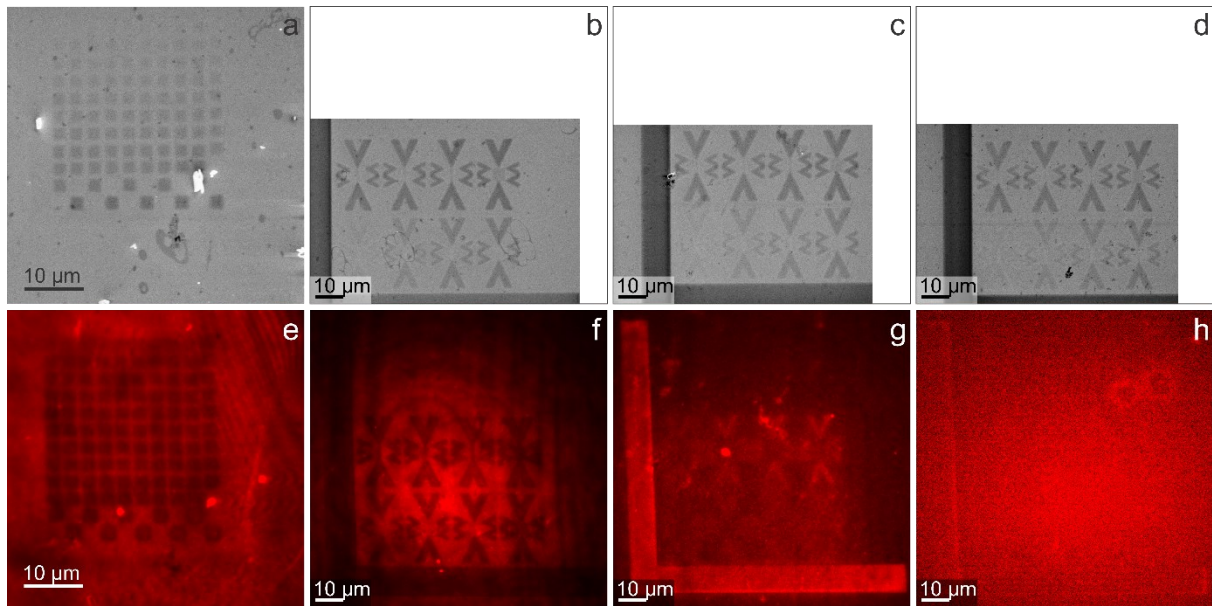


Abb. 83: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 4 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster).

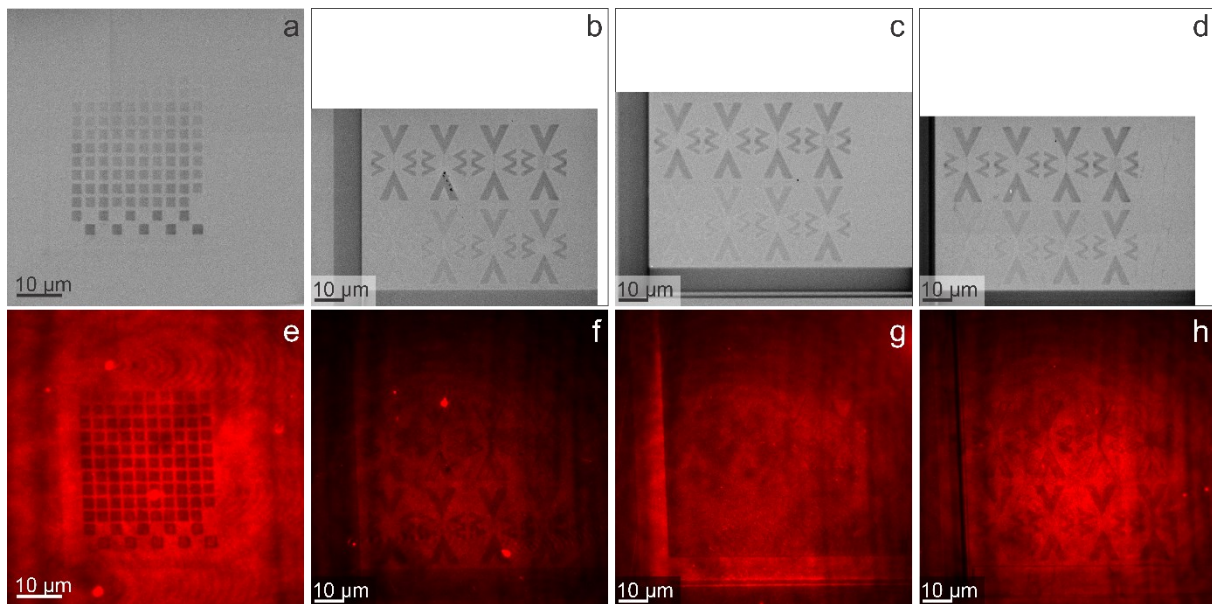


Abb. 84: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 4 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster).

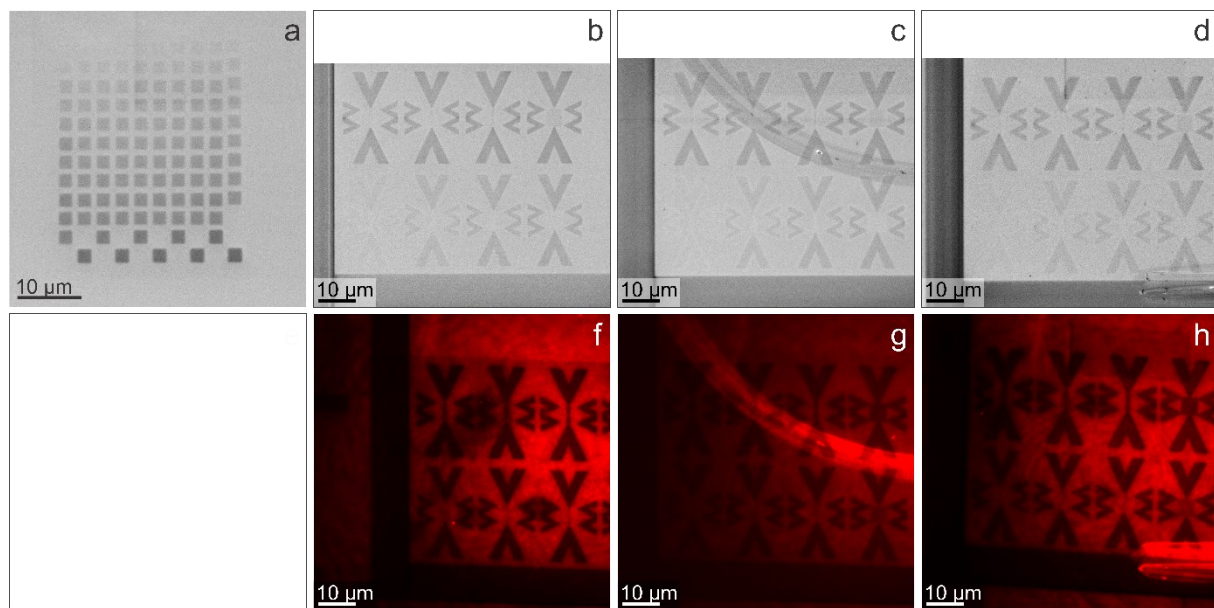


Abb. 85: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 4 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster).

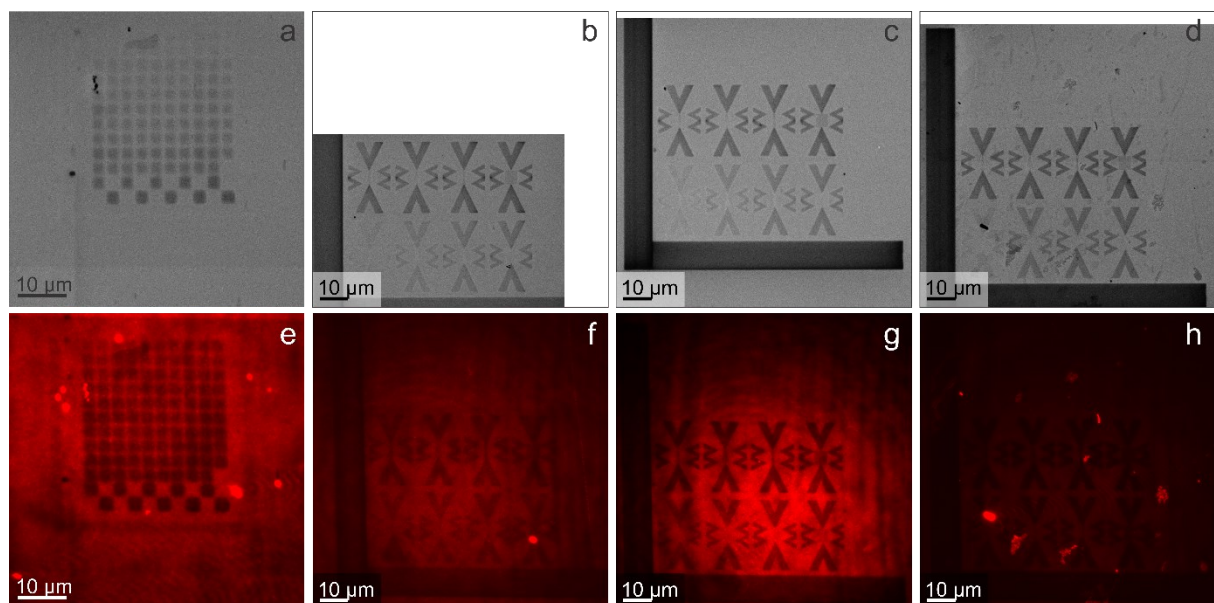


Abb. 86: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 4 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgte eine Funktionalisierung mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster).

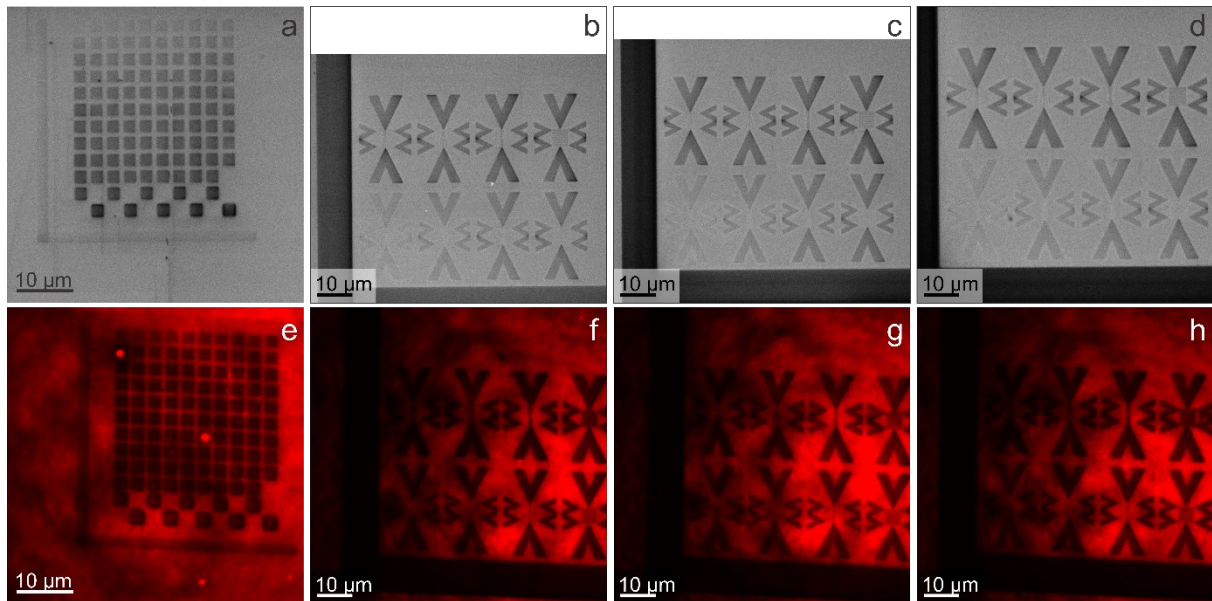


Abb. 87: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 4h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster). Vor der Lithografie wurde das Substrat für einen Tag im Vakuum gelagert.

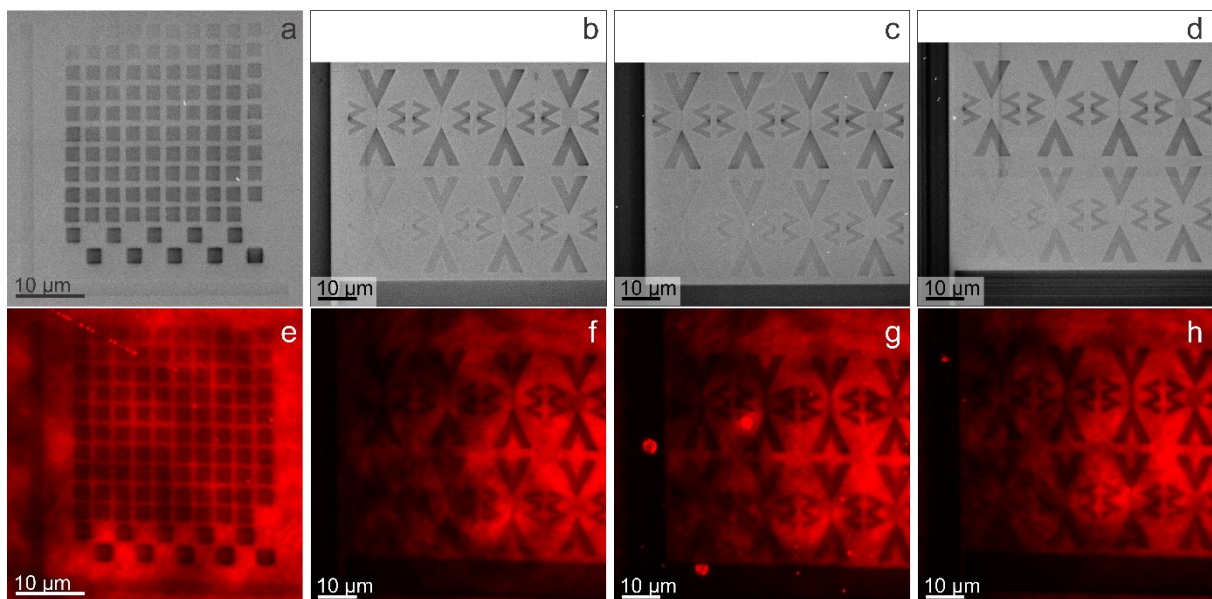


Abb. 88: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 4 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgte eine Funktionalisierung mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster). Vor der Lithografie wurde das Substrat für einen Tag im Vakuum gelagert.

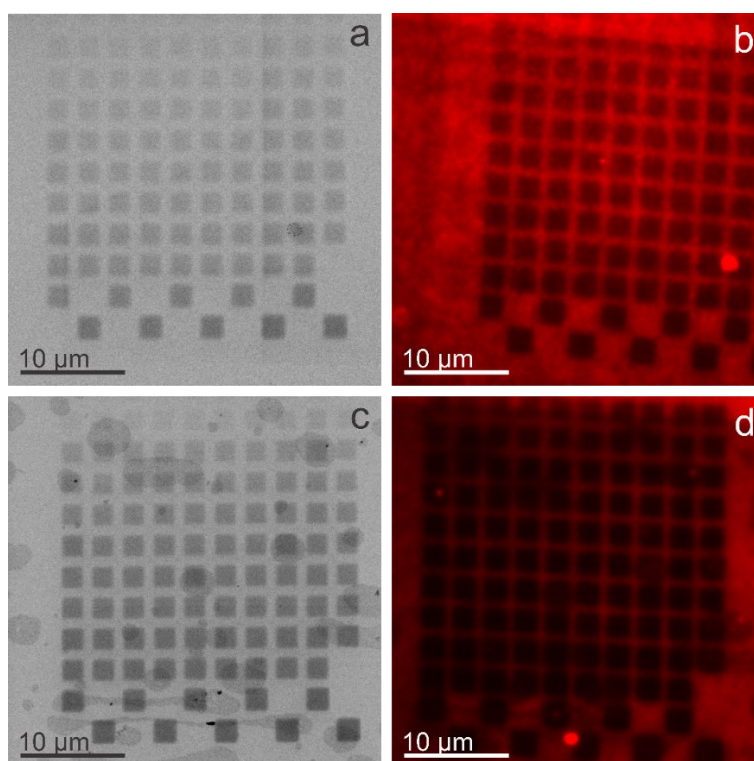


Abb. 89: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf zwei Substraten. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 4 h bei 10 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster; d) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster; b,d). Vor der Lithografie wurde das Substrat für einen Tag im Vakuum gelagert.

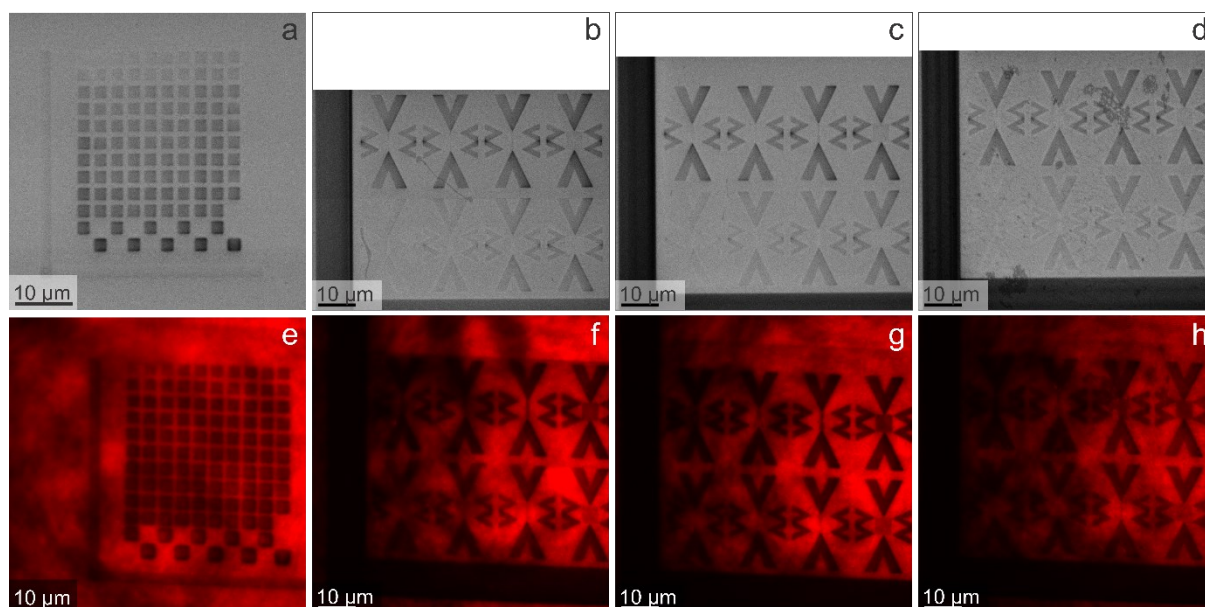


Abb. 90: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 4 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster). Vor der Lithografie wurde das Substrat für einen Tag im Vakuum gelagert.

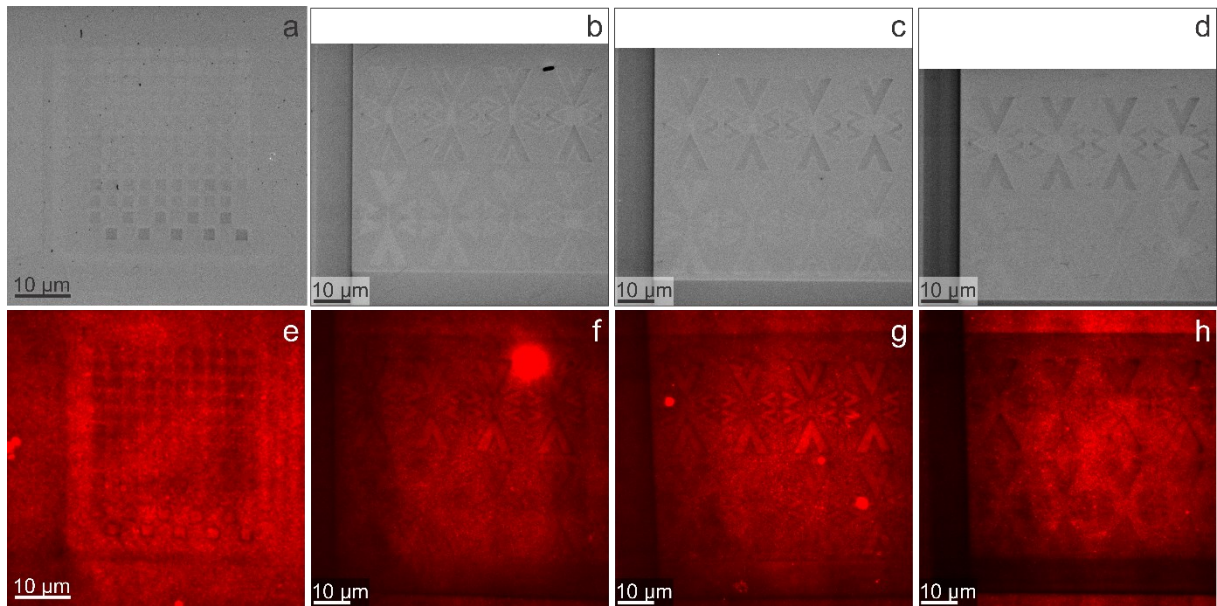


Abb. 91: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 1 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster). Vor der Lithografie wurde das Substrat für einen Tag im Vakuum gelagert.

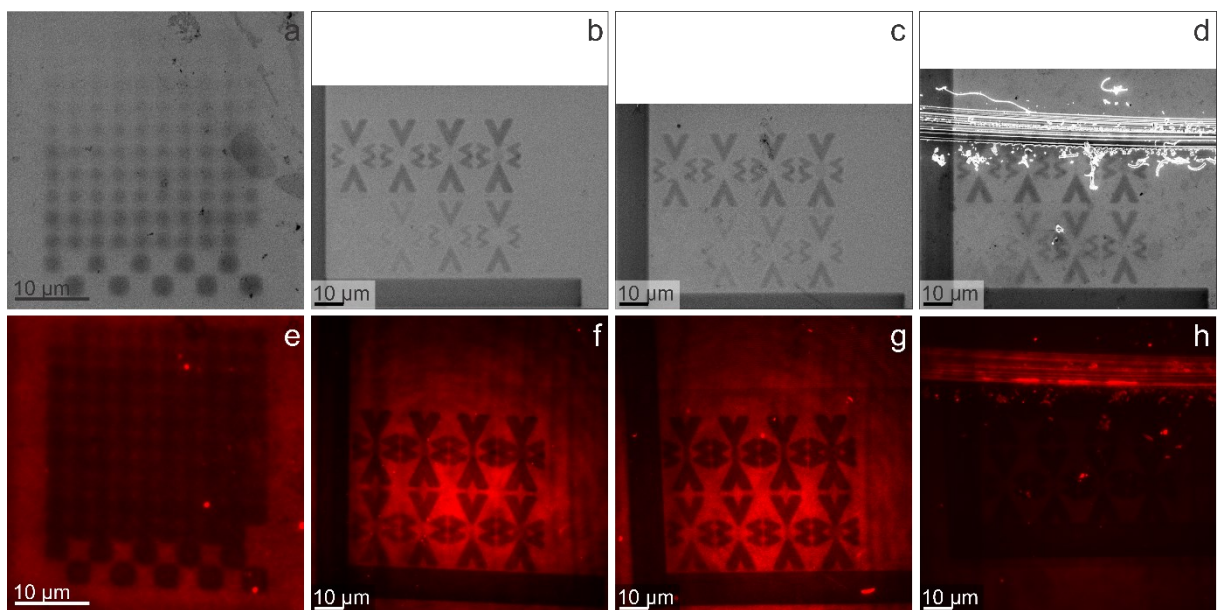


Abb. 92: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 1 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster).

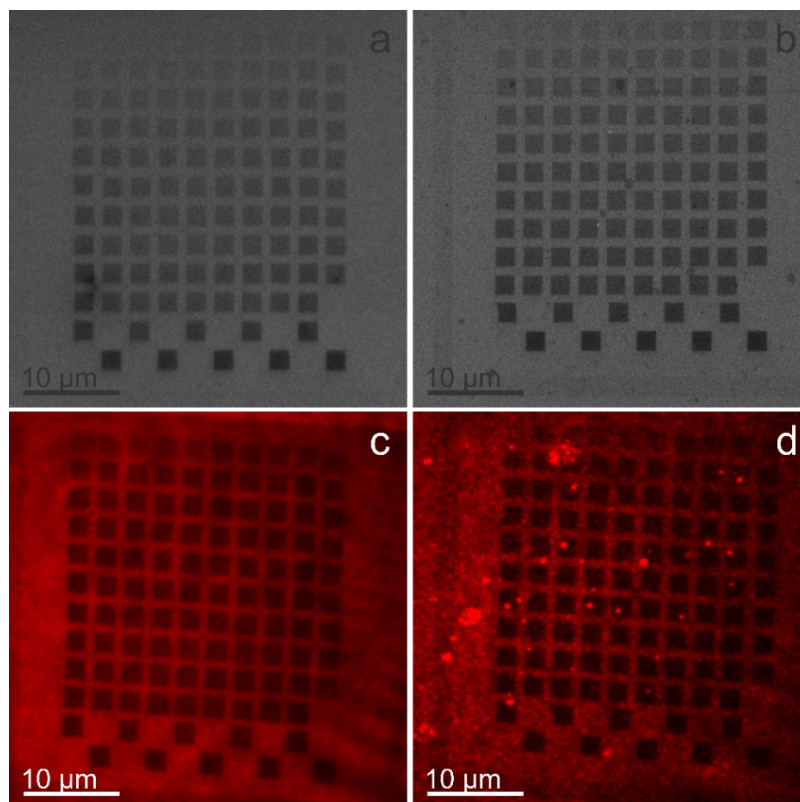


Abb. 93: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 12 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster).

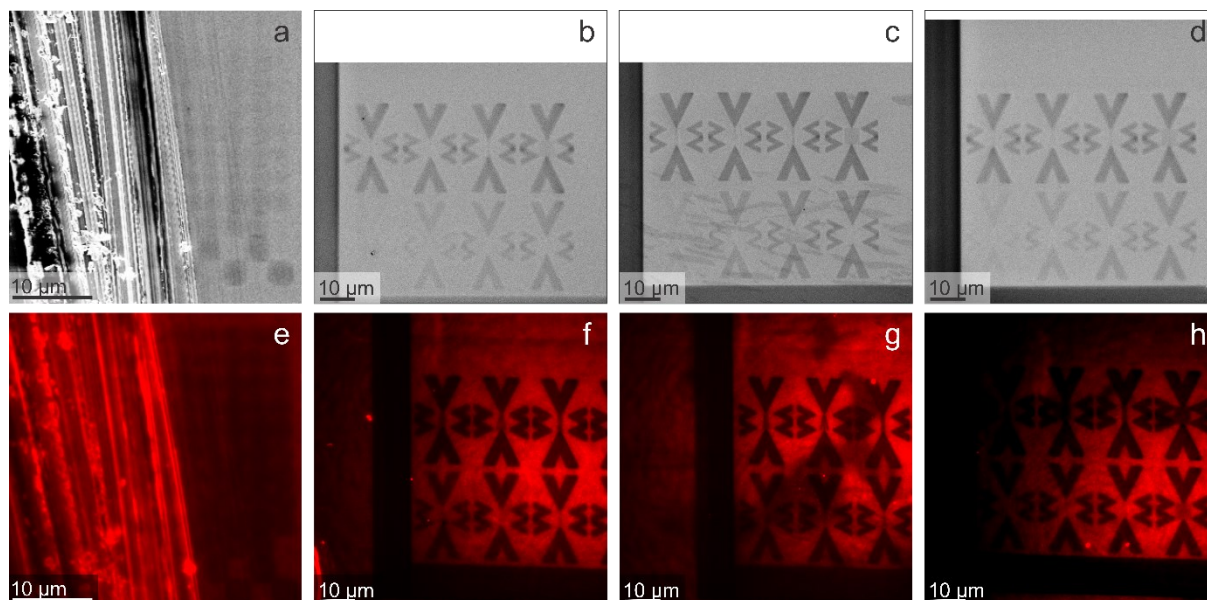


Abb. 94: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 5 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster).

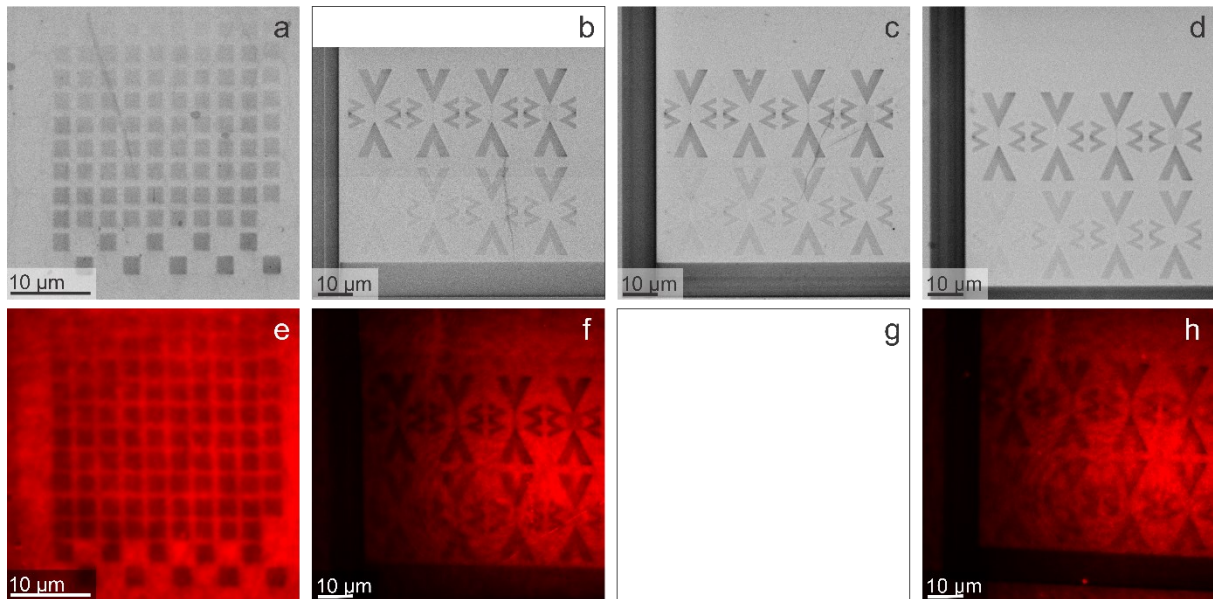


Abb. 95: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 5 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgte eine Funktionalisierung mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster).

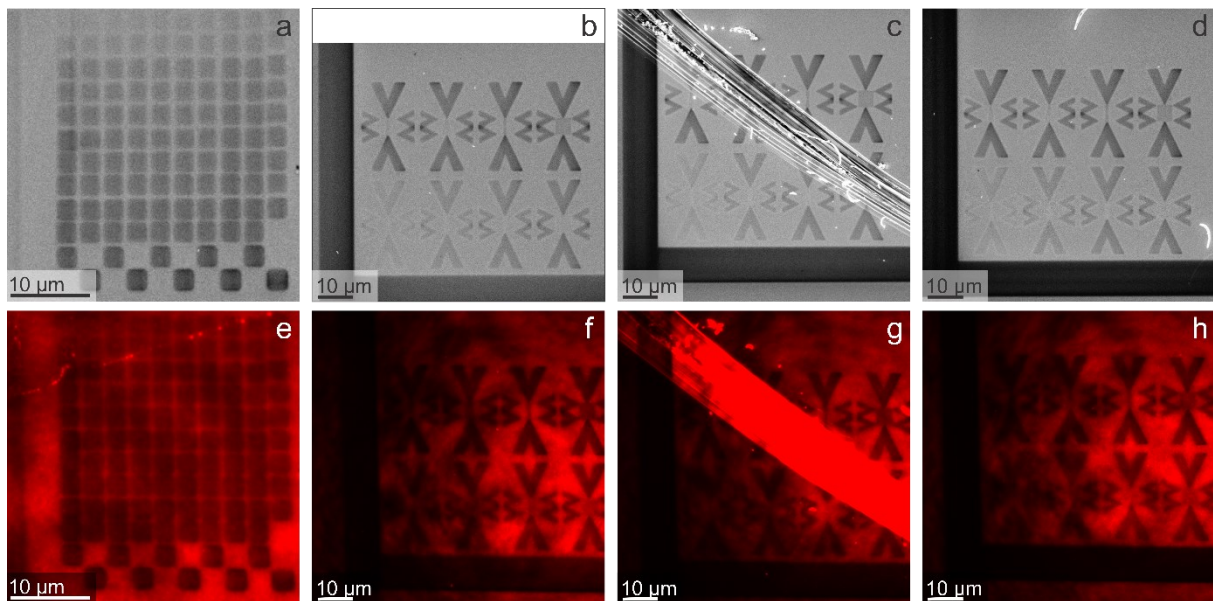


Abb. 96: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 5 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgte eine Funktionalisierung mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster). Vor der Lithografie wurde das Substrat für einen Tag im Vakuum gelagert.

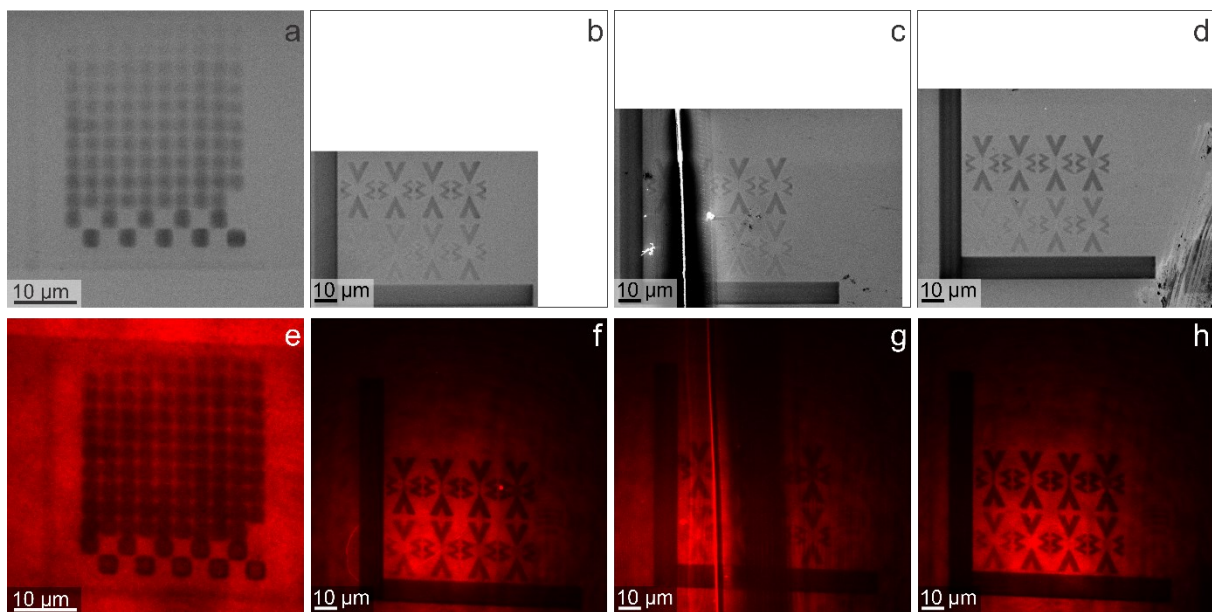


Abb. 97: REM (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der erfolgreichen Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 4 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster). Während der Beschichtung mit ITO war das Substrat vorne rechts platziert. Bei dem Dosistestmuster wurde die doppelte Dosis verwendet.

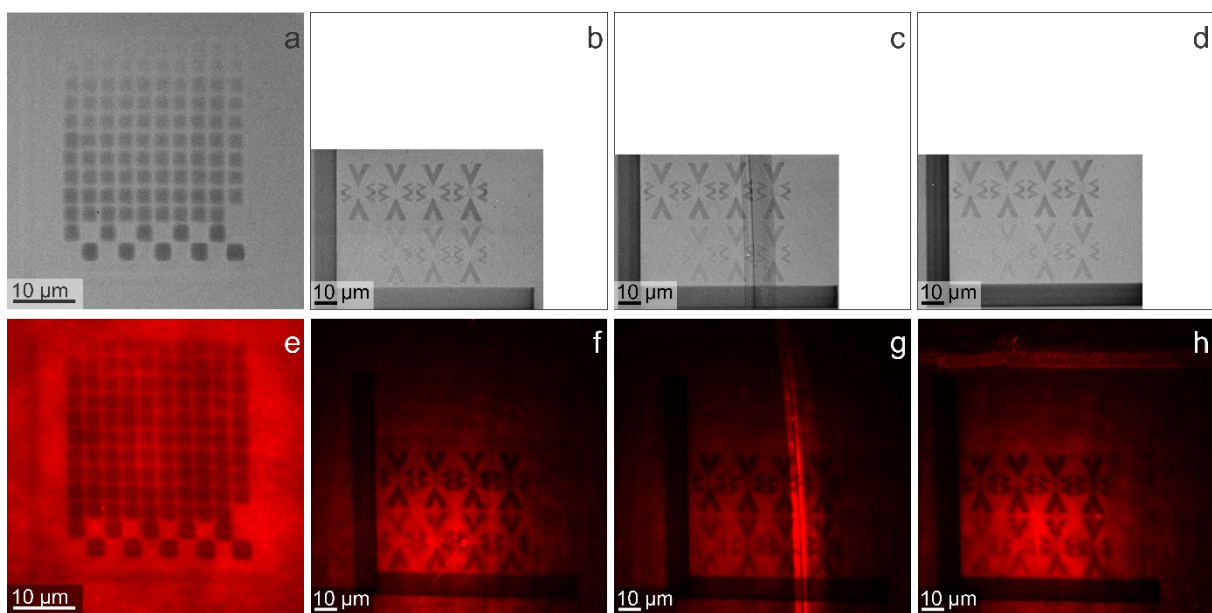


Abb. 98: REM (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der erfolgreichen Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 4 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster). Während der Beschichtung mit ITO war das Substrat vorne links platziert. Bei dem Dosistestmuster wurde die doppelte Dosis verwendet.

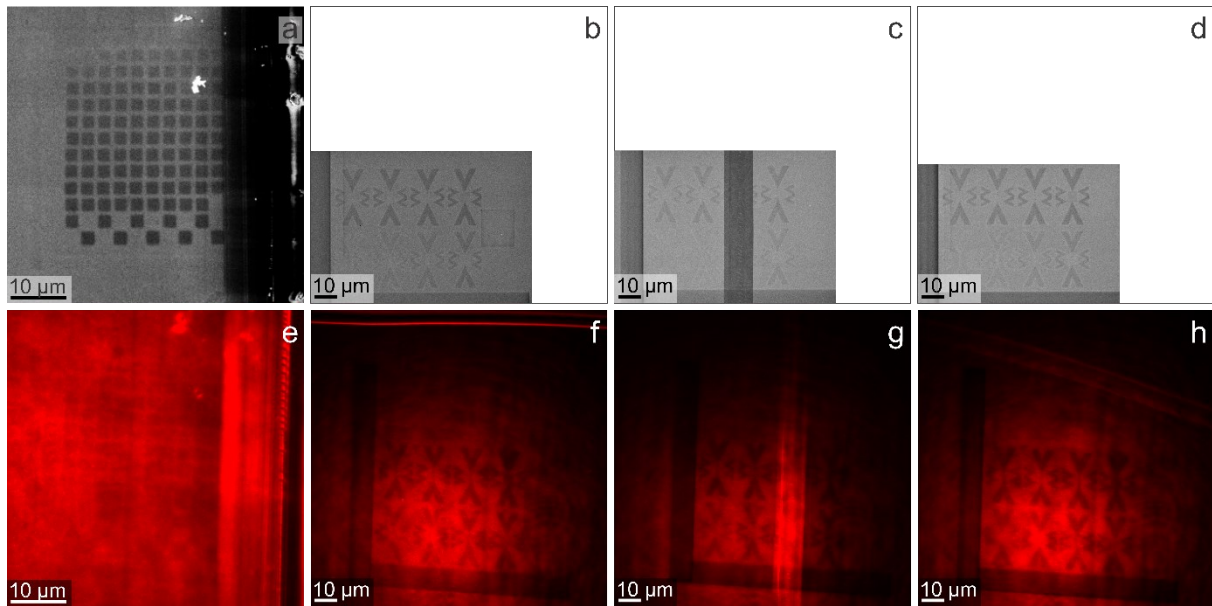


Abb. 99: REM (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der erfolgreichen Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 4 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster). Während der Beschichtung mit ITO war das Substrat hinten links platziert. Bei dem Dosistestmuster wurde die fünffache Dosis verwendet.

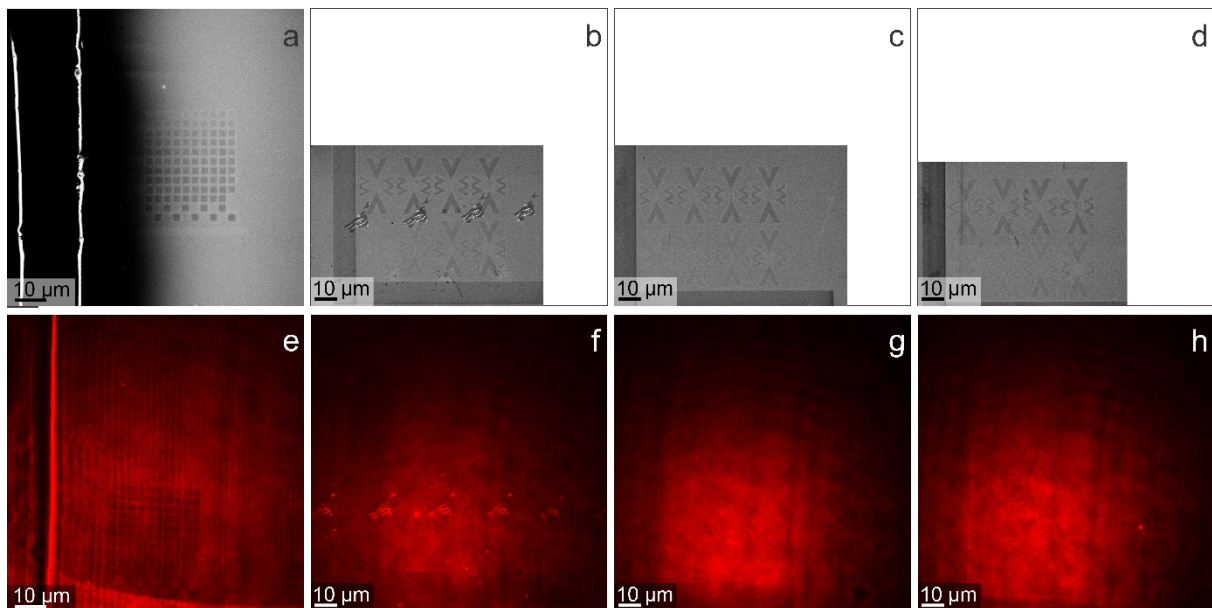


Abb. 100: REM (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der erfolgreichen Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 5 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster). Während der Beschichtung mit ITO war das Substrat vorne links platziert. Bei dem Dosistestmuster wurde die fünffache Dosis verwendet.

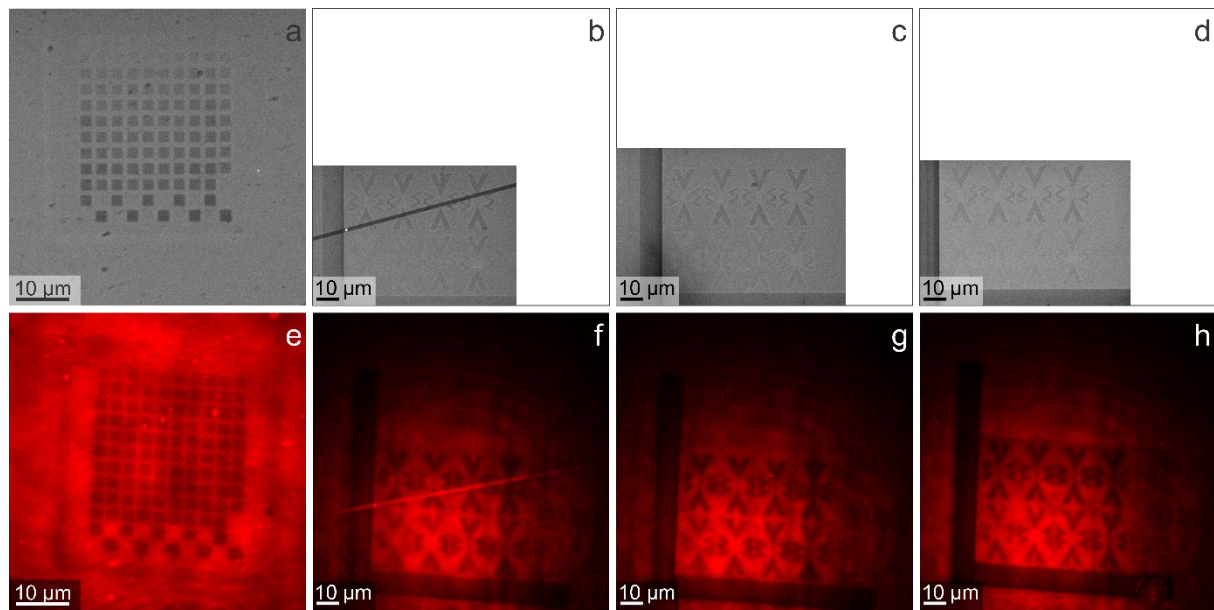


Abb. 101: REM (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der erfolgreichen Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 5 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster). Während der Beschichtung mit ITO war das Substrat vorne rechts platziert. Bei dem Dosistestmuster wurde die doppelte Dosis verwendet.

7 Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
μG	Mikrogel
3D	Dreidimensional
A	Adenin
AAS	Atomabsorptionsspektrometrie
AFM	Rasterkraftmikroskop
AuNP	Goldnanopartikel
BAC	N,N'-bis(acryloyl)cystamin
c	Konzentration
C	Cytosin
cEBL	Chemische Elektronenstrahlolithografie
CTAB	Cetyltrimethylammoniumbromid
d	Durchmesser
d_h	Hydrodynamischer Durchmesser
DLS	Dynamische Lichtstreuung
DNA	Desoxyribonucleinsäure
DNA-μG	DNA funktionalisiertes Mikrogel
DOX	Doxorubicin
dsDNA	Desoxyribonucleinsäure Doppelstrang
dSTORM	Direkte stochastische optische Rekonstruktionsmikroskopie
DTT	Dithiothreitol
EBL	Elektronenstrahlolithographie
EM	Elektronenmikroskopie
EPR	erhöhte Permeabilität und Retention
FM	Fluoreszenzmikroskopie
G	Guanin
ITO	Indium Zinn Oxid
LCST	Untere kritische Lösungstemperatur
Mal	Maleimid
Mal-μG	Maleiminid funktionalisiertes Mikrogel
MBA	N,N'-Methylenbisacrylamid
Nipam	N-isopropylacrylamid
Nipmam	N-isopropylmethacrylamid
NMR	Kernresonanz Spektroskopie
PAINT	Punkt Akkumulierung in nanoskaliger Tomographie
PBS	Phosphat gepufferte Salzlösung
PdI	Polydispersitätsindex
PEG	Polyethylenglykol
pNipam	Poly-N-isopropylacrylamid
pNipmam	Poly-N-isopropylmethacrylamid
red μG	Reduziertes Mikrogel
REM	Rasterelektronenmikroskop
RNA	Ribonukleinsäure
rpm	Umdrehungen pro Minute
RT	Raumtemperatur
SAM	Selbstassemblierte Monolage

SE	Sekundärelektronen
SFB	Sonderforschungsbereich
siRNA	Kleine interferierende Ribonukleinsäure
SMLM	Einzel-Molekül-Lokalisierungs-Mikroskopie
SRFM	Hochaufgelöste Fluoreszenzmikroskopie
ssDNA	Desoxyribonucleinsäure Einzelstrang
STORM	Stochastische optische Rekonstruktionsmikroskopie
T	Temperatur
T	Thymin
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
TIRF	Interne Totalreflexionsfluoreszenz
T_m	Schmelztemperatur
T_{VPT}	Volumenphasenübergangstemperatur
UV	Ultraviolett
V50	2,2'-Azobis(2-methylpropionamidin)dihydrochlorid
VIm	Vinylimidazol
Vis	Sichtbar
XRF	Röntgenfluoreszenz
Z-Average	Berechneter hydrodynamischer Durchmesser
ΔG^0	Änderung der Gibbs-Energie
ΔH^0	Änderung der Enthalpie
ΔS^0	Änderung der Entropie
λ_{em}	Maximale Wellenlänge der Emission
λ_{ex}	Maximale Wellenlänge der Extinktion

8 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Schematische Darstellung des Kollapses von μG an der T_{VPT} mit hydrodynamischem Durchmesser in Abhängigkeit der Temperatur.	5
Abb. 2: Schematische Darstellung der Interpenetration (a) und Deformierung (b) dicht gepackter μG	6
Abb. 3: Schematische Darstellung der Deformation von μG an Oberflächen.	6
Abb. 4: Reaktionsgleichung der Synthese der pNipmam-BAC μG	8
Abb. 5: Schematische Darstellung der Synthese der Schale von Kern-Schale- μG	9
Abb. 6: Schematische Struktur von DNA-Doppelsträngen mit Kennzeichnung der Wasserstoffbrücken-bindungen.	11
Abb. 7: Schematische Darstellung der Farbstoffschaltung und -anbindung bei dSTORM- (a) und DNA-PAINT- (b) Messungen.	16
Abb. 8: Übersichtsschema der in dieser Arbeit untersuchten Themen wie der Untersuchung der Beeinflussung der T_{VPT} , der Synthese von Kern-Schale- μG mit regioselektiven Funktionalitäten und der gezielten Immobilisierung von μG an Oberflächen.	26
Abb. 9: Schematische Darstellung des Kollapses von μG in Abhängigkeit der Salzkonzentration und der Temperatur. Die graue Färbung symbolisiert unterschiedliche Funktionalisierung der μG	26
Abb. 10: Schema zur Modifizierung der untersuchten μG , red μG , DNA- μG und Mal- μG	27
Abb. 11: Überlagerte Durchlicht- (grau) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (rot) der DNA- μG nach Hybridisierung mit Alexa647 modifizierter ssDNA zusammen mit schematischer Darstellung der Struktur. Die Mikroskopie wurde von Pia Lenßen (Arbeitskreis Wöll, Institut für Physikalische Chemie, RWTH Aachen University) durchgeführt.	28
Abb. 12: Intensitätsgewichteter hydrodynamischer Durchmesser der μG , DNA- μG , Mal- μG und red μG in Abhängigkeit der Temperatur in H_2O	28
Abb. 13: REM-Aufnahmen (InLens-Detektor) der μG (a), DNA- μG (c), Mal- μG (e) und red μG (f) mit zugehörigem Histogramm der μG (b), DNA- μG (d), Mal- μG (f) und red μG (h).	29

Abb. 14: Intensitätsgewichteter hydrodynamischer Durchmesser der μ G und DNA- μ G in Abhängigkeit der Temperatur in H_2O (a), 0,1 M NaCl (b), 0,14 M NaCl (c) und in PBS (d).....	30
Abb. 15: Exemplarische Intensitätsverteilung für $t=0, 5, 30$ min für den Temperaturwechsel von $20\text{ }^\circ\text{C}$ auf $50\text{ }^\circ\text{C}$ (a) und $50\text{ }^\circ\text{C}$ auf $20\text{ }^\circ\text{C}$ (b) zusammen mit dem zeitlichen Verlauf des intensitätsgewichteten hydrodynamischen Durchmessers der μ G für den Temperaturwechsel von $20\text{ }^\circ\text{C}$ auf $50\text{ }^\circ\text{C}$ (c) und $50\text{ }^\circ\text{C}$ auf $20\text{ }^\circ\text{C}$ (d).....	32
Abb. 16: ^1H -NMR-Spektrum des Monomers Nipmam mit Zuordnung der Signale und ^1H -NMR-Spektren des μ G pNipmam-BAC mit einer ein Puls Messung, einer ein Puls Messung mit Wassersättigung und einer Hahn Echo Messung mit Wassersättigung.....	33
Abb. 17: Ausschnitt aus den temperaturabhängigen NMR-Spektren der μ G in D_2O (a), in 0,1 M NaCl (b), in 0,14 M NaCl (c), und in PBS (d), sowie der DNA- μ G in D_2O (e), in 0,1 M NaCl (f), in 0,14 M NaCl (g), und in PBS (h), und der red μ G (i) und Mal- μ G (j) in D_2O	34
Abb. 18: Relative Signalintensitäten der ^1H -NMR-Spektren der μ G (a), der DNA- μ G (b), der red μ G (c) und der Mal- μ G (d) in Abhängigkeit der Temperatur mit gekennzeichneten T_{VPT} bei einem relativen Signal von 0,5 bei angepassten Salzkonzentrationen.	35
Abb. 19: Anhand von NMR-Untersuchungen ermittelte T_{VPT} der μ G, DNA- μ G, red μ G und Mal- μ G bei angepassten Salzkonzentrationen.	36
Abb. 20: Van't Hoff Plot der ^1H -NMR-Spektren der μ G (a), der DNA- μ G (b), der red μ G (c) und der Mal- μ G (d) bei angepassten Salzkonzentrationen.....	37
Abb. 21: Graphische Darstellung der nach Gleichung 2 ermittelten relativen Signalintensitäten Int der ^1H -NMR Spektren der μ G mit maximalem Abstand zueinander sowie zu 0 und 1 in D_2O während der Heiz- (a) und Kühlexperimente (b).....	38
Abb. 22: Linearer Fit an die van't Hoff Plots der ^1H -NMR-Spektren der μ G (a-d), DNA- μ G (e-h), red μ G (i) und Mal- μ G (j) in D_2O (a, e, i, j) in 0,1 M NaCl (b, f), in 0,14 M NaCl (c, g) und in PBS (d, h).	38
Abb. 23: Thermodynamische Größen ΔH (a), ΔS (b) und ΔG (c) für den Phasenübergang der μ G, DNA- μ G, red μ G und Mal- μ G bei angepassten Salzkonzentrationen, ermittelt über den linearen Fit von van't Hoff Plots.....	39

Abb. 24: Nicht linearer Fit der thermodynamischen Größen ΔH und ΔS an die relativen Signale der ^1H -NMR-Spektren der μG (a-d), DNA- μG (e-h), red μG (i) und Mal- μG (j) in D_2O (a, e, i, j) in 0,1 M NaCl (b, f), in 0,14 M NaCl (c, g) und in PBS (d, h).	41
Abb. 25: Thermodynamische Größen ΔH (a), ΔS (b) und ΔG (c) für den Phasenübergang der μG , DNA- μG , red μG und Mal- μG bei angepassten Salzkonzentrationen, ermittelt über den nichtlinearen Fit an die relativen Signale der ^1H -NMR Spektren.	41
Abb. 26: Gegenüberstellung von ΔG ermittelt über den linearen Fit (a) und den nicht linearen Fit (b) bei angepassten Salzkonzentrationen für die μG und DNA- μG und in D_2O für die red μG und Mal- μG	42
Abb. 27: Vergleich von ΔG für das μG und DNA- μG bezogen auf kooperative Einheiten, ermittelt über einen nicht linearen Fit mit Literaturdaten für pNipam in 0 M ^{146, 147} und 0,1 M ¹⁴⁰ . Die Daten für das μG und DNA- μG wurden hierbei für das Heiz- und Kühlexperiment zusammengefasst und die Abweichung als Fehlerbalken dargestellt.	43
Abb. 28: Schematische Darstellung der Synthese von Kern-Schale- μG mit regioselektiven Funktionalitäten mit anschließender DNA-Funktionalisierung.	44
Abb. 29: TEM-Aufnahmen Kern- μG (a), Kern-Schale- μG_{10} (b), Kern-Schale- $\mu\text{G}_{1,5\text{M}}$ (c), Kern-Schale- $\mu\text{G}_{2,0\text{M}}$ (d) Kern-Schale- $\mu\text{G}_{0,5\text{V}}$ (e) Kern-Schale- $\mu\text{G}_{0,25\text{V}}$ (f), Kern-Schale- $\mu\text{G}_{1,25\text{M}-0,75\text{V}}$ (g) Kern-Schale- $\mu\text{G}_{1,5\text{M}-0,5\text{V}}$ (h).	45
Abb. 30: TEM-Aufnahmen der Kern- μG (a), der Kern-Schale- μG mit 10facher Reaktanden Zugabe (b) und der Kern-Schale- μG mit 20facher Reaktanden Zugabe (c).	46
Abb. 31: AFM-Aufnahmen der Kern- μG , (a, b) Kern-Schale- μG_{10} (d, e) und Kern-Schale- μG_{20} (g, h) mit zugehörigem Höhenprofil (c, f, i) und gekennzeichneten Pfad zur Bestimmung des Profils im Höhenbild.	48
Abb. 32: AFM-Aufnahmen der Kern- μG (a), der Kern-Schale- μG_{10} (b) und der Kern-Schale- μG_{20} (c) mit eingezeichneten Pfaden zur Bestimmung der Höhenprofils (d).	49
Abb. 33: Intensitäten der gemessenen Durchmesser der Kern- μG , Kern-Schale- μG_{10} und Kern-Schale- μG_{20} bei 20 °C (a) und intensitätsgewichtete hydrodynamischer Durchmesser der Kern- μG , Kern-Schale- μG_{10} und Kern-Schale- μG_{20} in Abhängigkeit der Temperatur.	50
Abb. 34: 3D Darstellung der Farbstoffverteilung erhalten über dSTORM-Messungen mit kovalent gebundenem Alexa647-Farbstoff der Kern- μG (a), Kern-Schale- μG_{10}	

(b) und Kern-Schale- μ G_20 (c). Abbildungen zur 3D Darstellung der Farbstoffverteilung wurden von Pia Lenßen (Arbeitskreis Wöll, Institut für Physikalische Chemie, RWTH Aachen University) erstellt.	52
Abb. 35: Normierte 2D dSTORM Lokalisierungsverteilungen der Kern- μ G, Kern-Schale- μ G_10 und Kern-Schale- μ G_20 mit kovalent gebundenem Alexa647-Farbstoff.....	52
Abb. 36: Normierte 2D-dSTORM-Lokalisierungsverteilungen von drei analog mit Alexa647-Farbstoff markierten Kern-Schale- μ G_10 Proben.	53
Abb. 37: Normierte 2D-dSTORM Lokalisierungsverteilungen von Kern-Schale- μ G_10 Proben die zwischen den fünf Waschschritten nicht, 30 min oder 60 min geschüttelt wurden.....	54
Abb. 38: 3D-Darstellung der Farbstoffverteilung erhalten über DNA-PAINT-Messungen der Kern- μ G (a), Kern-Schale- μ G_10 (b) und Kern-Schale- μ G_20 (c) mit über DNA-Hybridisierung gebundenem Alexa647-Farbstoff. Abbildungen zur 3D-Darstellung der Farbstoffverteilung wurden von Pia Lenßen (Arbeitskreis Wöll, Institut für Physikalische Chemie, RWTH Aachen University) erstellt.	55
Abb. 39: Normierte 2D-DNA-PAINT Lokalisierungsverteilungen der Kern- μ G, Kern-Schale- μ G_10 und Kern-Schale- μ G_20.....	55
Abb. 40: Normierte 2D-DNA-PAINT Lokalisierungsverteilungen von jeweils zwei analog hergestellten Kern-Schale- μ G_10 (a) und Kern-Schale- μ G_20 (b) Proben...56	56
Abb. 41: Schematische Darstellung der mittels DLS, SRFM, AFM und TEM ermittelten Größen der Kern- μ G, Kern-Schale- μ G_10 und Kern-Schale- μ G_20 mit Angabe der Größen und symbolischer Darstellung der Messbedingungen.	57
Abb. 42: Schematische Darstellung der Schritte zur gezielten Immobilisierung von μ G an Oberflächen inklusive der Silanisierung der Oberfläche (a) der chemischen Elektronenstrahlolithografie (cEBL) (b), der PEGylierung der umgebenden Oberfläche (c), der DNA-Funktionalisierung des geschriebenen Musters (d, e) der Abscheidung der μ G durch Hybridisierung (f) und der Fluoreszenzmarkierung der μ G (g). Zur Veranschaulichung sind Schema auf molekularer Ebene(a-d) sowie Schema mit angedeuteten Größenverhältnissen (e-g) dargestellt.	58
Abb. 43: REM-Aufnahmen der ITO-Substrate von PGO (a, e), Diamond Coatings (b, f) und der im Arbeitskreis hergestellten Substrate, bei denen für 270 s mit ITO (c, g) und 7 s mit Titan gefolgt von 30 min mit ITO beschichtet wurde (d, h).	60
Abb. 44: REM-Aufnahmen der ITO-Substrate von PGO (a-d) und Diamond Coatings (e-h). Die unbehandelten Substrate (a, e) wurden mit Ethanol gespült (b, f) und mit Ar-	

Plasma behandelt (c, g) sowie mit Ethanol gespült und anschließend mit Ar-Plasma behandelt (d, h).....	61
Abb. 45: AFM-Höhenbilder (a-d) mit zugehörigen Höhenprofilen (e-h) der ITO-Substrate von Diamond Coatings (a, e), PGO (b, f) und aus dem Arbeitskreis bei denen für 270 s mit ITO (c, g) und bei denen für 7 s mit Titan gefolgt von 30 min mit ITO (d, h) beschichtet wurde.	62
Abb. 46: Schematische Darstellung der Schritte zur Markierung reduzierter Bereiche der Oberfläche inklusive der Silanisierung der Oberfläche (a) der chemischen Elektronenstrahlolithografie (b), der PEGylierung der umgebenden Oberfläche (c) und der Funktionalisierung mit Alexa647-Maleimid (d).....	63
Abb. 47: Verwendete Lithografiemuster für den Test der optimalen Dosis (a) und die Kombination mit optischer Mikroskopie (b). Die Muster wurden von Doktor Michael Noyong (Arbeitsgruppe Professor Doktor Ulrich Simon, Institut für Anorganische Chemie, RWTH Aachen University) programmiert.	64
Abb. 48: Schematische Darstellung der Oberflächenfunktionalisierung der ITO-Substrate mit 2-(4-Chlorosulfonylphenyl)Ethyltrimethoxy-silan.....	65
Abb. 49: Schematische Darstellung der Strukturierung der Substrate mit vier Mustern zur Überprüfung einer Kombination mit optischer Mikroskopie inklusive der Anordnung der Muster auf dem Substrat mit Orientierung zum Kratzer (a) und der zum Schreiben der jeweiligen Muster verwendeten Dosen (b, c).....	65
Abb. 50: REM-Aufnahmen von ITO-Substraten nach der Oberflächenfunktionalisierung mit 2-(4-Chlorosulfonylphenyl)Ethyltrimethoxy-silan und der Lithografie.....	66
Abb. 51: Ausgewählte Beispiele von Lithografiemustern (nach Abb. 49, b) auf drei analog behandelten Substraten, untersucht mittels REM (a, d g), Fluoreszenzmikroskopie (b, e, h) und Durchlichtmikroskopie (c, f, i). a, b und c sowie d, e und f und g, h und i zeigen hierbei jeweils das gleiche Muster.	67
Abb. 52: Schematische Darstellung der Strukturierung der Substrate mit Muster für den Dosistest inklusive der Anordnung der Muster auf dem Substrat und mit Orientierung zum Kratzer zur Markierung (a) und der zum Schreiben der jeweiligen Muster verwendeten Dosis (b, c). Die Angabe der Dosis x (c) ist in (a) beinhaltet. ...	68
Abb. 53: REM-Aufnahmen der Markierung des Lithografiemusters mit AuNP. Zwischen der Lithografie und der Abscheidung der AuNP erfolgte eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster). Die Muster wurden nach Abb. 52 geschrieben. (a, e) Muster oberhalb des Kratzers, (b, f) Muster rechts vom Kratzer, (c, g) Muster unterhalb des Kratzers, (d, h) Muster links vom Kratzer.	69

Abb. 54:	Schematische Darstellung zur Synthese von 2-(Sulfonsäurephenyl)Ethyltrimethoxy-silan.	70
Abb. 55:	Schematische Darstellung der Oberflächenfunktionalisierung der ITO-Substrate mit 2-(Sulfonsäurephenyl)Ethyltrimethoxy-silan.	70
Abb. 56:	Schematische Darstellung des schrittweisen Aufbaus von 2-(Sulfonsäurephenyl)-Ethyltrimethoxysilan. Im ersten Schritt wird Trimethoxy-(2-phenylethyl)-silan an die ITO-Oberfläche (a) gebunden, wodurch eine silanisierte Oberfläche mit unpolaren Endgruppen entsteht (b), welche dann mit Schwefelsäure umgesetzt wird (c).	71
Abb. 57:	Schematische Darstellung des schrittweisen Aufbaus von 2-(Sulfonsäurephenyl)Ethyltri-methoxysilan. Im ersten Schritt wird Trimethoxy-(2-phenylethyl)-silan an die ITO-Oberfläche gebunden (a), wodurch eine silanisierte Oberfläche mit unpolaren Endgruppen entsteht (b), welche dann mit Ammoniumsulfat zur gewünschten Oberflächenfunktionalisierung umgesetzt wird (c).	71
Abb. 58:	REM-Aufnahmen von ITO-Substraten nach der oberflächengebundenen Synthese von 2-(Sulfonsäurephenyl)Ethyltri-methoxysilan und der Lithografie.	72
Abb. 59:	REM- (a-c) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (d-f) der erfolgreichen Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf drei verschiedenen Substraten. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 4h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopieaufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster).	73
Abb. 60:	Schematische Darstellung der Strukturierung der Substrate mit Muster für den Dosistest inklusive der Anordnung der Muster auf dem Substrat und mit Orientierung zum Kratzer zur Markierung sowie mit Kennzeichnung der Platzierung der Substrate im Plasma während des Sputtervorgangs (a) und der zum Schreiben der jeweiligen Muster verwendeten Dosis (b, c). Die Angabe der Dosis x (c) ist in (a) beinhaltet und befindet sich unterhalb der Kennzeichnung der Platzierung der Muster.	76
Abb. 61:	REM- Aufnahmen (a-d) und Fluoreszenzmikroskopieaufnahmen (e-h) der erfolgreichen Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 4 h bei 30 °C. Zwischen den REM- und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster). Während der Beschichtung mit ITO war das Substrat hinten rechts platziert. Bei dem Dosistestmuster wurde die fünffache Dosis verwendet.	77

Abb. 62: REM- Aufnahmen (a-d) und Fluoreszenzmikroskopieaufnahmen (e-h) der erfolgreichen Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 3 h bei 30 °C. Zwischen den REM- und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster). Während der Beschichtung mit ITO war das Substrat hinten links platziert. Bei dem Dosistestmuster wurde die fünffache Dosis verwendet.....	78
Abb. 63: Berechneter hydrodynamischer Durchmesser (a) der μ G, DNA- μ G, Mal- μ G und red μ G in Abhängigkeit der Temperatur und zugehörige Polydispersitätsindices (b) in H ₂ O.....	82
Abb. 64: Berechneter hydrodynamischer Durchmesser (a-d) und zugehörige Polydispersitätsindices (e-h) in Abhängigkeit der Temperatur der μ G und DNA- μ G in H ₂ O (a, e), 0,1 M NaCl (b, f), 0,14 M NaCl (c, g) und in PBS (d, h).	83
Abb. 65: Intensitätsgewichteter hydrodynamischer Durchmesser (a, d) und berechneter hydrodynamischer Durchmesser mit Polydispersitätsindices (b, e) der μ G in Abhängigkeit der Zeit nachdem für eine Stunde bei 20 °C temperiert wurde mit einer Messung bei 50 °C (a, b) und nachdem für eine Stunde bei 50 °C temperiert wurde mit einer Messung bei 20 °C (d, e) zusammen mit den gemessenen Peaks bei der ersten und letzten Messung nachdem für eine Stunde bei 20 °C temperiert wurde mit einer Messung bei 50 °C (c) und nachdem für eine Stunde bei 50 °C temperiert wurde mit einer Messung bei 20 °C (f).	84
Abb. 66: Signalintensitäten der ¹ H-NMR-Spektren der μ G (a), der DNA- μ G (b), der red μ G (c) und der Mal- μ G (d) in Abhängigkeit der Temperatur bei angepassten Salzkonzentrationen.	84
Abb. 67: Graphische Darstellung der nach Gleichung 2 ermittelten relativen Signalintensitäten Int der ¹ H-NMR Spektren der μ G (a-h), DNA- μ G (i-p), red μ G (q, r) und Mal- μ G (s, t) mit maximalem Abstand zueinander sowie zu 0 und 1, In D ₂ O (a, e, i, m, q-t), 0,1 M NaCl (b, f, j, n), in 0,14 M NaCl (c, g, k, o) und in PBS (d, h, l, p) während der Heiz- (a-d, i-l, q, s) und Kühlexperimente (e-h, m-p, r, t).....	85
Abb. 68: Graphische Auftragung der Schnittpunkte der Geraden nach Gleichung 6 als Ausgangswerte von ΔS und ΔH für den nicht linearen Fit der relativen Signalintensitäten der ¹ H-NMR-Spektren der μ G, DNA- μ G, red μ G und Mal- μ G in D ₂ O (a, e, i, m, q-t), 0,1 M NaCl (b, f, j, n), in 0,14 M NaCl (c, g, k, o) und in PBS (d, h, l, p) während der Heiz- (a-d, i-l, q, s) und Kühlexperimente (e-h, m-p, r, t).....	88
Abb. 69: Histogramm der Durchmesser der Kern- μ G, Kern-Schale- μ G ₁₀ und Kern-Schale- μ G ₂₀ ermittelt anhand der TEM-Aufnahmen (Abb. 30).	92

Abb. 70: REM-Aufnahmen mittels SE-Detektor (links) und InLens-Detektor (rechts) der Kern- μ G (a), der Kern-Schale- μ G mit 10facher Reaktanden Zugabe (b) und der Kern-Schale- μ G mit 20facher Reaktanden Zugabe (c).....	92
Abb. 71: Histogramm der Durchmesser der Kern- μ G, Kern-Schale- μ G_10 und Kern-Schale- μ G_20 ermittelt anhand der REM-Aufnahmen.	92
Abb. 72: Höhenprofile der Kern- μ G (a), Kern-Schale- μ G_10 (b) und Kern-Schale- μ G_20 (c).....	93
Abb. 73: Vergrößerter Ausschnitt der AFM-Aufnahme der Kern-Schale- μ G_10 mit kleineren und größeren Strukturen im Höhen- (links) und Phasenbild (rechts).	93
Abb. 74: Höhenprofile der Kern- μ G, Kern-Schale- μ G_10 und Kern-Schale- μ G_20 im direkten Vergleich.....	93
Abb. 75: Berechneter hydrodynamischer Durchmesser und Polydispersitätsindices der Kern- μ G (a), der Kern-Schale- μ G mit 10facher Reaktanden Zugabe (b) und der Kern-Schale- μ G mit 20facher Reaktanden Zugabe (c) in Abhängigkeit der Temperatur.....	94
Abb. 76: 3D-Darstellung der Farbstoffverteilung erhalten über DNA-PAINT Messungen der Kern-Schale- μ G_10 mit über DNA-Hybridisierung gebundenem Alexa647-Farbstoff. Abbildung wurde von Pia Lenßen (Arbeitskreis Wöll, Institut für Physikalische Chemie, RWTH Aachen University) erstellt.	94
Abb. 77: AFM-Phasenbilder (a-d) und -Höhenbilder mit Pfad zur Bestimmung der Höhenprofile (e-h) der ITO-Substrate von Diamond Coatings (a, e), PGO (b, f) und aus dem Arbeitskreis bei denen für 270 s mit ITO (c, g) und bei denen für 7 s mit Titan gefolgt von 30 min mit ITO (d, h) beschichtet wurde.	96
Abb. 78: Wassertropfen auf der Oberfläche des gereinigten Glassubstrates (a), der ITO-Oberfläche (b), der silanisierten Oberfläche (c) und nach der Sulfonierung für 4 h (d, e) und für 50 h (f). Die Temperatur bei der Sulfonierung wurde zwischen 10 °C (e) und 30 °C (d, f) variiert.	96
Abb. 79: Lithografiemuster eines Substrates (teilweise gezeigt in Abb. 51 a-c), untersucht mittels REM (a-d), Fluoreszenzmikroskopie (e-h) und Durchlichtmikroskopie (i-l). Die Strukturierung des Substrates erfolgte nach Abb. 49.....	97
Abb. 80: Lithografiemuster eines Substrates (teilweise gezeigt in Abb. 51 d-f), untersucht mittels REM (a-d), Fluoreszenzmikroskopie (e-h) und Durchlichtmikroskopie (i-l). Die Strukturierung des Substrates erfolgte nach Abb. 49.....	98

- Abb. 81: Lithografiemuster eines Substrates (teilweise gezeigt in Abb. 51 g-i), untersucht mittels REM (a-d), Fluoreszenzmikroskopie (e-h) und Durchlichtmikroskopie (i-l). Die Strukturierung des Substrates erfolgte nach Abb. 49.....99
- Abb. 82: REM-Aufnahmen der Markierung des Lithografiemusters mit AuNP. Die Muster wurden nach Abb. 52 geschrieben. (a, e) Muster oberhalb des Kratzers, (b, f) Muster rechts vom Kratzer, (c, g) Muster unterhalb des Kratzers, (d, h) Muster links vom Kratzer.....99
- Abb. 83: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 4 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster).100
- Abb. 84: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 4 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster).100
- Abb. 85: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 4 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster).101
- Abb. 86: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 4 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgte eine Funktionalisierung mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster).101
- Abb. 87: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 4h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster). Vor der Lithografie wurde das Substrat für einen Tag im Vakuum gelagert.102

Abb. 88: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 4 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgte eine Funktionalisierung mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster). Vor der Lithografie wurde das Substrat für einen Tag im Vakuum gelagert.102

Abb. 89: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf zwei Substraten. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 4 h bei 10 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster; d) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster; b,d). Vor der Lithografie wurde das Substrat für einen Tag im Vakuum gelagert.....103

Abb. 90: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 4 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster). Vor der Lithografie wurde das Substrat für einen Tag im Vakuum gelagert.103

Abb. 91: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 1 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster). Vor der Lithografie wurde das Substrat für einen Tag im Vakuum gelagert.104

Abb. 92: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 1 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster).104

Abb. 93: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 12 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster).105

- Abb. 94: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 5 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster).105
- Abb. 95: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 5 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgte eine Funktionalisierung mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster).106
- Abb. 96: REM- (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 5 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgte eine Funktionalisierung mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster). Vor der Lithografie wurde das Substrat für einen Tag im Vakuum gelagert.106
- Abb. 97: REM (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der erfolgreichen Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 4 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster). Während der Beschichtung mit ITO war das Substrat vorne rechts platziert. Bei dem Dosistestmuster wurde die doppelte Dosis verwendet.107
- Abb. 98: REM (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der erfolgreichen Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 4 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster). Während der Beschichtung mit ITO war das Substrat vorne links platziert. Bei dem Dosistestmuster wurde die doppelte Dosis verwendet.107
- Abb. 99: REM (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der erfolgreichen Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 4 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster). Während der Beschichtung mit ITO war das Substrat hinten links platziert. Bei dem Dosistestmuster wurde die fünffache Dosis verwendet.108

Abb. 100: REM (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der erfolgreichen Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 5 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit PEG-Amin (außerhalb der Muster) und mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster). Während der Beschichtung mit ITO war das Substrat vorne links platziert. Bei dem Dosistestmuster wurde die fünffache Dosis verwendet.....108

Abb. 101: REM (a-d) und Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (e-h) der erfolgreichen Markierung des Lithografiemusters mit Alexa647-Farbstoff auf einem Substrat. Die Oberflächenfunktionalisierung erfolgte mit Ammoniumsulfat für 5 h bei 30 °C. Zwischen den REM-Aufnahmen und den Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen erfolgten eine Funktionalisierung mit Alexa647-Maleimid (innerhalb der Muster). Während der Beschichtung mit ITO war das Substrat vorne rechts platziert. Bei dem Dosistestmuster wurde die doppelte Dosis verwendet.109

9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Verwendete Chemikalien mit Herstellern und Reinheiten.	18
Tabelle 2: Verwendete Fluoreszenzfarbstoffe mit Anregungswellenlänge λ_{ex} und Emissionswellenlänge λ_{em}	20
Tabelle 3: Verwendete DNA-Sequenzen mit Angabe der Modifikationen und Schmelztemperaturen. Komplementäre Sequenzen sind mit zugehöriger Schmelztemperatur farblich markiert.	21
Tabelle 4: Variationen bei der Synthese der Kern-Schale- μG	22
Tabelle 5: Reaktionsbedingungen bei der oberflächengebundenen Silansynthese mit Ammoniumsulfat.	24
Tabelle 6: Hydrodynamische Durchmesser der μG und DNA- μG im gequollenen Zustand und T_{VPT} bei angepassten Salzkonzentrationen.	31
Tabelle 7: Durchmesser der Kern- und Kern-Schale- μG im getrockneten Zustand auf Kohlenstoff im TEM.	47
Tabelle 8: Durchmesser der Kern- μG , Kern-Schale- μG_{10} und Kern-Schale- μG_{20} ermittelt anhand der REM-Aufnahmen.	47
Tabelle 9: Größe der Kern- und Kern-Schale- μG , ermittelt anhand von AFM.	49
Tabelle 10: T_{VPT} und hydrodynamische Durchmesser der Kern- und Kern-Schale- μG	51
Tabelle 11: Durchmesser der Kern- μG , Kern-Schale- μG_{10} und Kern-Schale- μG_{20} ermittelt über DLS, dSTORM und DNA-PAINT.	56
Tabelle 12: Sputterzeiten und resultierende Atomprozent von Indium und Zinn im Vergleich zu den Atomprozenten von Indium und Zinn des Sputtertargets und auf den Substraten von PGO und Diamond Coatings. Die Atomprozent wurden durch XRF ermittelt.	62
Tabelle 13: Kontaktwinkel von Wasser auf den Oberflächen bei den einzelnen Schritten der schrittweisen Oberflächenfunktionalisierung.	72
Tabelle 14: Übersicht der variierten Parameter mit Angabe der Anzahl der hergestellten Muster und der fluoreszierenden Muster.	75

Tabelle 15: T_{VPT} , und hydrodynamische Durchmesser der μG , DNA- μG , Mal- μG und red μG im gequollenen und kollabierten Zustand.	82
Tabelle 16: Durchmesser der μG , DNA- μG , Mal- μG und red μG im getrockneten Zustand, ermittelt anhand von REM-Aufnahmen (InLens-Detektor) mit Angabe der zur Bestimmung verwendeten Anzahl.	82
Tabelle 17: Natriumgehalt der μG und DNA- μG ermittelt über AAS.	84
Tabelle 18: T_{VPT} der μG , DNA- μG , red μG und Mal- μG bei angepassten Salzkonzentrationen.	85
Tabelle 19: Relative Signalintensitäten I_{int} der 1H -NMR Spektren der μG , DNA- μG , red μG und Mal- μG mit maximalem Abstand zueinander sowie zu 0 und 1, nach Gleichung 2 ermittelt, mit zugehörigen Temperaturen T und Gleichgewichtskonstanten K_{eq} bei angepassten Salzkonzentrationen.	86
Tabelle 20: Achsenabschnitt und Steigung des linearer Fits an die van't Hoff Plots der 1H -NMR-Spektren der μG , DNA- μG , red μG und Mal- μG bei angepassten Salzkonzentrationen.	86
Tabelle 21: Thermodynamische Größen ΔH , ΔS und ΔG für den Phasenübergang der μG , DNA- μG , red μG und Mal- μG bei angepassten Salzkonzentrationen, ermittelt über den linearen Fit von van't Hoff Plots.	87
Tabelle 22: Zusammenfassung der Parameter des nicht linearen Fits der relativen Signale der 1H -NMR-Spektren der μG , DNA- μG , red μG und Mal- μG bei angepassten Salzkonzentrationen.	89
Tabelle 23: Thermodynamische Größen ΔH , ΔS und ΔG für den Phasenübergang der μG , DNA- μG , red μG und Mal- μG bei angepassten Salzkonzentrationen, ermittelt über den nicht linearen Fit der relativen Signale der 1H -NMR-Spektren.	90
Tabelle 24: Vergleich der der freien Gibbs Energie ermittelt über den linearen von van't Hoff Plots und den nicht linearen Fit der relativen Signale der 1H -NMR-Spektren.	91
Tabelle 25: Vergleich der thermodynamischen Daten bezogen auf kooperative Einheiten, ermittelt über einen nicht linearen Fit mit Literaturdaten.	91
Tabelle 26: Vergleich der mittels TEM, REM, AFM, DLS und SRFM ermittelten Größen der Kern- μG , Kern-Schale- μG_{10} und Kern-Schale- μG_{20}	95

10 Literaturverzeichnis

1. Sigolaeva, L. V.; Gladyr, S. Y.; Gelissen, A. P.; Mergel, O.; Pergushov, D. V.; Kurochkin, I. N.; Plamper, F. A.; Richtering, W., Dual-stimuli-sensitive microgels as a tool for stimulated spongelike adsorption of biomaterials for biosensor applications. *Biomacromolecules* **2014**, *15* (10), 3735-45.
2. Karg, M.; Pich, A.; Hellweg, T.; Hoare, T.; Lyon, L. A.; Crassous, J. J.; Suzuki, D.; Gumerov, R. A.; Schneider, S.; Potemkin, I.; Richtering, W., Nanogels and Microgels: From Model Colloids to Applications, Recent Developments, and Future Trends. *Langmuir* **2019**, *35* (19), 6231-6255.
3. Plamper, F. A.; Richtering, W., Functional Microgels and Microgel Systems. *Acc Chem Res* **2017**, *50* (2), 131-140.
4. Scotti, A.; Schulte, M. F.; Lopez, C. G.; Crassous, J. J.; Bochenek, S.; Richtering, W., How Softness Matters in Soft Nanogels and Nanogel Assemblies. *Chem Rev* **2022**, *122* (13), 11675-11700.
5. Wu, W.; Shen, J.; Banerjee, P.; Zhou, S., Core-shell hybrid nanogels for integration of optical temperature-sensing, targeted tumor cell imaging, and combined chemo-photothermal treatment. *Biomaterials* **2010**, *31* (29), 7555-66.
6. <https://www.microgels.rwth-aachen.de/>. (Zugriff: 21.03.2023; 10:56).
7. Liwinska, W.; Stanislawska, I.; Lyp, M.; Stojek, Z.; Zabost, E., Switchable conformational changes of DNA nanogel shells containing disulfide-DNA hybrids for controlled drug release and efficient anticancer action. *RSC Adv* **2019**, *9* (24), 13736-13748.
8. Li, F.; Lyu, D.; Liu, S.; Guo, W., DNA Hydrogels and Microgels for Biosensing and Biomedical Applications. *Adv Mater* **2020**, *32* (3), e1806538.
9. Yang, D.; Zhou, C.; Gao, F.; Wang, P.; Ke, Y., DNA-Guided Assembly of Molecules, Materials, and Cells. *Adv. Intell. Syst.* **2019**, *2* (1).
10. Kittel, Y.; Kuehne, A. J. C.; De Laporte, L., Translating Therapeutic Microgels into Clinical Applications. *Adv Healthc Mater* **2022**, *11* (6), e2101989.
11. Sahiner, N.; Godbey, W. T.; McPherson, G. L.; John, V. T., Microgel, nanogel and hydrogel-hydrogel semi-IPN composites for biomedical applications: synthesis and characterization. *Colloid Polym Sci* **2006**, *284* (10), 1121-1129.
12. Zhang, C.; Sun, W.; Wang, Y.; Xu, F.; Qu, J.; Xia, J.; Shen, M.; Shi, X., Gd-/CuS-Loaded Functional Nanogels for MR/PA Imaging-Guided Tumor-Targeted Photothermal Therapy. *ACS Appl Mater Interfaces* **2020**, *12* (8), 9107-9117.
13. Lee, J. H.; Yeo, Y., Controlled Drug Release from Pharmaceutical Nanocarriers. *Chem Eng Sci* **2015**, *125*, 75-84.
14. Stanislawska, I.; Liwinska, W.; Lyp, M.; Stojek, Z.; Zabost, E., Recent Advances in Degradable Hybrids of Biomolecules and NGs for Targeted Delivery. *Molecules* **2019**, *24* (10).
15. Höfl, S.; Zitzler, L.; Hellweg, T.; Herminghaus, S.; Mugele, F., Volume phase transition of "smart" microgels in bulk solution and adsorbed at an interface: A combined AFM, dynamic light, and small angle neutron scattering study. *Polymer* **2007**, *48* (1), 245-254.
16. Mourran, A.; Wu, Y.; Gumerov, R. A.; Rudov, A. A.; Potemkin, I.; Pich, A.; Moller, M., When Colloidal Particles Become Polymer Coils. *Langmuir* **2016**, *32* (3), 723-30.

17. Zhang, J.; Pelton, R., Poly(N-isopropylacrylamide) Microgels at the Air-Water Interface. *Langmuir* **1999**, *15*, 8032-8036.
18. Kratz, K.; Hellweg, T.; Eimer, W., Structural changes in PNIPAM microgel particles as seen by SANS, DLS, and EM techniques. *Polymer* **2001**, *42*, 6631-6639.
19. Heskins, M.; Guillet, J. E., Solution Properties of Poly(N-isopropylacrylamide). *J Macromol Sci* **1968**, *2* (8), 1441-1455.
20. Li, G.; Varga, I.; Kardos, A.; Dobryden, I.; Claesson, P. M., Nanoscale Mechanical Properties of Core-Shell-like Poly-NIPAM Microgel Particles: Effect of Temperature and Cross-Linking Density. *J Phys Chem B* **2021**, *125* (34), 9860-9869.
21. Cors, M.; Wiehemeier, L.; Oberdisse, J.; Hellweg, T., Deuteration-Induced Volume Phase Transition Temperature Shift of PNIPMAM Microgels. *Polymers (Basel)* **2019**, *11* (4).
22. Stieger, M.; Richtering, W.; Pedersen, J. S.; Lindner, P., Small-angle neutron scattering study of structural changes in temperature sensitive microgel colloids. *J Chem Phys* **2004**, *120* (13), 6197-206.
23. Bergbreiter, D.; Case, B.; Liu, Y.; Caraway, J., Poly(N-isopropylacrylamide) Soluble Polymer Supports in Catalysis and Synthesis. *Macromolecules* **1998**, *31*, 6053-6062.
24. Eisold, S.; Hoppe Alvarez, L.; Ran, K.; Hengsbach, R.; Fink, G.; Centeno Benigno, S.; Mayer, J.; Woll, D.; Simon, U., DNA introduces an independent temperature responsiveness to thermosensitive microgels and enables switchable plasmon coupling as well as controlled uptake and release. *Nanoscale* **2021**, *13* (5), 2875-2882.
25. Wedel, B.; Hertle, Y.; Wrede, O.; Bookhold, J.; Hellweg, T., Smart Homopolymer Microgels: Influence of the Monomer Structure on the Particle Properties. *Polymers (Basel)* **2016**, *8* (4).
26. Guerzoni, L. P. B.; Bohl, J.; Jans, A.; Rose, J. C.; Koehler, J.; Kuehne, A. J. C.; De Laporte, L., Microfluidic fabrication of polyethylene glycol microgel capsules with tailored properties for the delivery of biomolecules. *Biomater Sci* **2017**, *5* (8), 1549-1557.
27. Otto, P.; Bergmann, S.; Sandmeyer, A.; Dirksen, M.; Wrede, O.; Hellweg, T.; Huser, T., Resolving the internal morphology of core-shell microgels with super-resolution fluorescence microscopy. *Nanoscale Adv* **2020**, *2* (1), 323-331.
28. Purohit, A.; Centeno, S. P.; Wypsek, S. K.; Richtering, W.; Woll, D., Microgel PAINT - nanoscopic polarity imaging of adaptive microgels without covalent labelling. *Chem Sci* **2019**, *10* (44), 10336-10342.
29. Blackburn, W.; Dickerson, E.; Smith, M.; McDonald, J.; Lyon, A., Peptide-Functionalized Nanogels for Targeted siRNA Delivery. *Bioconjugate Chem* **2009**, *20*, 960-968.
30. Dirksen, M.; Kinder, T. A.; Brandel, T.; Hellweg, T., Temperature Controlled Loading and Release of the Anti-Inflammatory Drug Cannabidiol by Smart Microgels. *Molecules* **2021**, *26* (11).
31. Ngai, T.; Auweter, H.; Behrens, S., Environmental Responsiveness of Microgel Particles and Particle-Stabilized Emulsions. *Macromolecules* **2006**, *39*, 8171-8177.
32. Pérez-Chávez, N. A.; Albesa, A. G.; Longo, G. S., Thermodynamic Theory of Multiresponsive Microgel Swelling. *Macromolecules* **2021**, *54* (6), 2936-2947.
33. Fujita, M.; Hiramane, H.; Pan, P.; Hikima, T.; Maeda, M., Effects of Complementary DNA and Salt on the Thermoresponsiveness of Poly(N-isopropylacrylamide)-b-DNA. *Langmuir* **2016**, *32* (4), 1148-54.

34. Nayak, S.; Lyon, L. A., Soft nanotechnology with soft nanoparticles. *Angew Chem Int Ed Engl* **2005**, *44* (47), 7686-708.
35. Ko, C.-H.; Claude, K.-L.; Niebuur, B.-J.; Jung, F. A.; Kang, J.-J.; Schanzenbach, D.; Frielinghaus, H.; Barnsley, L. C.; Wu, B.; Pipich, V.; Schulte, A.; Müller-Buschbaum, P.; Laschewsky, A.; Papadakis, C. M., Temperature-Dependent Phase Behavior of the Thermoresponsive Polymer Poly(N-isopropylmethacrylamide) in an Aqueous Solution. *Macromolecules* **2020**, *53* (16), 6816-6827.
36. Zeiser, M.; Freudensprung, I.; Hellweg, T., Linearly thermoresponsive core-shell microgels: Towards a new class of nanoactuators. *Polymer* **2012**, *53* (26), 6096-6101.
37. Burmistrova, A.; Richter, M.; Uzum, C.; Klitzing, R. v., Effect of cross-linker density of P(NIPAM-co-AAc) microgels at solid surfaces on the swelling/shrinking behaviour and the Young's modulus. *Colloid Polym Sci* **2011**, *289* (5-6), 613-624.
38. Hoppe Alvarez, L.; Eisold, S.; Gumerov, R. A.; Strauch, M.; Rudov, A. A.; Lenssen, P.; Merhof, D.; Potemkin, I.; Simon, U.; Woll, D., Deformation of Microgels at Solid-Liquid Interfaces Visualized in Three-Dimension. *Nano Lett* **2019**, *19* (12), 8862-8867.
39. Hoppe Alvarez, L.; Rudov, A. A.; Gumerov, R. A.; Lenssen, P.; Simon, U.; Potemkin, I.; Woll, D., Controlling microgel deformation via deposition method and surface functionalization of solid supports. *Phys Chem Chem Phys* **2021**, *23* (8), 4927-4934.
40. Grillo, F.; Fernandez-Rodriguez, M. A.; Antonopoulou, M. N.; Gerber, D.; Isa, L., Self-templating assembly of soft microparticles into complex tessellations. *Nature* **2020**, *582* (7811), 219-224.
41. Scheffold, F., Pathways and challenges towards a complete characterization of microgels. *Nat Commun* **2020**, *11* (1), 4315.
42. Nuhn, L.; Hirsch, M.; Krieg, B.; Koynov, K.; Fischer, K.; Schmidt, M.; Helm, M.; Zentel, R., Cationic Nanohydrogel Particles as Potential siRNA Carriers for Cellular Delivery. *ACS Nano* **2012**, *6*, 2198-2214.
43. Bhattacharjee, S., DLS and zeta potential - What they are and what they are not? *J Control Release* **2016**, *235*, 337-351.
44. Aufderhorst-Roberts, A.; Baker, D.; Foster, R. J.; Cayre, O.; Mattsson, J.; Connell, S. D., Nanoscale mechanics of microgel particles. *Nanoscale* **2018**, *10* (34), 16050-16061.
45. Di Lorenzo, F.; Seiffert, S., Nanostructural heterogeneity in polymer networks and gels. *Polym Chem* **2015**, *6* (31), 5515-5528.
46. Schulte, M. F.; Scotti, A.; Gelissen, A. P. H.; Richtering, W.; Mourran, A., Probing the Internal Heterogeneity of Responsive Microgels Adsorbed to an Interface by a Sharp SFM Tip: Comparing Core-Shell and Hollow Microgels. *Langmuir* **2018**, *34* (14), 4150-4158.
47. Gao, S.; Chi, L.; Lenhert, S.; Anczykowski, B.; Niemeyer, C. M.; Adler, M.; Fuchs, H., High-quality mapping of DNA-protein complexes by dynamic scanning force microscopy. *Chemphyschem* **2001**, *2* (6), 384-8.
48. Dong, R.; Yu, L., Investigation of Surface Changes of Nanoparticles Using TM-AFM Phase Imaging. *Environ Sci Technol* **2003**, *37*, 2813-2819.
49. Martinez, N. F.; Garcia, R., Measuring phase shifts and energy dissipation with amplitude modulation atomic force microscopy. *Nanotechnology* **2006**, *17* (7), S167-72.
50. Boussu, K.; Van der Bruggen, B.; Volodin, A.; Snauwaert, J.; Van Haesendonck, C.; Vandecasteele, C., Roughness and hydrophobicity studies of

nanofiltration membranes using different modes of AFM. *J Colloid Interface Sci* **2005**, 286 (2), 632-8.

51. Matsui, S.; Nishizawa, Y.; Uchihashi, T.; Suzuki, D., Monitoring Thermoresponsive Morphological Changes in Individual Hydrogel Microspheres. *ACS Omega* **2018**, 3 (9), 10836-10842.

52. von Nessen, K.; Karg, M.; Hellweg, T., Thermoresponsive poly-(N-isopropylmethacrylamide) microgels: Tailoring particle size by interfacial tension control. *Polymer* **2013**, 54 (21), 5499-5510.

53. Jones, C. D.; Lyon, L. A., Synthesis and Characterization of Multiresponsive Core-Shell Microgels. *Macromolecules* **2000**, 33 (22), 8301-8306.

54. Reimer, L., *Scanning Electron Microscopy Physocs of Image Formation and Microanalysis*. Second Edition ed.; Springer: Berlin-Heidelberg, 1998.

55. Nishizawa, Y.; Honda, K.; Suzuki, D., Recent Development in the Visualization of Microgels. *Chem Lett* **2021**, 50 (6), 1226-1235.

56. Holderer, O.; Maccarrone, S.; Pasini, S.; Appavou, M. S.; Gelissen, A., Raspberry structures in microgel-silica nanoparticle composite systems. *Results Phys* **2021**, 21.

57. Gelissen, A. P.; Oppermann, A.; Caumanns, T.; Hebbeker, P.; Turnhoff, S. K.; Tiwari, R.; Eisold, S.; Simon, U.; Lu, Y.; Mayer, J.; Richtering, W.; Walther, A.; Woll, D., 3D Structures of Responsive Nanocompartmentalized Microgels. *Nano Lett* **2016**, 16 (11), 7295-7301.

58. Schmitt, J.; Hartwig, C.; Crassous, J. J.; Mihut, A. M.; Schurtenberger, P.; Alfredsson, V., Anisotropic mesoporous silica/microgel core-shell responsive particles. *RSC Adv* **2020**, 10 (42), 25393-25401.

59. Schneider, S.; Jung, F.; Mergel, O.; Lammertz, J.; Nickel, A. C.; Caumanns, T.; Mhamdi, A.; Mayer, J.; Mitsos, A.; Plamper, F. A., Model-based design and synthesis of ferrocene containing microgels. *Polym Chem* **2020**, 11 (2), 315-325.

60. Horigome, K.; Suzuki, D., Drying mechanism of poly(N-isopropylacrylamide) microgel dispersions. *Langmuir* **2012**, 28 (36), 12962-70.

61. Jones, C. D.; Lyon, L. A., Dependence of Shell Thickness on Core Compression in Acrylic Acid Modified Poly(N-isopropylacrylamide) Core/Shell Microgels. *Langmuir* **2003**, 19 (11), 4544-4547.

62. Nair, D. P.; Podgórski, M.; Chatani, S.; Gong, T.; Xi, W.; Fenoli, C. R.; Bowman, C. N., The Thiol-Michael Addition Click Reaction: A Powerful and Widely Used Tool in Materials Chemistry. *Chem Mater* **2013**, 26 (1), 724-744.

63. Gaulding, J. C.; Smith, M. H.; Hyatt, J. S.; Fernandez-Nieves, A.; Lyon, L. A., Reversible Inter- and Intra-Microgel Cross-Linking using Disulfides. *Macromolecules* **2012**, 45 (1), 39-45.

64. Battista, E.; Mazzarotta, A.; Causa, F.; Cusano, A. M.; Netti, P. A., Core - shell microgels with controlled structural properties. *Polym Int* **2016**, 65 (7), 747-755.

65. Berndt, I.; Richtering, W., Doubly Temperature Sensitive Core-Shell Microgels. *Macromolecules* **2003**, 36, 8780-8785.

66. Berndt, I.; Popescu, C.; Wortmann, F. J.; Richtering, W., Mechanics versus thermodynamics: swelling in multiple-temperature-sensitive core-shell microgels. *Angew Chem Int Ed Engl* **2006**, 45 (7), 1081-5.

67. Hamzah, Y. B.; Hashim, S.; Rahman, W. A. W. A., Synthesis of polymeric nano/microgels: a review. *J Polym Res* **2017**, 24 (9).

68. Agrawal, G.; Agrawal, R., Functional Microgels: Recent Advances in Their Biomedical Applications. *Small* **2018**, 14 (39), e1801724.

69. Nolan, C.; Gelbaum, L.; Lyon, A., ¹H NMR Investigation of Thermally Triggered Insulin Release from Poly(N-isopropylacrylamide) Microgels. *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 2918-2922.
70. Gawlitza, K.; Wu, C.; Georgieva, R.; Wang, D.; Ansorge-Schumacher, M. B.; von Klitzing, R., Immobilization of lipase B within micron-sized poly-N-isopropylacrylamide hydrogel particles by solvent exchange. *Phys Chem Chem Phys* **2012**, *14* (27), 9594-600.
71. Das, M.; Mardyani, S.; Chan, W. C. W.; Kumacheva, E., Biofunctionalized pH-Responsive Microgels for Cancer Cell Targeting: Rational Design. *Adv Mater* **2006**, *18* (1), 80-83.
72. Zhang, H.; Mardyani, S.; Chan, W.; Kumacheva, E., Design of Biocompatible Chitosan Microgels for Targeted pH-Mediated Intracellular Release of Cancer Therapeutics. *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 1568-1572.
73. Karnoosh-Yamchi, J.; Mobasser, M.; Akbarzadeh, A.; Davaran, S.; Ostad-Rahimi, A. R.; Hamishehkar, H.; Salehi, R.; Bahmani, Z.; Nejati-Koshki, K.; Darbin, A.; Rahmati-Yamchi, M., Preparation of pH sensitive insulin-loaded nano hydrogels and evaluation of insulin releasing in different pH conditions. *Mol Biol Rep* **2014**, *41* (10), 6705-12.
74. Phan, V. H.; Thambi, T.; Duong, H. T.; Lee, D. S., Poly(amino carbonate urethane)-based biodegradable, temperature and pH-sensitive injectable hydrogels for sustained human growth hormone delivery. *Sci Rep* **2016**, *6*, 29978.
75. Nuhn, L.; Bolli, E.; Massa, S.; Vandenberghe, I.; Movahedi, K.; Devreese, B.; Van Ginderachter, J. A.; De Geest, B. G., Targeting Protumoral Tumor-Associated Macrophages with Nanobody-Functionalized Nanogels through Strain Promoted Azide Alkyne Cycloaddition Ligation. *Bioconjug Chem* **2018**, *29* (7), 2394-2405.
76. Kleinen, J.; Richtering, W., Rearrangements in and release from responsive microgel-polyelectrolyte complexes induced by temperature and time. *J Phys Chem B* **2011**, *115* (14), 3804-10.
77. Hoshino, Y.; Koide, H.; Furuya, K.; Haberaecker, W. W., 3rd; Lee, S. H.; Kodama, T.; Kanazawa, H.; Oku, N.; Shea, K. J., The rational design of a synthetic polymer nanoparticle that neutralizes a toxic peptide in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* **2012**, *109* (1), 33-8.
78. Switacz, V. K.; Wypysek, S. K.; Degen, R.; Crassous, J. J.; Spehr, M.; Richtering, W., Influence of Size and Cross-Linking Density of Microgels on Cellular Uptake and Uptake Kinetics. *Biomacromolecules* **2020**, *21* (11), 4532-4544.
79. Liang, M.; Lei, F.; Liu, Y.; Lan, D.; Huang, H.; Zhang, G.; Feng, Q.; Cao, X.; Dong, H., In Situ Formation of Microgel Array Via Patterned Electrospun Nanofibers Promotes 3D Cell Culture and Drug Testing in a Microphysiological System. *ACS Appl Bio Mater* **2021**, *4* (8), 6209-6218.
80. Stengelin, E.; Nzigou Mombo, B.; Mondeshki, M.; Beltramo, G. L.; Lange, M. A.; Schmidt, P.; Frerichs, H.; Wegner, S. V.; Seiffert, S., Rational Design of Thermoresponsive Microgel Templates with Polydopamine Surface Coating for Microtissue Applications. *Macromol Biosci* **2021**, *21* (9), e2100209.
81. Feng, Q.; Li, D.; Li, Q.; Cao, X.; Dong, H., Microgel assembly: Fabrication, characteristics and application in tissue engineering and regenerative medicine. *Bioact Mater* **2022**, *9*, 105-119.
82. Battista, E.; Causa, F.; Cusano, A. M.; Di Natale, C.; Scognamiglio, P. L.; Mazzarotta, A.; Celetti, G.; Cosenza, C.; Aliberti, A.; Netti, P. A., Multifunctional Microgels for Direct, Multiplexed and High Sensitive Detection. *Proc Tech* **2017**, *27*, 31-32.

-
83. Xia, X.; Zhang, X.; Serpe, M. J.; Zhang, Q., Microgel-Based Devices as Wearable Capacitive Electronic Skins for Monitoring Cardiovascular Risks. *Adv Mater Technol* **2019**, *5* (2).
84. Wei, M.; Li, X.; Serpe, M. J., Stimuli-Responsive Microgel-Based Surface Plasmon Resonance Transducer for Glucose Detection Using a Competitive Assay with Concanavalin A. *ACS Appl Polym Mater* **2019**, *1* (3), 519-525.
85. Keskin, D.; Mergel, O.; van der Mei, H. C.; Busscher, H. J.; van Rijn, P., Inhibiting Bacterial Adhesion by Mechanically Modulated Microgel Coatings. *Biomacromolecules* **2019**, *20* (1), 243-253.
86. Zheng, X.; Qian, J.; Tang, F.; Wang, Z.; Cao, C.; Zhong, K., Microgel-Based Thermosensitive MRI Contrast Agent. *ACS Macro Lett* **2015**, *4* (4), 431-435.
87. Destribats, M.; Lapeyre, V.; Wolfs, M.; Sellier, E.; Leal-Calderon, F.; Ravaine, V.; Schmitt, V., Soft microgels as Pickering emulsion stabilisers: role of particle deformability. *Soft Matter* **2011**, *7* (17).
88. Monteillet, H.; Workamp, M.; Li, X.; Schuur, B.; Kleijn, J. M.; Leermakers, F. A.; Sprakel, J., Multi-responsive ionic liquid emulsions stabilized by microgels. *Chem Commun (Camb)* **2014**, *50* (81), 12197-200.
89. Brugger, B.; Richtering, W., Magnetic, Thermosensitive Microgels as Stimuli-Responsive Emulsifiers Allowing for Remote Control of Separability and Stability of Oil in Water-Emulsions. *Adv Mater* **2007**, *19* (19), 2973-2978.
90. Li, Z.; Ngai, T., Microgel particles at the fluid-fluid interfaces. *Nanoscale* **2013**, *5* (4), 1399-410.
91. Monteux, C.; Marliere, C.; Paris, P.; Pantoustier, N.; Sanson, N.; Perrin, P., Poly(N-isopropylacrylamide) microgels at the oil-water interface: interfacial properties as a function of temperature. *Langmuir* **2010**, *26* (17), 13839-46.
92. Destribats, M.; Wolfs, M.; Pinaud, F.; Lapeyre, V.; Sellier, E.; Schmitt, V.; Ravaine, V., Pickering emulsions stabilized by soft microgels: influence of the emulsification process on particle interfacial organization and emulsion properties. *Langmuir* **2013**, *29* (40), 12367-74.
93. Kwok, M. H.; Sun, G.; Ngai, T., Microgel Particles at Interfaces: Phenomena, Principles, and Opportunities in Food Sciences. *Langmuir* **2019**, *35* (12), 4205-4217.
94. Wiese, S.; Spiess, A. C.; Richtering, W., Microgel-stabilized smart emulsions for biocatalysis. *Angew Chem Int Ed Engl* **2013**, *52* (2), 576-9.
95. Kleinschmidt, D.; Nothdurft, K.; Anakhov, M. V.; Meyer, A. A.; Mork, M.; Gumerov, R. A.; Potemkin, I. I.; Richtering, W.; Pich, A., Microgel organocatalysts: modulation of reaction rates at liquid-liquid interfaces. *Mater Adv* **2020**, *1* (8), 2983-2993.
96. Peng, H.; Rubsam, K.; Jakob, F.; Schwaneberg, U.; Pich, A., Tunable Enzymatic Activity and Enhanced Stability of Cellulase Immobilized in Biohybrid Nanogels. *Biomacromolecules* **2016**, *17* (11), 3619-3631.
97. Dirksen, M.; Fandrich, P.; Goett-Zink, L.; Cremer, J.; Anselmetti, D.; Hellweg, T., Thermoresponsive Microgel-Based Free-Standing Membranes: Influence of Different Microgel Cross-Linkers on Membrane Function. *Langmuir* **2022**, *38* (2), 638-651.
98. Tsuji, S.; Kawaguchi, H., Self-Assembly of Poly(N-isopropylacrylamide)-Carrying Microspheres into Two-Dimensional Colloidal Arrays. *Langmuir* **2005**, *21*, 2434-2437.
99. Hiltl, S.; Schürings, M.-P.; Balaceanu, A.; Mayorga, V.; Liedel, C.; Pich, A.; Böker, A., Guided self-assembly of microgels: from particle arrays to anisotropic nanostructures. *Soft Matter* **2011**, *7* (18).
-

100. Schmidt, S.; Hellweg, T.; von Klitzing, R., Packing Density Control in P(NIPAM-co-AAc) Microgel Monolayers: Effect of Surface Charge, pH, and Preparation Technique. *Langmuir* **2008**, *24*, 12595-12602.
101. Serpe, M.; Jones, C.; Lyon, A., Layer-by-Layer Deposition of Thermoresponsive Microgel Thin Films. *Langmuir* **2003**, *19*, 8759-8764.
102. Serpe, M.; Yarmey, K.; Nolan, C.; Lyon, A., Doxorubicin Uptake and Release from Microgel Thin Films. *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 408-413.
103. Li, B.; Kappl, M.; Han, L.; Cui, J.; Zhou, F.; Del Campo, A., Goosebumps-Inspired Microgel Patterns with Switchable Adhesion and Friction. *Small* **2019**, *15* (35), e1902376.
104. Yang, D.; Pelton, R. H., Degradable Microgel Wet-Strength Adhesives: A Route to Enhanced Paper Recycling. *ACS Sustain Chem Eng* **2017**, *5* (11), 10544-10550.
105. Travers, A.; Muskhelishvili, G., DNA structure and function. *FEBS J* **2015**, *282* (12), 2279-95.
106. Watson, J.; Crick, F., Molecular Structure of Nucleic Acids. *Nature* **1953**, *171*, 737-738.
107. Wang, X.; Lim, H. J.; Son, A., Characterization of denaturation and renaturation of DNA for DNA hybridization. *Environ Health Toxicol* **2014**, *29*, e2014007.
108. Zhang, Y.; Zheng, W.; Liu, J.; Chen, Y., Theory of DNA melting based on the Peyrard-Bishop model. *Phys Rev E* **1997**, *56*, 7100-7115.
109. Jin, R.; Wu, G.; Li, Z.; Mirkin, C.; Schatz, G., What Controls the Melting Properties of DNA-Linked Gold Nanoparticle Assemblies? *J Am Chem Soc* **2003**, *125*, 1643-1654.
110. Schildkraut, C.; Lifson, S., Dependence of the Melting Temperature of DNA on Salt Concentration. *Biopolymers* **1965**, *3*, 195-208.
111. Seeman, N., Nucleic Acid Junctions and Lattices. *J theor Biol* **1982**, *99*, 237-247.
112. Li, S.; Jiang, Q.; Liu, S.; Zhang, Y.; Tian, Y.; Song, C.; Wang, J.; Zou, Y.; Anderson, G. J.; Han, J. Y.; Chang, Y.; Liu, Y.; Zhang, C.; Chen, L.; Zhou, G.; Nie, G.; Yan, H.; Ding, B.; Zhao, Y., A DNA nanorobot functions as a cancer therapeutic in response to a molecular trigger in vivo. *Nat Biotechnol* **2018**, *36* (3), 258-264.
113. Fu, J.; Liu, M.; Liu, Y.; Woodbury, N. W.; Yan, H., Interenzyme substrate diffusion for an enzyme cascade organized on spatially addressable DNA nanostructures. *J Am Chem Soc* **2012**, *134* (12), 5516-9.
114. Farooqi, Z. H.; Khan, S. R.; Begum, R., Temperature-responsive hybrid microgels for catalytic applications: a review. *Mater Sci Tech* **2016**, *33* (2), 129-137.
115. Costa, D.; Valente, A. J.; Miguel, M. G.; Queiroz, J., Plasmid DNA microgels for a therapeutical strategy combining the delivery of genes and anticancer drugs. *Macromol Biosci* **2012**, *12* (9), 1243-52.
116. Costa, D.; Valente, A. J. M.; Miguel, M. G.; Queiroz, J., Plasmid DNA microgels for drug/gene co-delivery: A promising approach for cancer therapy. *Colloid Surface A* **2014**, *442*, 181-190.
117. Budiarta, M.; Xu, W.; Schubert, L.; Meledina, M.; Meledin, A.; Woll, D.; Pich, A.; Beck, T., Protecting redesigned supercharged ferritin containers against protease by integration into acid-cleavable polyelectrolyte microgels. *J Colloid Interface Sci* **2021**, *591*, 451-462.
118. Jenjob, R.; Phakkeeree, T.; Crespy, D., Core-shell particles for drug-delivery, bioimaging, sensing, and tissue engineering. *Biomater Sci* **2020**, *8* (10), 2756-2770.

119. Ding, F.; Mou, Q.; Ma, Y.; Pan, G.; Guo, Y.; Tong, G.; Choi, C. H. J.; Zhu, X.; Zhang, C., A Crosslinked Nucleic Acid Nanogel for Effective siRNA Delivery and Antitumor Therapy. *Angew Chem Int Ed Engl* **2018**, *57* (12), 3064-3068.
120. Liwinska, W.; Stanislawski, I.; Lyp, M.; Mackiewicz, M.; Stojek, Z.; Zabost, E., A degradable nanogel drug carrier crosslinked with three-oligonucleotide hybrids for two-way drug release in mild and high hyperthermia treatment. *J Mater Chem B* **2017**, *5* (24), 4713-4724.
121. Fleischmann, C.; Gopez, J.; Lundberg, P.; Ritter, H.; Killops, K. L.; Hawker, C. J.; Klinger, D., A robust platform for functional microgels via thiol-ene chemistry with reactive polyether-based nanoparticles. *Polym Chem* **2015**, *6* (11), 2029-2037.
122. Wang, Y.; Yan, M.; Xu, L.; Zhao, W.; Wang, X.; Dong, S.; Hao, J., Aptamer-functionalized DNA microgels: a strategy towards selective anticancer therapeutic systems. *J Mater Chem B* **2016**, *4* (32), 5446-5454.
123. Peng, L.; You, M.; Yuan, Q.; Wu, C.; Han, D.; Chen, Y.; Zhong, Z.; Xue, J.; Tan, W., Macroscopic volume change of dynamic hydrogels induced by reversible DNA hybridization. *J Am Chem Soc* **2012**, *134* (29), 12302-7.
124. Guo, W.; Lu, C. H.; Qi, X. J.; Orbach, R.; Fadeev, M.; Yang, H. H.; Willner, I., Switchable bifunctional stimuli-triggered poly-N-isopropylacrylamide/DNA hydrogels. *Angew Chem Int Ed Engl* **2014**, *53* (38), 10134-8.
125. English, M.; Soenksen, L.; Gayet, R.; de Puig, H.; Angenent-Mari, N.; Mao, A.; Nguyen, P.; Collins, J., Programmable CRISPR-responsive smart materials. *Science* **2019**, *365*, 780-785.
126. Jiang, P.; Li, S.; Lai, J.; Zheng, H.; Lin, C.; Shi, P.; Wang, Y., Nanoparticle-Programmed Surface for Drug Release and Cell Regulation via Reversible Hybridization Reaction. *ACS Appl Mater Interfaces* **2017**, *9* (5), 4467-4474.
127. Liu, Y.; Ibricevic, A.; Cohen, J. A.; Cohen, J. L.; Gunsten, S. P.; Frechet, J. M.; Walter, M. J.; Welch, M. J.; Brody, S. L., Impact of hydrogel nanoparticle size and functionalization on in vivo behavior for lung imaging and therapeutics. *Mol Pharm* **2009**, *6* (6), 1891-902.
128. Han, D.; Qi, H.; Huang, K.; Li, X.; Zhan, Q.; Zhao, J.; Hou, X.; Yang, X.; Kang, C.; Yuan, X., The effects of surface charge on the intra-tumor penetration of drug delivery vehicles with tumor progression. *J Mater Chem B* **2018**, *6* (20), 3331-3339.
129. Noguchi, Y.; Wu, J.; Maeda, H., Early Phase Tumor Accumulation of Macromolecules: A Great Difference in Clearance Rate between Tumor and Normal Tissues. *Jpn J Cancer Res* **1998**, *89*, 307-314.
130. Zhu, L.; Torchilin, V. P., Stimulus-responsive nanopreparations for tumor targeting. *Integr Biol (Camb)* **2013**, *5* (1), 96-107.
131. Wang, C.; Fischer, A.; Ehrlich, A.; Nahmias, Y.; Willner, I., Biocatalytic reversible control of the stiffness of DNA-modified responsive hydrogels: applications in shape-memory, self-healing and autonomous controlled release of insulin. *Chem Sci* **2020**, *11* (17), 4516-4524.
132. Wang, C.; Liu, X.; Wulf, V.; Vazquez-Gonzalez, M.; Fadeev, M.; Willner, I., DNA-Based Hydrogels Loaded with Au Nanoparticles or Au Nanorods: Thermoresponsive Plasmonic Matrices for Shape-Memory, Self-Healing, Controlled Release, and Mechanical Applications. *ACS Nano* **2019**, *13* (3), 3424-3433.
133. Liu, X.; Zhang, J.; Fadeev, M.; Li, Z.; Wulf, V.; Tian, H.; Willner, I., Chemical and photochemical DNA "gears" reversibly control stiffness, shape-memory, self-healing and controlled release properties of polyacrylamide hydrogels. *Chem Sci* **2019**, *10* (4), 1008-1016.

134. Wang, C.; Fadeev, M.; Zhang, J.; Vazquez-Gonzalez, M.; Davidson-Rozenfeld, G.; Tian, H.; Willner, I., Shape-memory and self-healing functions of DNA-based carboxymethyl cellulose hydrogels driven by chemical or light triggers. *Chem Sci* **2018**, 9 (35), 7145-7152.
135. Chen, M.; Cao, H.; Liu, Y.; Liu, Y.; Song, F.; Chen, J.; Zhang, Q.; Yang, W., Sequential delivery of chlorhexidine acetate and bFGF from PLGA-glycol chitosan core-shell microspheres. *Colloid Surface B* **2017**, 151, 189-195.
136. Zhang, Q. M.; Xu, W.; Serpe, M. J., Optical devices constructed from multiresponsive microgels. *Angew Chem Int Ed Engl* **2014**, 53 (19), 4827-31.
137. Li, F.; Wang, C.; Guo, W., Multifunctional Poly-N-Isopropylacrylamide/DNAzyme Microgels as Highly Efficient and Recyclable Catalysts for Biosensing. *Adv Funct Mater* **2018**, 28 (10).
138. Pittella, F.; Miyata, K.; Maeda, Y.; Suma, T.; Watanabe, S.; Chen, Q.; Christie, R.; Osada, K.; Nishiyama, N.; Katakoka, K., Pancreatic cancer therapy by systemic administration of VEGF siRNA contained in calcium phosphate/charge-conversional polymer hybrid nanoparticles. *J Control Release* **2012**, 161 (3), 868-874.
139. Tampieri, A.; Szabó, M.; Medina, F.; Gulyás, H., A brief introduction to the basics of NMR spectroscopy and selected examples of its applications to materials characterization. *Phys Sci Rev* **2021**, 6 (1).
140. Pastoor, K. J.; Rice, C. V., Anion effects on the phase transition of N-isopropylacrylamide hydrogels. *J Polym Sci A1* **2012**, 50 (7), 1374-1382.
141. Alam, T. M.; Childress, K. K.; Pastoor, K.; Rice, C. V., Characterization of free, restricted, and entrapped water environments in poly(N-isopropyl acrylamide) hydrogels via ¹H HRMAS PFG NMR spectroscopy. *J Polym Sci Pol Phys* **2014**, 52 (23), 1521-1527.
142. Martinez-Moro, M.; Jenczyk, J.; Giussi, J. M.; Jurga, S.; Moya, S. E., Kinetics of the thermal response of poly(N-isopropylacrylamide co methacrylic acid) hydrogel microparticles under different environmental stimuli: A time-lapse NMR study. *J Colloid Interface Sci* **2020**, 580, 439-448.
143. Maus, A.; Hertlein, C.; Saalwächter, K., A Robust Proton NMR Method to Investigate Hard/Soft Ratios, Crystallinity, and Component Mobility in Polymers. *Macromol Chem Phys* **2006**, 207 (13), 1150-1158.
144. Hahn, E. L., Spin Echoes. *Phys Rev* **1950**, 80 (4), 580-594.
145. Carr, H. Y.; Purcell, E. M., Effects of Diffusion on Free Precession in Nuclear Magnetic Resonance Experiments. *Phys Rev* **1954**, 94 (3), 630-638.
146. Rice, C. V., Phase-Transition Thermodynamics of N-Isopropylacrylamide Hydrogels. *Biomacromolecules* **2006**, 7, 2923-2925.
147. Burba, C.; Carter, S.; Meyer, K.; Rice, C., Salt Effects on Poly(N-isopropylacrylamide) Phase Transition Thermodynamics from NMR Spectroscopy. *J Phys Chem B* **2008**, 112, 10399–10404.
148. Pastoor, K. J.; Rice, C. V., Cation Effects on the Phase Transition of N-isopropylacrylamide Hydrogels. *Macromol Chem Phys* **2015**, 216 (9), 1024-1032.
149. Spěváček, J., NMR Investigations of Temperature-Induced Phase Transition in Aqueous Polymer Solutions. *Macromol Sy* **2011**, 305 (1), 18-25.
150. Spěváček, J.; Dybal, J., Temperature-Induced Phase Separation and Hydration in Aqueous Polymer Solutions Studied by NMR and IR Spectroscopy: Comparison of Poly(N-vinylcaprolactam) and Acrylamide-Based Polymers. *Macromol Sy* **2014**, 336 (1), 39-46.

-
151. Šťastná, J.; Hanyková, L.; Spěváček, J., NMR and DSC study of temperature-induced phase transition in aqueous solutions of poly(N-isopropylmethacrylamide-co-acrylamide) copolymers. *Colloid Polym Sci* **2012**, *290* (17), 1811-1817.
152. Kouřilová, H.; Šťastná, J.; Hanyková, L.; Sedláková, Z.; Spěváček, J., ¹H NMR study of temperature-induced phase separation in solutions of poly(N-isopropylmethacrylamide-co-acrylamide) copolymers. *Eur Polym J* **2010**, *46*, 1299-1306.
153. Kozhunova, E. Y.; Ji, Q.; Labuta, J.; Nasimova, I. R.; Makhaeva, E. E.; Ariga, K., ¹H NMR study of thermo-induced collapse of polyelectrolyte microgels. *Express Polym Lett* **2018**, *12* (11), 1005-1013.
154. Naghibi, H.; Tamura, A.; Sturtevant, J., Significant discrepancies between van't Hoff and calorimetric enthalpies. *Proc Natl Acad Sci USA* **1995**, *92*, 5597-5599.
155. Hentschel, L.; Hansen, J.; Egelhaaf, S. U.; Platten, F., The crystallization enthalpy and entropy of protein solutions: microcalorimetry, van't Hoff determination and linearized Poisson-Boltzmann model of tetragonal lysozyme crystals. *Phys Chem Chem Phys* **2021**, *23* (4), 2686-2696.
156. Sbeih, S.; Mohanty, P. S.; Yethiraj, A.; Morrow, M. R., (2)H NMR Study of Polymer Segmental Dynamics at Varying Cross-Linking in Poly(N-isopropylacrylamide) Microgels. *Langmuir* **2021**, *37* (46), 13664-13675.
157. Aguirre, G.; Khoukh, A.; Chougrani, K.; Alard, V.; Billon, L., Dual-responsive biocompatible microgels as high loaded cargo: understanding of encapsulation/release driving forces by NMR NOESY. *Polym Chem* **2018**, *9* (6), 757-768.
158. Möckl, L.; Lamb, D. C.; Bräuchle, C., Superhochauflösende Mikroskopie: Nobelpreis in Chemie 2014 für Eric Betzig, Stefan Hell und William E. Moerner. *Angew Chem* **2014**, *126* (51), 14192-14197.
159. Lelek, M.; Gyparakis, M. T.; Beliu, G.; Schueder, F.; Griffie, J.; Manley, S.; Jungmann, R.; Sauer, M.; Lakadamyali, M.; Zimmer, C., Single-molecule localization microscopy. *Nat Rev Methods Primers* **2021**, *1*.
160. Rust, M. J.; Bates, M.; Zhuang, X., Sub-diffraction-limit imaging by stochastic optical reconstruction microscopy (STORM). *Nat Methods* **2006**, *3* (10), 793-5.
161. Sharonov, A.; Hochstrasser, R. M., Wide-field subdiffraction imaging by accumulated binding of diffusing probes. *Proc Natl Acad Sci USA* **2006**, *103* (50), 18911-6.
162. Heilemann, M.; van de Linde, S.; Schuttpelz, M.; Kasper, R.; Seefeldt, B.; Mukherjee, A.; Tinnefeld, P.; Sauer, M., Subdiffraction-resolution fluorescence imaging with conventional fluorescent probes. *Angew Chem Int Ed Engl* **2008**, *47* (33), 6172-6.
163. Wöll, D.; Flors, C., Super-resolution Fluorescence Imaging for Materials Science. *Small Methods* **2017**, *1* (10).
164. Fan, S.; Webb, J. E. A.; Yang, Y.; Nieves, D. J.; Goncales, V. R.; Tran, J.; Hilzenrat, G.; Kahram, M.; Tilley, R. D.; Gaus, K.; Gooding, J. J., Observing the Reversible Single Molecule Electrochemistry of Alexa Fluor 647 Dyes by Total Internal Reflection Fluorescence Microscopy. *Angew Chem Int Ed Engl* **2019**, *58* (41), 14495-14498.
165. Tam, J.; Merino, D., Stochastic optical reconstruction microscopy (STORM) in comparison with stimulated emission depletion (STED) and other imaging methods. *J Neurochem* **2015**, *135* (4), 643-58.
166. Heilemann, M.; van de Linde, S.; Mukherjee, A.; Sauer, M., Super-resolution imaging with small organic fluorophores. *Angew Chem Int Ed Engl* **2009**, *48* (37), 6903-8.
-

167. Schnitzbauer, J.; Strauss, M. T.; Schlichthaerle, T.; Schueder, F.; Jungmann, R., Super-resolution microscopy with DNA-PAINT. *Nat Protoc* **2017**, 12 (6), 1198-1228.
168. Jungmann, R.; Steinhauer, C.; Scheible, M.; Kuzyk, A.; Tinnefeld, P.; Simmel, F. C., Single-molecule kinetics and super-resolution microscopy by fluorescence imaging of transient binding on DNA origami. *Nano Lett* **2010**, 10 (11), 4756-61.
169. Engman, K. C.; Sandin, P.; Osborne, S.; Brown, T.; Billeter, M.; Lincoln, P.; Norden, B.; Albinsson, B.; Wilhelmsson, L. M., DNA adopts normal B-form upon incorporation of highly fluorescent DNA base analogue tC: NMR structure and UV-Vis spectroscopy characterization. *Nucleic Acids Res* **2004**, 32 (17), 5087-95.
170. Wrede, O.; Bergmann, S.; Hannappel, Y.; Hellweg, T.; Huser, T., Smart microgels investigated by super-resolution fluorescence microscopy: influence of the monomer structure on the particle morphology. *Soft Matter* **2020**, 16 (34), 8078-8084.
171. Lehmann, S.; Seiffert, S.; Richtering, W., Diffusion of guest molecules within sensitive core-shell microgel carriers. *J Colloid Interface Sci* **2014**, 431, 204-8.
172. Conley, G. M.; Nöjd, S.; Braibanti, M.; Schurtenberger, P.; Scheffold, F., Superresolution microscopy of the volume phase transition of pNIPAM microgels. *Colloid Surface A* **2016**, 499, 18-23.
173. Manfrinato, V. R.; Stein, A.; Zhang, L.; Nam, C. Y.; Yager, K. G.; Stach, E. A.; Black, C. T., Aberration-Corrected Electron Beam Lithography at the One Nanometer Length Scale. *Nano Lett* **2017**, 17 (8), 4562-4567.
174. Lercel, M. J.; Craighead, H. G.; Parikh, A. N.; Seshadri, K.; Allara, D. L., Sub-10 nm lithography with self-assembled monolayers. *Appl Phys Lett* **1996**, 68, 1504.
175. Küller, A.; Eck, W.; Stadler, V.; Geyer, W.; Götzhäuser, A., Nanostructuring of silicon by electronbeam lithography of self-assembled hydroxybiphenyl monolayers. *Appl Phys Lett* **2003**, 82, 3776.
176. Harnett, C. K.; Satyalakshmi, K. M.; Craighead, H. G., Low-energy electron-beam patterning of amine-functionalized self-assembled monolayers. *Appl Phys Lett* **2000**, 76 (17), 2466-2468.
177. Zharnikov, M.; Grunze, M., Modification of thiol-derived self-assembling monolayers by electron and x-ray irradiation: Scientific and lithographic aspects. *J Vac Sci Technol B* **2002**, 20.
178. Zharnikov, M.; Geyer, W.; Götzhäuser, A.; Frey, S.; Grunze, M., Modification of alkanethiolate monolayers on Au-substrate by low energy electron irradiation : Alkyl chains and the S/Au interface. *Phys Chem Chem Phys* **1999**, 1, 3163-3171.
179. Clement, N.; Patriarche, G.; Smaali, K.; Vaurette, F.; Nishiguchi, K.; Troadec, D.; Fujiwara, A.; Vuillaume, D., Large array of sub-10-nm single-grain Au nanodots for use in nanotechnology. *Small* **2011**, 7 (18), 2607-13.
180. Gilles, S.; Winter, S.; Michael, K. E.; Meffert, S. H.; Li, P.; Greben, K.; Simon, U.; Offenhausser, A.; Mayer, D., Control of cell adhesion and neurite outgrowth by patterned gold nanoparticles with tunable attractive or repulsive surface properties. *Small* **2012**, 8 (21), 3357-67.
181. Schaal, P. A.; Besmehn, A.; Maynicke, E.; Noyong, M.; Beschoten, B.; Simon, U., Electrically conducting nanopatterns formed by chemical e-beam lithography via gold nanoparticle seeds. *Langmuir* **2012**, 28 (5), 2448-54.
182. Schaal, P. A.; Simon, U., Guided immobilisation of single gold nanoparticles by chemical electron beam lithography. *Beilstein J Nanotechnol* **2013**, 4, 336-44.
183. Beyer, A.; Godt, A.; Amin, I.; Nottbohm, C. T.; Schmidt, C.; Zhao, J.; Götzhauser, A., Fully cross-linked and chemically patterned self-assembled monolayers. *Phys Chem Chem Phys* **2008**, 10 (48), 7233-8.

-
184. Zandi Shafagh, R.; Vastesson, A.; Guo, W.; van der Wijngaart, W.; Haraldsson, T., E-Beam Nanostructuring and Direct Click Biofunctionalization of Thiol-Ene Resist. *ACS Nano* **2018**, *12* (10), 9940-9946.
185. Ismail, M.; Pastor, N.; Soler, E.; Soltani, A.; A., O., A Comparative Study on Surface Treatments in the Immobilization Improvement of Hexahistidine-tagged Protein on the Indium Tin Oxide Surface. *J Nanomed Nanotechnol* **2016**, *07* (02).
186. Lud, S. Q.; Nepl, S.; Richter, G.; Bruno, P.; Gruen, D. M.; Jordan, R.; Feulner, P.; Stutzmann, M.; Garrido, J. A., Controlling surface functionality through generation of thiol groups in a self-assembled monolayer. *Langmuir* **2010**, *26* (20), 15895-900.
187. Mendes, P.; Jacke, S.; Critchley, K.; Plaza, J.; Chen, Y.; Nikitin, K.; Palmer, R.; Preece, J.; Evans, S.; Fitzmaurice, D., Gold Nanoparticle Patterning of Silicon Wafers Using Chemical e-Beam Lithography. *Langmuir* **2004**, *20*, 3766-3768.
188. Dai, X.; Yang, W.; Firlar, E.; Marras, S. A. E.; Libera, M., Surface-patterned microgel-tethered molecular beacons. *Soft Matter* **2012**, *8* (11).
189. Horcas, I.; Fernandez, R.; Gomez-Rodriguez, J. M.; Colchero, J.; Gomez-Herrero, J.; Baro, A. M., WSxM 5.0 Develop 6.5. *Rev Sci Instrum* **2007**, *78*.
190. <https://www.thermofisher.com/de/de/home/life-science/cell-analysis/fluorophores/alexa-fluor-647.html>. (Zugriff: 03.11.2022; 12:00).
191. <https://www.atto-tec.com/ATTO-647N.html>. (Zugriff: 03.11.2022; 11:57).
192. Vázquez, E.; Dewitt, D.; Hammond, P.; Lynn, D., Construction of Hydrolytically-Degradable Thin Films via Layer-by-Layer Deposition of Degradable Polyelectrolytes. *J Am Chem Soc* **2002**, *124*, 13992-13993.
193. Zhang, J.; Chua, L.; Lynn, D., Multilayered Thin Films that Sustain the Release of Functional DNA under Physiological Conditions. *Langmuir* **2004**, *20*, 8015-8021.
194. Vihola, H.; Laukkanen, A.; Valtola, L.; Tenhu, H.; Hirvonen, J., Cytotoxicity of thermosensitive polymers poly(N-isopropylacrylamide), poly(N-vinylcaprolactam) and amphiphilically modified poly(N-vinylcaprolactam). *Biomaterials* **2005**, *26* (16), 3055-64.
195. Li, Z.; Richtering, W.; Ngai, T., Poly(N-isopropylacrylamide) microgels at the oil-water interface: temperature effect. *Soft Matter* **2014**, *10* (33), 6182-91.
196. Fernández-Nieves, A.; Fernández-Barbero, A.; Vincent, B.; de las Nieves, F. J., Reversible Aggregation of Soft Particles. *Langmuir* **2001**, *17*, 1841-1846.
197. Zhang, Y.; Furyk, S.; Bergbreiter, D.; Cremer, P., Specific Ion Effects on the Water Solubility of Macromolecules: PNIPAM and the Hofmeister Series. *J Am Chem Soc* **2005**, *127*, 14505-14510.
198. Ghosh, T.; Kalra, A.; Garde, S., On the Salt-Induced Stabilization of Pair and Many-body Hydrophobic Interactions. *J Phys Chem B* **2005**, *109*, 642-651.
199. Athawale, M.; Sarupria, S.; Garde, S., Enthalpy-Entropy Contributions to Salt and Osmolyte Effects on Molecular-Scale Hydrophobic Hydration and Interactions. *J Phys Chem B* **2008**, *112*, 5661-5670.
200. Thormann, E., On understanding of the Hofmeister effect: how addition of salt alters the stability of temperature responsive polymers in aqueous solutions. *RSC Advances* **2012**, *2* (22).
201. Cors, M.; Wiehemeier, L.; Wrede, O.; Feoktystov, A.; Cousin, F.; Hellweg, T.; Oberdisse, J., Contrast variation SANS measurement of shell monomer density profiles of smart core-shell microgels. *Soft Matter* **2020**, *16* (7), 1922-1930.
202. Postek, M. T.; Vladar, A. E.; Purushotham, K. P., Does your SEM really tell the truth? How would you know? Part 2. *Scanning* **2014**, *36* (3), 347-55.
-

203. Vldar, A.; Postek, M., Electron Beam-Induced Sample Contamination in the SEM. *Microsc Microanal* **2005**, *11* (S02).
204. Sullivan, N.; Mai, T.; Bowdoin, S.; Vane, R., A Study of the Effectiveness of the Removal of Hydrocarbon Contamination by Oxidative Cleaning Inside the Sem. *Microsc Microanal* **2002**, *8* (S02), 720-721.
205. Abbe, E., Beiträge zur Theorie des Mikroskops und der mikroskopischen Wahrnehmung. *Archiv für mikroskopische Anatomie* **1873**, *9*.
206. Spinney, P. S.; Howitt, D. G.; Smith, R. L.; Collins, S. D., Nanopore formation by low-energy focused electron beam machining. *Nanotechnology* **2010**, *21* (37), 375301.
207. Miyazoe, H.; Utke, I.; Michler, J.; Terashima, K., Controlled focused electron beam-induced etching for the fabrication of sub-beam-size nanoholes. *Appl Phys Lett* **2008**, *92*.
208. Sommer, B.; Sonntag, J.; Ganczarczyk, A.; Braam, D.; Prinz, G.; Lorke, A.; Geller, M., Electron-beam induced nano-etching of suspended graphene. *Sci Rep* **2015**, *5*, 7781.
209. Easton, B.; Nortcott, A. Sulfonates poly 2.(Phenyl ethyl) siloxane polymer electrolyte membranes. PCT/CA2009/000739, 2009.
210. Souada, M.; Louage, C.; Doisy, J.; Meunier, L.; Benderrag, A.; Ouddane, B.; Bellayer, S.; Nuns, N.; Traisnel, M.; Maschke, U., Extraction of indium-tin oxide from end-of-life LCD panels using ultrasound assisted acid leaching. *Ultrason Sonochem* **2018**, *40*, 929-936.

11 Publikationen

11.1 Veröffentlichungen

S. Eisold, L. Hoppe Alvarez, K. Ran, R. Hengsbach, G. Fink, S. Centeno Benigno, J. Mayer, D. Wöll, U. Simon, *Nanoscale*, 2021, 13, 2875-2882.

11.2 Konferenzbeiträge

R. Hengsbach, S. Eisold, L. Hoppe Alvarez, A. Oppermann, D. Wöll, U. Simon: A new multifunctional hybrid system formed through programmable binding of gold nanoparticles to thermoresponsive microgels via DNA hybridization (Poster)
GDCh-Wissenschaftsforum Chemie, 15.-18. September 2019, Aachen, Deutschland

P. Lenßen, R. Hengsbach, U. Simon, D. Wöll: Process towards microgel superstructures (Vortrag)
Virtual Symposium on Microgels, 30. September, 07. Oktober, 14. Oktober 2020, Online

P. Lenßen, D. Schöngen, R. Hengsbach, U. Simon, D. Wöll: Photolithographic Approach Towards Targeted Microgel Deposition (Interaktives Poster)
30th International Conference on Photochemistry 19.-23. Juli 2021, Online

R. Hengsbach, G. Fink, U. Simon: NMR investigations on the salt dependent volume phase transition of DNA-modified pNipmam microgels (Poster)
3rd International Summer School, 19.-22. September 2022, Monschau, Deutschland

P. Lenßen, R. Hengsbach, M. Noyong, U. Simon, D. Wöll: Photolithographic Approach Towards Targeted Microgel Deposition (Poster)
3rd International Summer School, 19.-22. September 2022, Monschau, Deutschland

P. Lenßen, R. Hengsbach, M. Noyong, U. Simon, D. Wöll: Photolithographic Approach Towards Targeted Microgel Deposition (Poster)
51. Hauptversammlung der Kolloid-Gesellschaft, 28.-30. September 2022, Berlin, Deutschland

12 Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle bei allen bedanken, die mich bei der wissenschaftlichen Arbeit und dem Verfassen dieser Arbeit unterstützt haben.

Bei Herrn Prof. Dr. Simon möchte ich mich für die Bereitstellung des interessanten Themas, die Möglichkeit dieses Thema selbstständig in seinem Arbeitskreis zu bearbeiten und die konstruktiven Gespräche bedanken.

Bei Herrn Prof. Dr. Wöll möchte ich mich für die Übernahme des Amtes als Zweitgutachter und für die gute Kooperation im Projekt A6 des SFB 985 bedanken.

Für die Finanzierung des Projektes A6 im Rahmen des SFB 985 bedanke ich mich bei der DFG.

Für die Kooperation innerhalb des Projektes A6 möchte ich mich zudem bei Pia Lenßen für zahlreiche Fluoreszenzmikroskopie-Messungen sowie die tolle Zusammenarbeit und die zahlreichen Diskussionen bedanken.

Bei Niklas Lothmann möchte ich mich für all die Mikrogel-Synthese sowie die Herstellung der ITO-Substrate bedanken.

Vielen Dank auch an Birgit Hahn für die REM-Messungen, Silanisierungen und Lithografie.

Bei Thorsten Ohlerth möchte ich mich für die TEM-Aufnahmen bedanken.

Bei Dr. Michael Noyong möchte ich mich für die Unterstützung über die gesamte Zeit sowie das Programmieren der Lithografiemuster und die Röntgenfluoreszenzanalyse bedanken. Vielen Dank auch für das Korrekturlesen dieser Arbeit.

Für die NMR-Messungen und Diskussion der Auswertung möchte ich mich herzlich bei Dr. Gerhard Fink bedanken.

Für die Unterstützung meiner Arbeit durch sein Forschungspraktikum und seine Hiwi-Tätigkeit möchte ich mich bei Ali Cetin bedanken.

Bei Claudia Klöser möchte ich mich für die Unterstützung bei allen administrativen Angelegenheiten bedanken.

Zudem möchte ich mich bei dem gesamten Arbeitskreis und insbesondere bei den Kollegen aus 208 Ahed Abousserie, Yannick Tschauder, Niklas Lothmann und 206 Anne Frommelius, Thorsten Ohlerth, Birgit Hahn, Kai Fries für die gemeinsame Zeit innerhalb und außerhalb des Instituts bedanken.

Besonderer Dank gilt meiner Familie und meinen Freunden, die mich während der gesamten Zeit stets unterstützt haben.

13 Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Hengsbach

Vorname: Rebecca

Geburtstag: 14.01.1993

Geburtsort: Mönchengladbach

Staatsangehörigkeit: Deutsch

Qualifikationen:

2012: Abitur, Maximilian-Kolbe-Gymnasium Wegberg

2012-2016: Chemie, Bachelor of Science, Universität Paderborn

2016-2018: Chemie, Master of Science, RWTH Aachen University

ab 2019: Promotion, RWTH Aachen University