

Zweifache, simultane Oberflächenmodifikation von dreidimensionalen Mikrostrukturen mittels Photochemie

Tanja K. Claus, Benjamin Richter, Vincent Hahn, Alexander Welle,* Sven Kayser, Martin Wegener, Martin Bastmeyer, Guillaume Delaittre* und Christopher Barner-Kowollik*

Abstract: In dieser Studie stellen wir eine effiziente Route für die gleichzeitige, zweifache Oberflächenfunktionalisierung von 2D- und 3D-Mikrostrukturen vor. Die Kombination aus einem auf Oligo(ethylenglycol) basierenden Netzwerk mit zwei neuartigen, synthetisch leicht zugänglichen Monomeren, die in der Seitenkette eine photochemische Funktionalität tragen, führt zu zwei neuen Photolacken, mit denen in einer Zwei-Photonen-Polymerisation Mikrostrukturen hergestellt werden können, die eine zweifach reaktive Oberfläche aufweisen. Indem beide funktionalen Photolacke in einer Struktur kombiniert werden, kann eine zweifache, nachträgliche Oberflächenfunktionalisierung in nur einem, globalen Belichtungsschritt erfolgen. Dies geschieht durch die geeignete Wahl der Reaktionspartner in einer Art Selbstorientierung. Die Vielseitigkeit des verfolgten Ansatzes wird durch doppelte Strukturierung der Oberfläche mittels halogenierter und fluoreszierender Moleküle sowie durch das Anbinden eines Proteins gezeigt. Zusätzlich stellen wir einen neuen Messmodus für das ToF-SIMS vor, der eine hohe Massenauflösung mit einer hohen lateralen Auflösung verknüpft, um die erhaltenen Mikrostrukturen optimal charakterisieren zu können.

Wohldefinierte zwei- und dreidimensionale (2D und 3D) Mikrostrukturen sind aufgrund ihrer vielfältigen Anwendungen in Gebieten wie der Nanophotonik,^[1] der Mikroelektronik^[2] und der Zellbiologie^[3] in den letzten Jahren immer mehr in den Fokus der Forschung gerückt. Damit einhergehend wurden diverse Techniken für die Herstellung

und Strukturierung solcher Nano- oder Mikrostrukturen sowohl auf 2D-Substraten als auch im 3D-Raum entwickelt und verfeinert. Einige Beispiele dieser Entwicklung sind die chemische Gasphasenabscheidung,^[4] das Mikrokontaktstempelverfahren,^[5] die Ionenstrahlolithographie,^[6] „weiche“ Lithographie,^[7] Photolithographie^[8] und das Direkte Laserschreiben (DLW)^[9] als eine der vielseitigsten Techniken. DLW beruht auf einer laserinduzierten Zweiphotonenabsorption, die den Zerfall eines radikalischen Photoinitiators bedingt, wodurch eine Kettenwachstumspolymerisation von multifunktionellen (Meth)acrylaten ausgelöst wird. Durch das über den Laserfokus räumlich kontrollierte Reaktionsvolumen erfolgt die Netzwerkbildung ausschließlich im „belichteten“ Bereich, was die Herstellung von hochentwickelten Objekten wie photonischen Kristallen,^[10] Lichtwellenleitersystemen,^[11] Chip-Laboren^[12] oder Gerüsten zur gezielten Zellanbindung^[13] ermöglicht. Der momentane Fokus der DLW-Forschung liegt hauptsächlich auf der Verbesserung der lateralen Auflösung der Strukturen^[14] und der Schreibgeschwindigkeit,^[15] wohingegen nur wenige Studien existieren, die sich mit der chemischen Diversität oder der Oberflächenfunktionalisierung solcher Mikrostrukturen beschäftigen. Eine mögliche Methode zur nachträglichen Funktionalisierung von Oberflächen ist die Beschichtung mit reaktiven Substanzen, die wiederum in einem zweiten Schritt in einer (möglichst effizienten) Reaktion mit dem gewünschten Substrat funktionalisiert werden können. Unsere Arbeitsgruppe konnte in den letzten Jahren mehrere solcher effizienter,

[*] T. K. Claus, Dr. A. Welle, Dr. G. Delaittre, Prof. Dr. C. Barner-Kowollik
Präparative Makromolekulare Chemie, Institut für Technische Chemie und Polymerchemie
Karlsruher Institut für Technologie (KIT)
Engesserstraße 18, 76131 Karlsruhe (Deutschland)
E-Mail: alexander.welle@kit.edu
guillaume.delaittre@kit.edu
christopher.barner-kowollik@kit.edu
Homepage: <http://www.macroarc.de>
T. K. Claus, Dr. A. Welle, Prof. Dr. C. Barner-Kowollik
Institut für Biologische Grenzflächen (IBG)
Karlsruher Institut für Technologie (KIT)
Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen (Deutschland)
Dr. B. Richter, Prof. Dr. M. Bastmeyer
Zell- und Neurobiologie, Zoologisches Institut
Karlsruher Institut für Technologie (KIT)
Haid-und-Neu-Straße 9, 76131 Karlsruhe (Deutschland)

S. Kayser
ION-TOF GmbH
Heisenbergstraße 15, 48149 Münster (Deutschland)
V. Hahn, Prof. Dr. M. Wegener
Institut für Angewandte Physik und Institut für Nanotechnologie
Karlsruher Institut für Technologie (KIT)
Wolfgang-Gaede-Straße 1, 76131 Karlsruhe (Deutschland)
Prof. Dr. M. Bastmeyer
Institut für Funktionelle Grenzflächen (IFG)
Karlsruher Institut für Technologie (KIT)
Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen (Deutschland)
Dr. G. Delaittre
Institut für Toxikologie und Genetik (ITG)
Karlsruher Institut für Technologie (KIT)
Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen (Deutschland)

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201509937> zu finden.

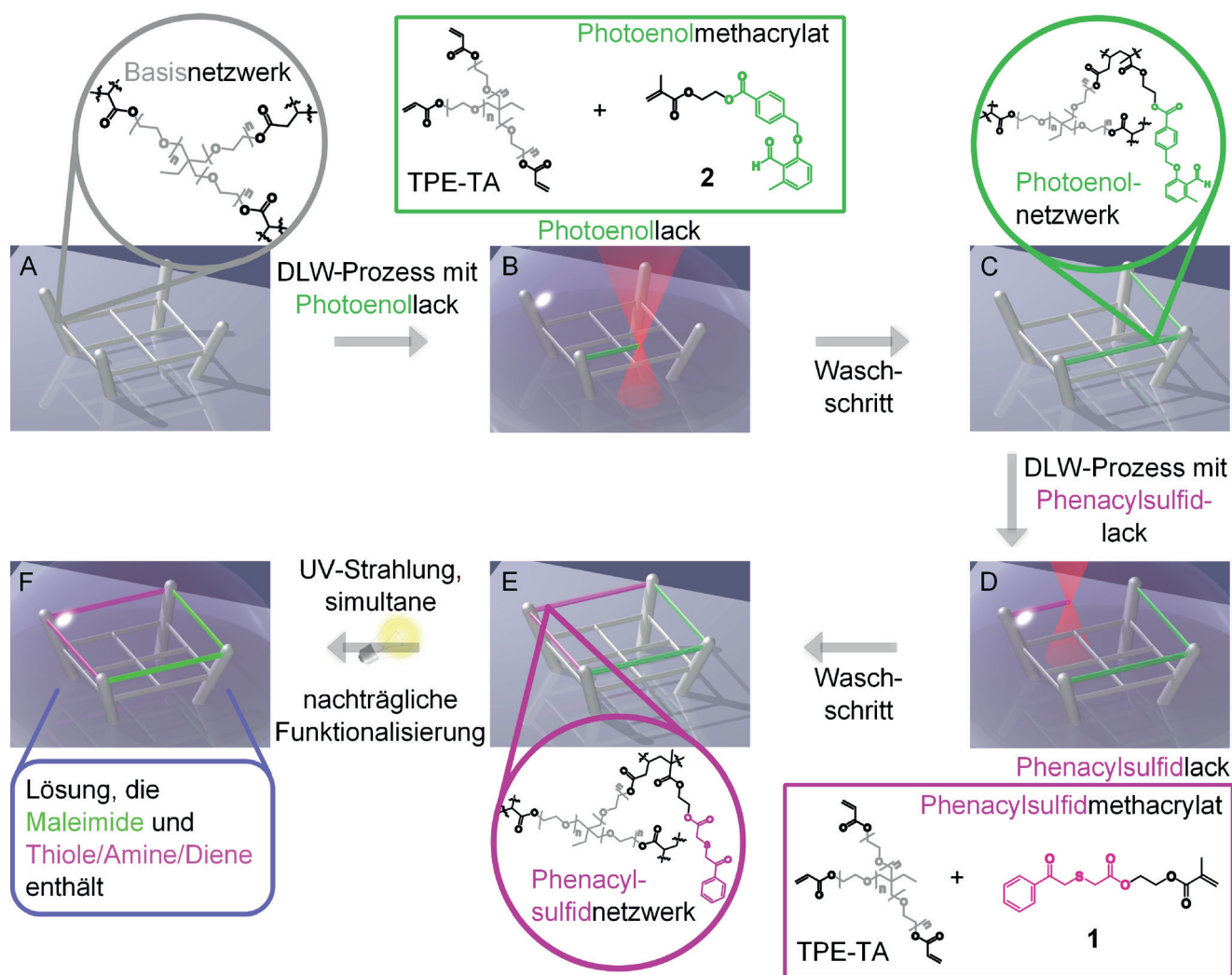
zweistufiger Beschichtungs- und Funktionalisierungsmethoden entwickeln. Durch die Kombination von Oberflächenankergruppen wie Silane oder (Poly)dopamin mit funktionellen Gruppen, die eine lichtinduzierte Reaktion erlauben, konnten die Oberflächeneigenschaften von 2D-Substraten sowohl räumlich als auch zeitlich kontrolliert werden.^[16] Zudem wurden einige Fortschritte auf dem Gebiet der Oberflächenstrukturierung von 3D-Strukturen erzielt, indem die lichtaktivierbare Diels-Alder-Reaktion von *o*-Chinodimethanen auf DLW-Strukturen angewendet werden konnte.^[17] Diese mehrstufigen Prozesse sind jedoch sehr zeitaufwändig und benötigen insbesondere in der 3D-Ausführung einen experimentellen Laseraufbau zur Durchführung der lichtinduzierten Photoreaktion.

Eine weitere Methode, um DLW-Strukturen nachträglich zu funktionalisieren, besteht darin, die chemische Zusammensetzung des Gerüsts an sich zu variieren, um nach dem Schreibprozess chemisch adressierbare Gruppen an der Oberfläche zu erhalten.^[18] In einem beispielhaften Ansatz konnte so die Struktur mittels einem multifunktionalen Thiol in Kombination mit einem Vinylether-Linker über eine Thiol-En-Polymerisation aufgebaut werden. Die Reaktion lässt Thiolgruppen an der Oberfläche des Gerüsts zurück, die z. B. in einer Thiol-Michael-Reaktion mit Maleimiden reagieren können.^[18a] Die Nachteile dieser Methode liegen jedoch in der fehlenden Ortsauflösung auf der Oberfläche sowie wiederum in der Notwendigkeit eines experimentellen Laseraufbaus, um die Strukturen überhaupt zu generieren. Um nun diese vielfältigen Nachteile zu umgehen, wurden in der vorliegenden Studie neuartige Photolacke entwickelt, die die folgenden Bedingungen erfüllen: 1) Für die Anwendbarkeit in kommerziellen DLW-Systemen musste es sich um einen Lack mit Monomeren auf (Meth)acrylat-Basis handeln, 2) diese Monomere sollten funktionelle Gruppen tragen, die während des Schreibprozesses intakt bleiben, und 3) die funktionellen Gruppen sollten eine orthogonale Reaktionsführung und damit verbunden eine Ortsauflösung ermöglichen. Tatsächlich ist es uns durch die Kombination von zwei funktionalen Photolacken in einer Struktur gelungen, multiple, simultan orthogonale Oberflächenfunktionalisierungen von 3D-Mikrostrukturen durchzuführen. Durch geschicktes Design der reaktiven Gruppen konnte so auch ein großer Fortschritt auf dem Gebiet der ortsauflösten, simultan orthogonalen Oberflächenfunktionalisierung von 2D-Substraten erreicht werden.^[19] Hierzu wurden zwei neue funktionelle Monomere auf Methacrylatbasis synthetisiert, die der Einfachheit halber direkt in einen Basislack bestehend aus kommerziell erhältlichen Komponenten gemischt wurden. Der Basislack besteht aus einem trifunktionalen acrylischen Netzwerkbildner (TPE-TA) und einem Photoinitiator (Irgacure 369) (Schema 1). Diese Mischungen, die sogenannten funktionellen Lacke, ermöglichen das Schreiben von Mikrostrukturen, die direkt funktionelle Gruppen an der Oberfläche aufweisen, wodurch eine nachträgliche Beschichtung der Strukturen obsolet wird. Als funktionelle Gruppen wurden zwei bekannte photochemische Struktur motive gewählt: das Phenacylsulfid^[20] und das Photoenol.^[21] Ersteres bildet nach Photolyse Thioaldehyde, die nachfolgend mit Nukleophilen wie Aminen, Hydroxylaminen, Thiolen oder Nitriloxiden

reagieren^[22] oder Cycloadditionen mit entsprechenden Dienen eingehen können.^[23] Photoenole hingegen bilden bei der Belichtung mit UV-Strahlung ein Gleichgewicht mit einer Dienspezies aus, die ebenso in Cycloadditionen (Diels-Alder-Reaktionen) reagieren kann. Diese beiden funktionellen Gruppen wurden aufgrund folgender Kriterien gewählt: 1) Sie sind mit dem gewählten, kommerziellen DLW-Aufbau (Nanoscribe) kompatibel (d. h. die photoreaktiven Gruppen bleiben während des Schreibprozesses intakt), 2) die nachfolgenden UV-aktivierten Photoreaktionen verlaufen schnell und effizient und 3) sie erlauben ein gewisses Maß an chemischer Orthogonalität^[24] (d. h. die gewählte Kombination ermöglicht eine simultane, zweifache Nachfunktionalisierung).

Schema 1 zeigt die neuen Monomere und die Entstehung der funktionellen Lacke. Durch das Mischen von Phenacylsulfidmethacrylat (**1**) mit dem Basislack wird der sogenannte Phenacylsulfidlack (PS-Lack) erhalten. Analog wird durch Zufügen des Photoenolmethacrylats (**2**) zum Basislack der funktionelle Photoenollack (PE-Lack) erhalten. Der Basislack wurde in anschließenden Versuchen als Gegenstück zu den beiden photoreaktiven Lacken als Gerüstbildner bzw. zu Kontrollzwecken verwendet. Als Mikrostrukturen wurden in der vorliegenden Studie Schachbrett- sowie Boxring-artige Struktur motive ausgewählt, um unsere Strategie sowohl in 2D als auch in 3D zu demonstrieren. Der Herstellungsprozess einer zweifach reaktiven Boxring-artigen Struktur ist in Schema 1 exemplarisch dargestellt. Zuerst wird das Grundgerüst der Struktur in einem DLW-Prozess mit dem Basislack auf ein Glasplättchen geschrieben. Um eine kovalente Anbindung der Strukturen auf der Glasoberfläche zu erreichen, wurden diese vorhergehend mit 3-(Trimethoxysilyl)propylmethacrylat silanisiert. Nach dem Entwickeln (Wegwaschen von überflüssigem, nicht umgesetzttem Material) wird so das Grundgerüst erhalten (siehe Schema 1A). Nun werden nachfolgend die photoreaktiven Lacke in gleicher Weise in zwei aufeinanderfolgenden DLW-Prozessen genutzt, um die noch fehlenden Teile der Struktur zu erzeugen, in diesem Fall die „Seile“ des Boxrings (Schema 1B–E). Hierbei ist die Reihenfolge, in der die funktionellen Photolacke eingesetzt werden, beliebig. Obwohl durch den Einbau eines monofunktionalen Monomers der Vernetzungsgrad der funktionalen Netzwerke im Vergleich zum Basisnetzwerk herabgesetzt wird, weisen sie dennoch genügend mechanische Stabilität auf, um solch kleine Gefüge wie die „Seile“ zu erzeugen. Rasterelektronenmikroskopische (REM) Aufnahmen der erhaltenen Mikrostrukturen sind in Abbildung 1 dargestellt. Es ist deutlich zu erkennen, dass scharf umrissene Mikrogerüste mit homogener Oberflächenbeschaffenheit erhalten wurden. Im nächsten Schritt wurde nun die Photoreaktivität der Mikrostrukturen untersucht. Hierzu wurde ein Tropfen einer Reaktionslösung mit geeigneten Reaktionspartnern (Details zu den Photoreaktionen und eingesetzten Reaktionspartnern siehe Schema 2) auf die Glasplättchen mit den fertigen Mikrostrukturen gegeben. Anschließend wurden die Plättchen 30 min mit einer handelsüblichen Breitband-UV-Lampe bestrahlt (siehe Schema 1F).

Die so funktionalisierten Gerüste wurden anschließend per Sekundärionen-Flugzeitmassenspektrometrie (ToF-

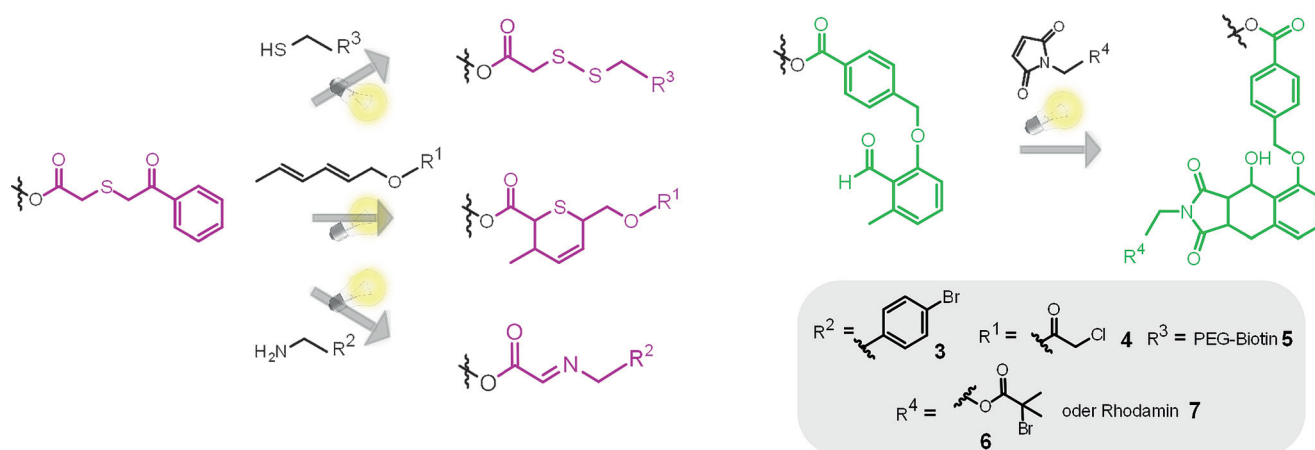


Schema 1. Übersicht über die Probenbereitung und die Chemie der eingesetzten Lacke. A) Grundgerüst bestehend aus reinem TPE-TA-Monomer, das mithilfe eines Photoinitiators im ersten DLW-Prozess geschrieben wurde (nicht abgebildet). B,C) Zweiter DLW-Schritt mit dem ersten funktionalen Lack (hier der Photoenollack, der zu einem Photoenolnetzwerk führt), um den nächsten Teil der Struktur aufzubauen. D,E) Dritter DLW-Prozess mit dem zweiten funktionalen Lack (hier der Phenacylsulfidlack, der zu einem Phenacylsulfidhaltigen Netzwerk führt), um einen dritten Teil der Struktur aufzubauen. F) Nachträgliche Funktionalisierung der fertigen Mikrostruktur, die nun aus drei verschiedenen Netzwerken besteht. Ein Tropfen einer Lösung aus funktionalen Maleimiden und Thiol-, Amin- oder Dien-funktionalisierten Molekülen wird auf das Gerüst gegeben und dieses global mit UV-Licht bestrahlt.

SIMS) charakterisiert, um den Erfolg der Photoreaktionen orts aufgelöst sichtbar zu machen. Hierbei wurde erstmals eine neue Messmethode, die verzögerte Extraktion, eingesetzt, um sowohl hohe laterale Auflösung als auch hohe Massenaufklärung zu erreichen. Die verzögerte Extraktion ermöglicht eine Massenaufklärung von $m/\Delta m$ zwischen 4000 und 5000 und eine laterale Auflösung von 150 nm (Details zu dieser neuenToF-SIMS-Methode finden sich in den Hintergrundinformationen). Um die Messungen zu erleichtern, wurden halogenierte Reaktionspartner gewählt (siehe Schema 2). So wurde für die Reaktion mit dem aus Phenacylsulfid bei Bestrahlung mit UV-Licht gebildeten Thioaldehyd eine bromierte Aminspezies (Amin-Br **6**) für den nukleophilen Reaktionsweg und eine chlorierte Dienspezies (Dien-Cl **4**) für eine Hetero-Diels-Alder-Konjugation einge-

setzt. Zusätzlich wurde für die Reaktion mit der Dienspezies, die bei UV-Bestrahlung aus dem Photoenol gebildet wird, ein bromiertes Maleimid (Mal-Br **6**) als En-Spezies ausgewählt. Wie oben erwähnt, ermöglicht der gleichzeitige Einsatz einer Dien- und einer En-Spezies als Reaktionspartner für Phenacylsulfid bzw. Photoenol eine simultane, zweifache Oberflächenstrukturierung.

Eine Zusammenfassung derToF-SIMS-Ergebnisse der lichtinduzierten Oberflächenreaktionen sowohl im 2D (Schachbretter) als auch im 3D (Boxringe) ist in Abbildung 2 zu sehen. Die Summen der charakteristischen Fragmente sind in den farbigen Überlappbildern dargestellt (die Abbildungen der einzelnen Fragment-Ionen finden sich in den Hintergrundinformationen). Als erstes wurden Strukturen untersucht, die nur mit einem funktionalen Photolack ge-



Schema 2. Übersicht über die eingesetzte Photochemie und die verwendeten funktionalen Moleküle (3–7). Links: Das Phenacylsulfid kann unter UV-Bestrahlung mit einem Thiol, einem Amin oder einem Dien reagieren. Rechts: Die Reaktion des Photoenols mit Maleimiden bei Bestrahlung mit UV-Licht.

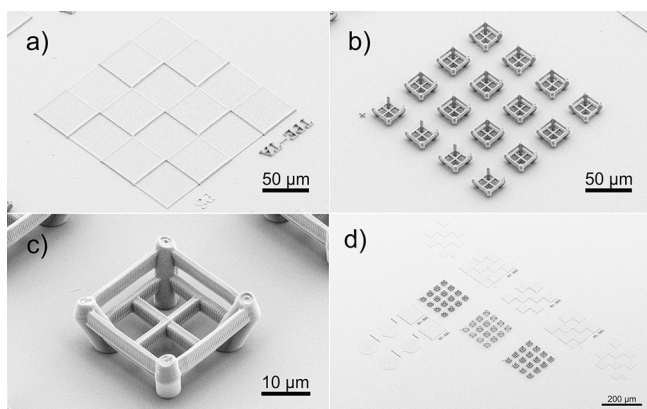


Abbildung 1. REM-Aufnahmen der mittels DLW erhaltenen Mikrostrukturen: a) Schachbrett, das aus zwei verschiedenen Lacken besteht (TPE-TA- und PS-Lack); b) Übersicht über ein Raster aus Boxring-artigen 3D-Gerüsten; c) Nahaufnahme eines Boxrings; d) Übersicht über eine komplette Probe mit Schachbrett- und Boxingrastern.

schrieben wurden (siehe die ersten drei Spalten von links), bevor beide funktionale Lacke in einer Struktur kombiniert wurden (siehe Spalte ganz rechts).

Die ersten zwei Spalten (Abbildung 2a–d) zeigen die Ergebnisse für Strukturen, bei denen der reaktive Phenacylsulfidlack mit dem Basislack kombiniert wurde, der keine Photoreaktivität aufweist. Für die Abbildungen 2a und 2b wurde Amin-Br (3), für die Abbildungen 2c und 2d Dien-Cl (4) als Reaktionspartner eingesetzt. Klar strukturierte orangefarbene Stellen entsprechen auf der Oberfläche lokalisierten bromierten bzw. chlorierten Molekülen (roter Kanal), neben grünen Stellen, die PEG-Fragmenten entsprechen (grüner Kanal, C₂HO). Die Glasoberfläche ist auf den Abbildungen als blauer Hintergrund zu erkennen (blauer Kanal, SiO₂ und SiO₃H).

Die dritte Spalte (Abbildungen 2e,f) zeigt die Ergebnisse für den Photoenollack in Kombination mit dem Basislack. In diesem Fall wurde Mal-Br (6) als Reaktionspartner eingesetzt

und es konnte, nach der Belichtung mit UV-Licht, ebenfalls eine klar strukturierte Oberflächenfunktionalisierung in 2D (Br gelb, PEG rot) sowie auf den 3D-Boxrängen erreicht werden (Br hellgrün, PEG rot). Wichtig hierbei ist, dass in den Bereichen des Basislacks keinerlei Halogenfragmente auf der Oberfläche detektiert werden konnten (siehe Bilder der Einzelionenfragmente, Abbildungen S9 und S10 in den Hintergrundinformationen).

Schließlich wurden beide photoreaktiven Lacke in eine Mikrostruktur geschrieben, um Strukturen zu erhalten, die sowohl die Reaktivität des Phenacylsulfids als auch die Reaktivität des Photoenols aufweisen. Dies ermöglicht eine duale Oberflächenstrukturierung mittels zwei simultaner Diels-Alder-Reaktionen (siehe Abbildungen 2g,h). In einer Eintopfreaktion mit Dien-Cl (4) und Mal-Br (6) wurde eine duale Strukturierung der Oberfläche mit Chlor (rot) und Brom (grün) erhalten. Abgesehen vom Erfolg der chemischen Experimente kann man anhand der Abbildungen das Potential der neuen verzögerten Extraktion im ToF-SIMS erkennen, die es ermöglicht, die feine Strukturierung der 3D-Gerüste sichtbar zu machen. Ebenso interessant ist, dass die Signalintensität der Halogenfragmente (z.B. Brom) sehr schnell abnimmt, wenn eine bestimmte Position der Probe länger dem Primärionenstrahl während der ToF-SIMS-Analyse ausgesetzt ist. Dies lässt den Schluss zu, dass die Funktionalisierung der Strukturen mittels Photochemie tatsächlich nur an der Oberfläche stattfindet (in einer wenige nm dicken Schicht) und nicht auch innerhalb der Netzwerke.

Um das Potential des entwickelten Systems noch weiter zu untersuchen, wurden Farbstoffe und Proteine auf der Oberfläche immobilisiert und die so funktionalisierten Proben mittels konfokaler Fluoreszenzmikroskopie charakterisiert. Zu diesem Zweck wurde ein Maleimid-funktionalisiertes Rhodaminderivat (Mal-Rhod, 7) für die Funktionalisierung der Photoenollack-Stellen sowie ein PEG-Biotin-Thiolderivat (Biotin-PEG-SH, 5) als Reaktionspartner für die mit dem Phenacylsulfidlack geschriebenen Stellen eingesetzt (nukleophiler Reaktionsweg des Thioaldehyds, Ausbildung einer Disulfidbrücke, siehe Schema 2). Die mit Biotin funk-

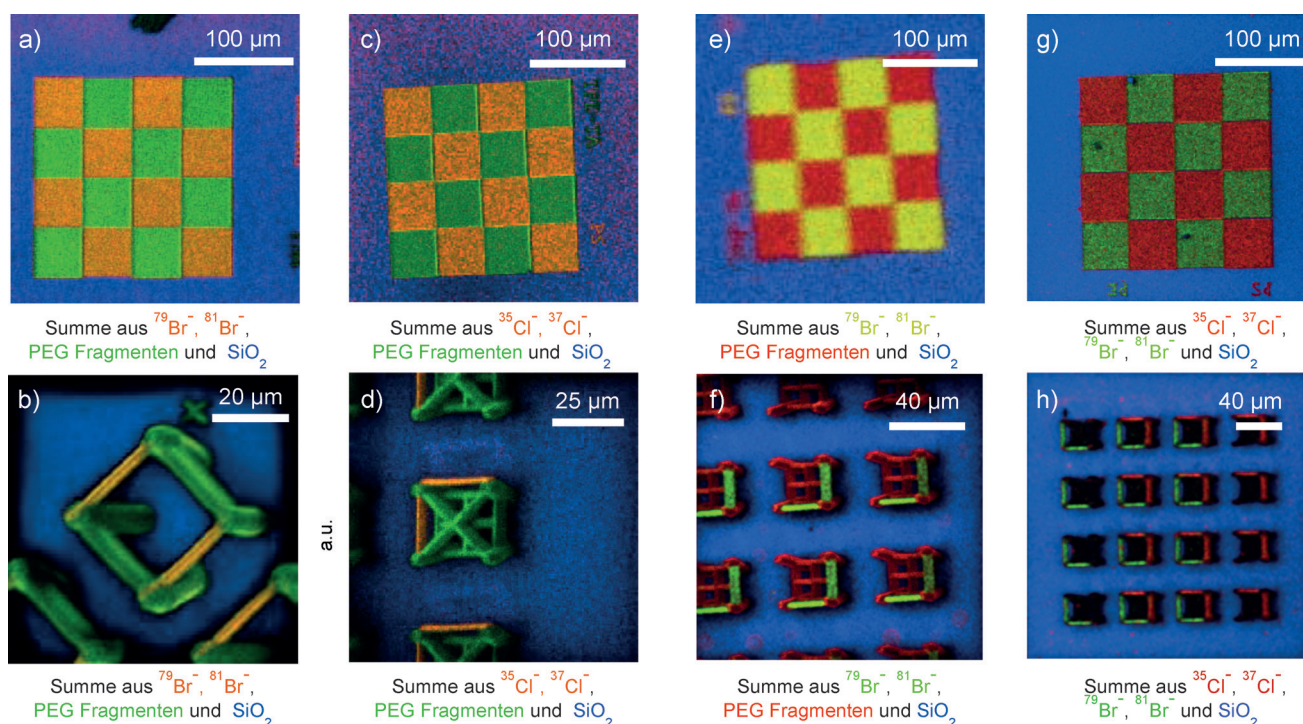


Abbildung 2. ToF-SIMS-Ionenfragmentbilder erhalten nach der lichtinduzierten Funktionalisierung der DLW-Strukturen mit halogenierten Molekülen. Die obere Reihe zeigt Schachbrettstrukturen, die jeweils aus zwei Lacken bestehen, während die untere Reihe 3D-Boxringe zeigt, die jeweils aus dem Basislack plus einem oder beiden funktionalen Lacken aufgebaut sind. a,b) Phenacylsulfidlack und Basislack funktionalisiert mit Amin-Br (3); c,d) Phenacylsulfidlack und Basislack funktionalisiert mit Dien-Cl (4); e) aufgenommen im Bunch-Modus, siehe Hintergrundinformationen; f) Photoenollack und Basislack funktionalisiert mit Mal-Br (6); g,h) Phenacylsulfidlack und Photoenollack gleichzeitig funktionalisiert mit 4 und 6.

tionalisierten Bereiche konnten nach der Photoreaktion mit einem fluoreszierenden Streptavidin-Konjugat (Sav-647, Details siehe Hintergrundinformationen) eingefärbt werden. Die aus dem Versuch resultierenden Fluoreszenzmikroskop-aufnahmen sind in Abbildung 3 dargestellt. Ähnlich wie auf den ToF-SIMS-Abbildungen ist auch hier eine deutliche Strukturierung in der Fluoreszenz sowohl auf den 2D-Schachbrettern (Abbildung 3a) als auch im 3D auf den „Seilen“ der Boxringstrukturen (Abbildung 3b) sichtbar. Dies belegt erneut die erfolgreiche Oberflächenfunktionalisierung mittels zwei simultaner lichtinduzierter Reaktionen. Um eine noch überzeugendere 3D-Ansicht der funktionalisierten Strukturen zu erhalten, wurde aus den konfokalen Fluoreszenzbildern eine 3D-Rekonstruktion der Boxringe (siehe Abbildung 3c) erstellt. Des Weiteren konnte in einem Kontrollexperiment der proteinabweisende Charakter der eingesetzten Lacke demonstriert werden. Dazu wurde die Probe analog zu der in Abbildung 3 gezeigten Probe hergestellt, jedoch ohne die Probe zu belichten. Die Ergebnisse (siehe Abbildung S16) zeigen lediglich eine Fluoreszenz des auf der Glasoberfläche adsorbierten SAV-647. Es konnte keine Fluoreszenz auf den neu entwickelten Lacken nachgewiesen werden, was auf einen proteinabweisenden Charakter hindeutet. Dies erlaubt es, die neuen Photolacke zukünftig in weiteren Experimenten zur orts aufgelösten Oberflächenfunktionalisierung von Proteinen einzusetzen.

Zusammenfassend haben wir hochentwickelte 2D- und 3D-Mikrogerüste mittels DLW hergestellt, die dank neuartiger Lacke Photoreaktivität aufweisen. Die eingesetzten

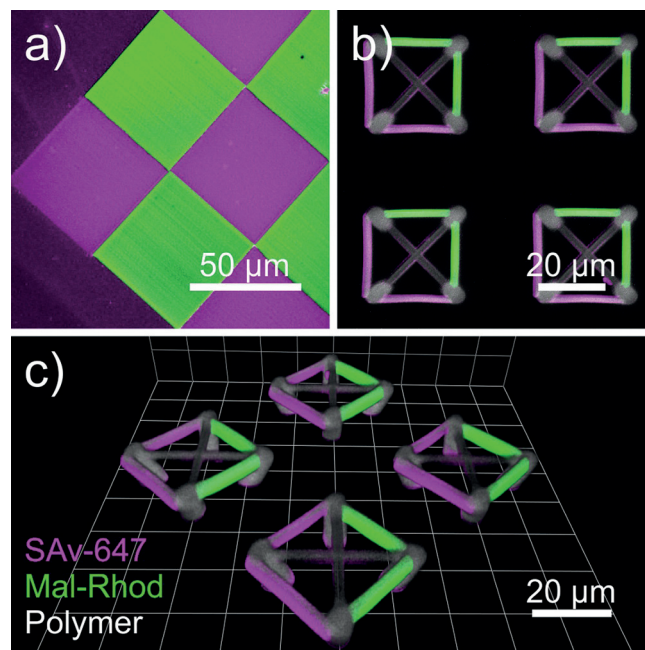


Abbildung 3. Konfokale Fluoreszenzmikroskopaufnahmen einer zweifach funktionalisierten Probe. Der PS-Lack wurde mit einem Biotin-PEG-SH funktionalisiert, der nachträglich mit vSAV-647 angefärbt wurde (pink); der PE-Lack wurde mit Mal-Rhod funktionalisiert (grün). Grau: Autofluoreszenz des Basislacks (Polymer). a) Überlagerung einer Aufnahme eines 2D-Schachbretts; b) Überlagerung einer Aufnahme eines 3D-Boxrings; c) 3D-Rekonstruktion aus den konfokalen Fluoreszenzaufnahmen der zweifach funktionalisierten Boxringe. Siehe Abbildung S15 für Einzelkanalaufnahmen.

photochemischen Gruppen sind zum DLW-Prozess orthogonal und können dadurch in nachfolgenden Photoreaktionen eingesetzt werden, um so die Oberfläche der erzeugten Mikrostrukturen gezielt zu funktionalisieren. Die einfache Kombination aus kommerziell erhältlichen Substanzen mit einem der neu entwickelten, synthetisch leicht zugänglichen photoreaktiven Methacrylatmonomere führt zu zwei unterschiedlich reaktiven Photolacken, die die Herstellung von mechanisch stabilen, proteinabweisenden, mikrometergroßen Gerüsten erlauben. Darüber hinaus lassen sich diese Strukturen simultan, in einer Art orthogonaler Oberflächenreaktion, mittels einer einfachen, klassischen UV-Bestrahlung mit verschiedensten Molekülen (z. B. halogenierten Molekülen, Fluoreszenzfarbstoffen oder auch Proteinen) umsetzen. Unsere hier gezeigten Mikrostrukturen bieten damit ein großes Potential für zukünftige Anwendungen, z. B. für eine gezielte Zellanbindung auf 3D-Mikrogerüsten.

Danksagung

C.B.-K., M.B. und G.D. danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) für finanzielle Unterstützung, Dr. Michael Bruns (KIT) für ToF-SIMS-Messungen und Johannes Kaschke (KIT) für die REM-Bilder. G.D. dankt dem Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) für finanzielle Unterstützung. C.B.-K. und M.B. danken dem BIFTM-Program der Helmholtz-Gesellschaft für kontinuierliche Förderung.

Stichwörter: Cycloaddition · Direktes Laserschreiben · Mikrostrukturen · Oberflächenfunktionalisierung · Photochemie

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, 55, 3817–3822
Angew. Chem. **2016**, 128, 3882–3887

- [1] F. Xia, H. Wang, D. Xiao, M. Dubey, A. Ramasubramaniam, *Nat. Photonics* **2014**, 8, 899–907.
- [2] a) K. Maex, M. R. Baklanov, D. Shamiryan, F. Lacopi, S. H. Brongersma, Z. S. Yanovitskaya, *J. Appl. Phys.* **2003**, 93, 8793; b) C. X. J. Liu, X. Dai, L. Jin, W. Zhou, C. M. Lieber, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2013**, 110, 6694–6699.
- [3] a) A. M. Greiner, B. Richter, M. Bastmeyer, *Macromol. Biosci.* **2012**, 12, 1301–1314; b) C. A. Deforest, K. S. Anseth, *Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng.* **2012**, 3, 421–444.
- [4] O. L. M. C. Wanke, K. Mueller, Q. Wen, M. Stuke, *Science* **1997**, 275, 1284–1286.
- [5] C. Wendeln, B. J. Ravoo, *Langmuir* **2012**, 28, 5527–5538.
- [6] Y. Chen, A. Pépin, *Electrophoresis* **2001**, 22, 187–207.
- [7] Y. Xia, G. M. Whitesides, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 550–575; *Angew. Chem.* **1998**, 110, 568–594.
- [8] J. T. Fourkas, J. S. Petersen, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, 16, 8731–8750.
- [9] a) C. N. Lafratta, J. T. Fourkas, T. Baldacchini, R. A. Farrer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 6238–6258; *Angew. Chem.* **2007**, 119, 6352–6374; b) S. Maruo, J. T. Fourkas, *Laser Photonics Rev.* **2008**, 2, 100–111; c) M. Deubel, G. Von Freymann, M. Wegener, S. Pereira, K. Busch, C. M. Soukoulis, *Nat. Mater.* **2004**, 3, 444–447.
- [10] K. K. Seet, V. Mizeikis, S. Matsuo, S. Juodkazis, H. Misawa, *Adv. Mater.* **2005**, 17, 541–545.
- [11] S. P. Klein, A. Barsella, H. Leblond, H. Bulou, A. Fort, C. Andraud, G. Lemerrier, J. C. Mulatier, K. Dorkenoo, *Appl. Phys. Lett.* **2005**, 86, 211118.
- [12] B. B. Xu, Y. L. Zhang, H. Xia, W. F. Dong, H. Ding, H. B. Sun, *Lab on a Chip* **2013**, 13, 1677–1690.
- [13] a) F. Klein, T. Striebel, J. Fischer, Z. Jiang, C. M. Franz, G. Von Freymann, M. Wegener, M. Bastmeyer, *Adv. Mater.* **2010**, 22, 868–871; b) F. Klein, B. Richter, T. Striebel, C. M. Franz, G. Von Freymann, M. Wegener, M. Bastmeyer, *Adv. Mater.* **2011**, 23, 1341–1345.
- [14] L. Li, R. R. Gattass, E. Gershgoren, H. Hwang, J. T. Fourkas, *Science* **2009**, 324, 910–913.
- [15] J. R. Tumbleston, D. Shirvanyants, N. Ermoshkin, R. Januszewicz, A. R. Johnson, D. Kelly, K. Chen, R. Pinschmidt, J. P. Rolland, A. Ermoshkin, E. T. Samulski, J. M. Desimone, *Science* **2015**, 347, 1349.
- [16] a) T. Pauloehr, G. Delaitre, V. Winkler, A. Welle, M. Bruns, H. G. Börner, A. M. Greiner, M. Bastmeyer, C. Barner-Kowollik, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 1071–1074; *Angew. Chem.* **2012**, 124, 1096–1099; b) T. Pauloehr, G. Delaitre, M. Bruns, M. Meißler, H. G. Börner, M. Bastmeyer, C. Barner-Kowollik, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 9181–9184; *Angew. Chem.* **2012**, 124, 9316–9319; c) T. Pauloehr, A. Welle, M. Bruns, K. Linkert, H. G. Börner, M. Bastmeyer, G. Delaitre, C. Barner-Kowollik, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 9714–9718; *Angew. Chem.* **2013**, 125, 9896–9900; d) T. Pauloehr, A. Welle, K. K. Oehlenschlaeger, C. Barner-Kowollik, *Chem. Sci.* **2013**, 4, 3503–3507; e) C. M. Preuss, T. Tischer, C. Rodriguez-Emmenegger, M. M. Zieger, M. Bruns, A. S. Goldmann, C. Barner-Kowollik, *J. Mater. Chem. B* **2014**, 2, 36–40; f) G. Delaitre, A. S. Goldmann, J. O. Mueller, C. Barner-Kowollik, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, 54, 11388–11403; *Angew. Chem.* **2015**, 127, 11548–11564.
- [17] B. Richter, T. Pauloehr, J. Kaschke, D. Fichtner, J. Fischer, A. M. Greiner, D. Wedlich, M. Wegener, G. Delaitre, C. Barner-Kowollik, M. Bastmeyer, *Adv. Mater.* **2013**, 25, 6117–6122.
- [18] a) A. S. Quick, J. Fischer, B. Richter, T. Pauloehr, V. Trouillet, M. Wegener, C. Barner-Kowollik, *Macromol. Rapid Commun.* **2013**, 34, 335–340; b) A. S. Quick, H. Rothfuss, A. Welle, B. Richter, J. Fischer, M. Wegener, C. Barner-Kowollik, *Adv. Funct. Mater.* **2014**, 24, 3571–3580.
- [19] a) C. Wendeln, I. Singh, S. Rinnen, C. Schulz, H. F. Arlinghaus, G. A. Burley, B. J. Ravoo, *Chem. Sci.* **2012**, 3, 2479; b) A. González-Campo, S.-H. Hsu, L. Puig, J. Huskens, D. N. Reinhoudt, A. H. Velders, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 11434–11436.
- [20] E. Vedejs, T. H. Eberlein, R. G. Wilde, *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 2220–2226.
- [21] P. G. Sammes, *Tetrahedron* **1976**, 32, 405–422.
- [22] O. Altintas, M. Glassner, C. Rodriguez-Emmenegger, A. Welle, V. Trouillet, C. Barner-Kowollik, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, 54, 5777–5783; *Angew. Chem.* **2015**, 127, 5869–5875.
- [23] G. Delaitre, N. K. Guimard, C. Barner-Kowollik, *Acc. Chem. Res.* **2015**, 48, 1296–1307.
- [24] Wir beziehen uns hierbei nicht auf eine strenge Orthogonalität, da die aus dem Phenylsulfid generierten Dienophile und die vom Photoenol erzeugten Diene ganz klar in einer normalen Cycloaddition in Lösung miteinander reagieren können. Die Anbindung an der Oberfläche erzeugt in unserem Fall eine Art künstlicher Orthogonalität durch das Verhindern eines Aufeinandertreffens.

Eingegangen am 24. Oktober 2015,
veränderte Fassung am 16. Dezember 2015
Online veröffentlicht am 17. Februar 2016