

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
16. März 2006 (16.03.2006)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2006/027274 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **B05D 5/00**, 7/00

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2005/009787

(22) Internationales Anmeldedatum:
12. September 2005 (12.09.2005)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2004 043 908.7
10. September 2004 (10.09.2004) DE

(71) Anmelder und

(72) Erfinder: **GRÄTER, Stefan** [DE/DE]; Schlösslesweg 46,
73732 Esslingen (DE).

(74) Anwälte: **HOFFMANN, EITLE** usw.; Arabellastrasse 4,
81925 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,

CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES,
FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA,
MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,
OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL,
SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC,
VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,
TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC,
NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

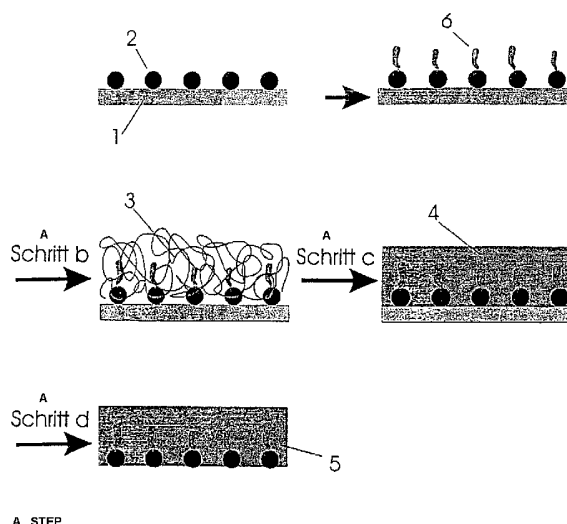
Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: SURFACE-STRUCTURED SUBSTRATE AND PRODUCTION THEREOF

(54) Bezeichnung: OBERFLÄCHENSTRUKTURIERTE SUBSTRATE UND IHRE HERSTELLUNG



(57) Abstract: The invention relates to a method for production of a surface-structured substrate, comprising the steps: (i) production of a first substrate, nanostructured with inorganic nanoclusters on at least one surface, (ii) application of a substrate material for a second substrate, different from the first material to the nanostructured surface of the first substrate as obtained in step (i) and (iii) separation of the first substrate from the second substrate of step (ii), including the inorganic nanoclusters to give a second substrate nanostructured with the nanoclusters. The invention further relates to a surface-structured substrate obtained by said method and the use of the surface-structured substrate for application to a stent or implant material for the adhesion of cells, viruses and/or bacteria and the serum-free culture of cells, for example, for skin replacement and, furthermore, all applications of said substrate in which biological systems can be imitated, modified, examined or quantified by the structured application of biologically-active molecules and the application thereof in optical or electronic components and chemical and biological sensor systems..

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2006/027274 A1



(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines oberflächenstrukturierten Substrats, umfassend die Schritte: (i) Herstellen eines ersten Substrats, das auf mindestens einer Oberfläche mit anorganischen Nanoclustern nanostrukturiert ist, (ii) Aufbringen eines Substratmaterials für ein zweites Substrat, das vom ersten Substratmaterial verschieden ist, auf die im Schritt (i) erhaltene nanostrukturierte Oberfläche des ersten Substrats, und (iii) Abtrennen des ersten Substrats von dem zweiten Substrat aus Schritt (ii), einschließlich der anorganischen Nanocluster, wodurch ein mit Nanoclustern nanostrukturiertes zweites Substrat erhalten wird. Die vorliegende Erfindung betrifft außerdem ein oberflächenstrukturiertes Substrat, erhältlich durch dieses Verfahren sowie die Verwendung des oberflächenstrukturierten Substrats zur Aufbringung auf ein Stent- oder Implantatmaterial, zur Adhäsion von Zellen, Viren und/oder Bakterien und die serumfreie Kultur von Zellen für beispielsweise Hautersatz. Die Erfindung umfasst außerdem alle Anwendungen dieser Substrate bei denen durch strukturiertes Anbringen von biologisch aktiven Molekülen biologische Systeme imitiert, modifiziert, untersucht oder quantifiziert werden können sowie deren Einsatz in optischen oder elektronischen Bauteilen und chemischen und biologischen Sensorsystemen.

Oberflächenstrukturierte Substrate und ihre Herstellung

Die vorliegende Erfindung betrifft oberflächenstrukturierte Substrate, die geordnete Oberflächenstrukturen im Nanometerbereich aufweisen, sowie ein Verfahren zur Herstellung dieser Substrate mit Oberflächenstrukturierung im Nanometerbereich.

Periodisch und aperiodisch mikrostrukturierte Oberflächen von einigen Mikrometern bis einigen Nanometern werden für eine Vielzahl von Anwendungen, insbesondere elektronische und optische Bauelemente, sowie Sensoren und in der Mikrotechnologie verwendet. Die Herstellung solcher mikrostrukturierter Oberflächen erfolgt durch Anwendung bekannter lithographischer Techniken, die je nach Art der gewünschten Mikrostruktur geeignet ausgewählt werden. So können beispielsweise mit der Elektronenstrahl- und Ionenstrahlolithographie Strukturen im Nanometerbereich hergestellt werden, und entsprechende Anlagen sind im Handel erhältlich. Ferner erlaubt die Atomstrahlolithographie durch die Kontrolle der Wechselwirkungen der Atomstrahlen mit Lichtmasken, dass großflächige periodische Linienmuster und verschiedene zweidimensionale periodische Strukturen erzeugt werden.

Da diese Verfahren jedoch den Nachteil aufweisen, dass sie ökonomisch nicht vertretbar sind und/oder keine periodischen Strukturen im Nanometerbereich liefern und/oder nur durch physikalische Parameter gesteuert werden können und deshalb apparativ sehr aufwendig sind, wurde die sogenannte mizellare Blockcopolymer-Nanolithographie entwickelt, mit der sich nanostrukturierte Oberflächen mit einer Periodizität im unteren Nanometerbereich zwischen 10 und 170 nm herstellen lassen. Das mizellare Blockcopolymer-Nanolithographie-Verfahren ist im Detail in den folgenden Patenten und

Patentanmeldungen beschrieben: DE 199 52 018, DE 197 47 813, DE 297 47 815 und DE 197 47 816.

Bei der mizellaren Blockcopolymer-Nanolithographie spielen
5 Templateffekte eine wichtige Rolle. Darunter versteht man die
Vorgabe von Hilfsstrukturen, welche das Wachstum, die
Struktur und die Anordnung des darauf aufbauenden Systems
kontrolliert. Solche Template sind beispielsweise
10 Blockcopolymere und Pfropfcopolymere, die in geeigneten
Lösungsmitteln zu mizellaren Kern-Schalesystemen assoziieren,
sowie hochverzweigte dendritische Moleküle mit einer Kern-
Schale-Struktur. Diese Kern-Schale-Strukturen dienen zur
Lokalisierung anorganischer Vorstufen, aus denen
15 nanometergroße, anorganische Teilchen mit einer
kontrollierten Größe, durch die Polymerhülle räumlich
voneinander getrennt, abgeschieden werden können. Vorteilhaft
ist dabei insbesondere, dass die Kern-Schale-Systeme oder
Mizellen durch einfache Abscheidungsvorgänge wie Spin-Casting
oder Dip-Coating als hochgeordnete Monofilme auf
20 unterschiedliche Substrate aufgebracht werden können. Die
organische Matrix wird anschließend durch einen Gas-Plasma-
Prozess oder durch Pyrolyse rückstandsfrei entfernt, wodurch
anorganische Nanopartikel in der Anordnung auf dem Substrat
fixiert werden, in der sie durch das organische Templat
25 positioniert wurden. Die Größe der anorganischen Nanopartikel
wird durch die Einwaage einer bestimmten anorganischen
Precursorverbindung und der laterale Abstand zwischen den
Nanopartikeln durch die Struktur, insbesondere durch das
Molekulargewicht der organischen Matrix bestimmt. Dadurch
30 konnten Teilchengrößen von Au-, Ag-, Pt-, Pd-, Ni-, Co-, Fe-
und Ti-Teilchen sowie deren Oxide und Legierungen zwischen 1
und 20 nm in geordneten Mustern auf Substraten abgeschieden
werden, wobei die Muster eine Periodizität entsprechend dem
sphärischen Kern-Schale System zwischen 10 und 170 nm
35 aufwiesen.

Voraussetzung für das oben beschriebene mizellare Blockcopolymer-Nanolithographie-Verfahren ist, dass die Substrate aus Materialien bzw. Materialmischungen bestehen müssen, die den Gas-Plasma- oder Pyrolyse-Prozess zur Entfernung der organischen Matrix unbeschadet überstehen. Als Substrate werden daher üblicherweise Edelmetalle, oxidische Gläser, mono- oder multikristalline Substrate, Halbleiter, Metalle mit oder ohne passivierter Oberfläche, Isolatoren oder allgemein Substrate mit hoher Resistenz gegen nachfolgende Ätzprozeduren eingesetzt. Organische Substrate und eine Vielzahl anorganischer Substrate scheiden jedoch aufgrund ihrer Unbeständigkeit gegenüber dem Gas-Plasma- oder Pyrolyse-Prozess für die Anwendung in dem Blockcopolymer-Nanolithographie-Verfahren aus. Außerdem sind Substrate ausgeschlossen, deren Oberfläche nicht ebenmäßig genug sind, um eine regelmäßige Selbstorganisation der Polymermizellen zuzulassen. Auch die Beschichtung von Membranen, die wenige Nanometer dick sind, lässt sich mit diesem Verfahren technisch nicht realisieren.

Dies ist insofern nachteilig, als insbesondere sowohl organische Polymersubstrate als auch die für das Blockcopolymer-Nanolithographie-Verfahren nicht einsetzbaren anorganischen Substrate für die Herstellung von beispielsweise Leiterbahnen bei der Chip-Herstellung, bei der Kultivierung von Zellen, Bakterien und Viren sowie für den Einsatz als Implantate eine große praktische und wirtschaftliche Bedeutung haben.

Beispielsweise werden Arbeiten mit einer großen Anzahl an Zellen und Zellkulturen aufgrund praktischer und ökonomischer Gesichtspunkte mit Kulturschalen durchgeführt, die aus Plastik oder besonderen Polymeren bestehen. Diese werden beispielsweise zur Vermehrung von Zellen, zur Differenzierung von Zellen oder zur Generierung von Gewebe im Allgemeinen eingesetzt. Die Nanostruktur konnte jedoch bisher nicht auf polymere Oberflächen übertragen und somit bisher nicht zur

Einstellung von adhäsionsvermittelter Zellfunktion genutzt werden.

Ferner hat die Anwendung der bekannten Substrate aus
5 Metallen, Gläsern, mono- oder multikristallinen Substraten
und Halbleitern den Nachteil, dass sie eine hohe und nicht
beliebig einstellbare Festigkeit aufweisen. Es besteht jedoch
die Nachfrage nach strukturierten Oberflächen, die weich und
flexibel sind und sich z.B. in Form einer Folie auf
10 Gegenstände, wie Implantat- oder Stent-Materialien,
aufbringen lassen und diese Gegenstände so mit einer
strukturierten Oberfläche versehen können. Außerdem spielt
die Festigkeit der Oberflächen für die Differenzierung von
darauf wachsenden Zellen eine Rolle. Zudem ist bei einer
15 Vielzahl von Anwendungen in der Biologie, Optik, Sensorik und
Elektronik die chemische Beschaffenheit der Oberfläche
zwischen den erzeugten Strukturen, die bisher stark
eingeschränkt war, von großer Bedeutung.

20 Daher besteht die der vorliegenden Erfindung zugrundeliegende
Aufgabe darin, ein Verfahren zur Nanostrukturierung von
Substratoberflächen bereitzustellen, die bisher nicht oder
nur sehr schwierig strukturiert werden konnten.

25 Diese Aufgabe wird gelöst durch ein Verfahren zur Herstellung
eines oberflächenstrukturierten Substrats, umfassend die
Schritte:

(i) Herstellen eines ersten Substrats, das auf mindestens
30 einer Oberfläche mit anorganischen Nanoclustern
nanostrukturiert ist,

(ii) Aufbringen eines Substratmaterials für ein zweites
Substrat, das vom ersten Substratmaterial verschieden
35 ist, auf die im Schritt (i) erhaltene
nanostrukturierte Oberfläche des ersten Substrats, und

- (iii) Abtrennen des ersten Substrats von dem zweiten Substrat aus Schritt (ii), einschließlich der anorganischen Nanocluster, wodurch ein mit Nanoclustern nanostrukturiertes zweites Substrat erhalten wird.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform wird in dem obigen Schritt (ii) für das zweite Substratmaterial ein härtbares Substratmaterial eingesetzt, wobei das härtbare Substratmaterial ausgewählt ist aus einem organischen vernetzbaren oder nichtvernetzba-
ren Polymer, einem Harz, einem organischen polymerisierbaren und/oder vernetzbaren Oligomer und einem organischen polymerisierbaren Polymerprecursor oder Mischungen davon, und gehärtet wird.
Diese bevorzugte Ausführungsform ist dementsprechend ein Verfahren zur Herstellung eines polymeren oberflächenstrukturierten Substrats, umfassend die Schritte:

- (a) Herstellen eines ersten Substrats, das auf mindestens einer Oberfläche mit anorganischen Nanoclustern nanostrukturiert ist,
(b) Aufbringen eines härtbaren Substratmaterials für ein zweites Substrat, das vom ersten Substratmaterial verschieden ist, auf die im Schritt (a) erhaltene nanostrukturierte Oberfläche des ersten Substrats, wobei das härtbare Substratmaterial ausgewählt ist aus einem organischen vernetzbaren oder nichtvernetzba-
ren Polymer, einem Harz, einem organischen polymerisierbaren und/oder vernetzbaren Oligomer und einem organischen polymerisierbaren Polymerprecursor oder Mischungen davon,
(c) Härten des Substratmaterials für das zweite Substrat und
(d) Abtrennen des ersten Substrats von dem in Schritt (c) erhaltenen zweiten Substrat, einschließlich der anorganischen Nanocluster, wodurch ein mit Nanoclustern nanostrukturiertes zweites Substrat erhalten wird.

Gemäß einer anderen bevorzugten Ausführungsform werden die in Schritt (ii) verwendbaren zweiten Substratmaterialien durch thermische Verdampfung, Elektronenstrahlverdampfung, Sputtern oder elektrochemisches Abscheiden auf das erste Substrat
5 aufgebracht.

Im folgenden werden die einzelnen Schritte des Verfahrens zur Herstellung eines oberflächenstrukturierten Substrats der vorliegenden Erfindung näher erläutert.

10

In Schritt (i) bzw. (a) wird eine mit anorganischen Nanoclustern nanostrukturierte Oberfläche hergestellt.

15

Als Verfahren zur Herstellung solcher nanostrukturierten Oberflächen können die im Stand der Technik bekannten Lithographie-Verfahren angewendet werden. Bevorzugt ist die Herstellung durch das mizellare Blockcopolymer-Nanolithographie-Verfahren, wodurch nanostrukturierte Oberflächen auf einfache und kostengünstige Weise hergestellt werden können (s. DE 199 52 018, DE 197 47 813, DE 297 47 815 und DE 197 47 816).

20

Wenn die nanostrukturierte Oberfläche durch ein im Stand der Technik bekanntes Lithographie-Verfahren hergestellt wird, besteht das verwendete erste Substrat aus einem Material, das üblicherweise in diesen Lithographie-Verfahren eingesetzt wird. Im Fall des mizellaren Blockcopolymer-Nanolithographie-Verfahrens sind als verwendbare Substratmaterialien insbesondere zu nennen: Edelmetalle, oxidische Gläser, mono- oder multikristalline Substrate, Halbleiter, Metalle mit oder ohne passivierter Oberfläche, Isolatoren oder allgemein Substrate mit hoher Resistenz gegen nachfolgende Ätzprozeduren. Vorzugsweise handelt es sich hierbei um Pt, Au, GaAs, Al_xGaAs, Si, SiO₂, Ge, Si_xN_y, Si_xGaAs, InP, InPSi, GaInAsP, Glas, Graphit, Diamant, Glimmer, SrTiO₃ sowie deren
35 dotierte Modifikationen.

Es ist auch möglich, dass das erste Substrat aus einem polymeren Material besteht. Ein solches nanostrukturiertes polymeres Substrat ist erhältlich durch das hier beschriebene Verfahren der vorliegenden Erfindung. Das in dem Verfahren
5 der vorliegenden Anmeldung in Schritt (d) erhältliche Substrat kann somit selbst wiederum als ein erstes Substrat in Schritt (i) bzw. (a) eingesetzt werden. Als polymeres Material sind jegliche Polymere verwendbar. Als besonders gut geeignete polymere Materialien können beispielhaft genannt
10 werden: Polystyrol, Epoxidharze, Polydimethylsiloxan (PDMS) und Polyethylenglycoldiacrylate (PEG-DA). Besonders bevorzugt ist ein erstes Substrat aus Polystyrol.

In der obigen Ausführungsform, bei der die in Schritt (ii)
15 verwendbaren zweiten Substratmaterialien durch thermische Verdampfung, Elektronenstrahlverdampfung, Sputtern oder elektrolytisches Abscheiden auf das erste Substrat aufgebracht werden, wird bevorzugt ein erstes Substrat aus einem polymeren Material, wie oben angegeben, verwendet.

20 Die in Schritt (i) bzw. (a) hergestellten anorganischen Nanocluster sind insbesondere sauerstoffresistente Edelmetalle, wie Au, Pt, Pd oder Oxide, wie z.B. halbleitende Oxide wie TiO_2 , oder magnetische Teilchen wie z.B. bestimmte
25 Modifikationen des Fe_2O_3 . Ferner sind auch Cluster aus metallischen Mischsystemen, wie $\text{Au/Fe}_2\text{O}_3$, AuCoO , $\text{Au/Co}_3\text{O}_4$, Au/ZnO , Au/TiO_2 , Au/ZrO_2 , $\text{Au/Al}_2\text{O}_3$, $\text{Au/In}_2\text{O}_3$, $\text{Pd/Al}_2\text{O}_3$, Pd/ZrO_2 , $\text{Pt/Al}_2\text{O}_3$ und Pt/Graphit , denkbar. Bevorzugt sind die anorganischen Nanocluster aus Au.

30 Die in Schritt (i) bzw. (a) auf das erste Substrat aufgebrachten Cluster sind hinsichtlich ihrer Form nicht beschränkt und können als Punkte, Linien, Flächen oder andere beliebige Formen vorliegen. Die Cluster besitzen vorzugsweise
35 eine Größe von 1 nm bis 300 μm , besonders bevorzugt 1 nm bis 150 μm und noch bevorzugter 1 nm bis 20 μm . Im Fall von punktförmigen Clustern ist mit "Größe der Cluster" der

Durchmesser gemeint. Im Fall von Linien ist mit "Größe der Cluster" die Linienbreite gemeint, wobei die Länge der Linien beliebig ist. Im Fall von Cluster-Flächen ist die "Cluster-Größe" ein Maß für die Fläche des Clusters.

5

Die erhaltenen Strukturen, die auf dem ersten Substrat erzeugt werden, weisen bevorzugt Größenordnungen von 1 nm bis 300 μm auf, im Fall von geordneten Strukturen weisen sie Periodizitäten 1 nm bis 300 μm . Im Hinblick auf eine Zelladhäsion auf einem oberflächenstrukturierten Substrat ist eine Größenordnung bzw. Periodizität von 5 nm bis 100 μm besonders bevorzugt. Noch bevorzugter ist eine Größenordnung bzw. Periodizität von 5 nm bis 100 nm und ganz besonders bevorzugt 5 nm bis 20 nm. Eine Größenordnung von 5 bis 500 nm lässt sich beispielsweise durch das mizellare Blockcopolymer-Nanolithographie-Verfahren herstellen. Größere Strukturen lassen sich z.B. durch bekannte photolithographische Verfahren erzeugen.

20 In dem Schritt (b) des Verfahrens zur Herstellung eines polymeren oberflächenstrukturierten Substrats der vorliegenden Erfindung wird ein härtbares Material für ein zweites Substrat auf die in Schritt (a) erhaltene strukturierte Oberfläche des ersten Substrats aufgebracht.

25 Das härtbare Material für das zweite Substrat ist ausgewählt aus einem organischen oder anorganischen Polymer, einem Harz, einem organischen polymerisierbaren oder vernetzbaren Oligomer, einem vernetzbaren Polymer und einem organischen polymerisierbaren Polymerprecursor. Als spezielle Beispiele für das härtbare zweite Substratmaterial können Polystyrol, Epoxidharze, Polydimethylsiloxan (PDMS), Polyethylenglycoldiacrylate (PEG-DA), z.B. PEG-DA 500, PEG-DA 4000 und PEG-DA 8000, und Polyphosphazene unterschiedlichster Molekulargewichte genannt werden.

35

Eine spezielle Ausführungsform sieht Kollagene, Hyaluronsäure, Fibronectin, Vitronectin und weitere

natürliche Polymere als härtbare Polymer, das in Schritt (b) verwendbar ist, vor.

5 Für elektronische Anwendungen sind organische und anorganische leitende und halbleitende Polymere von besonderem Interesse, z.B. Poly(4,4-dioctylcyclopentadithiophene).

10 Das härtbare Material für das zweite Substrat wird vorzugsweise in Form einer Flüssigkeit oder als Lösung durch ein im Stand der Technik übliches Beschichtungsverfahren gleichmäßig mit der gewünschten Dicke aufgetragen. Beispielsweise werden Polystyrol, Poly(4,4-dioctylcyclopentadithiophene) und Polyphosphazene in Lösung und PDMS und 15 Epoxidharze in flüssigem Zustand durch ein Spinschleuder-Verfahren auf das erste Trägermaterial aufgetragen. PEG-Diacrylat wird vorzugsweise in Lösung unter Schutzgas aufgetropft.

20 Es ist auch möglich, das zweite Substrat aus Schritt (b) auf der Seite, die dem ersten Substrat gegenüberliegt, zusätzlich mit einer anorganischen Trägerschicht zu versehen. Die anorganische Trägerschicht kann aus jeglichem anorganischen Material hergestellt werden, bevorzugt aus einem leitenden 25 anorganischen Material, und besteht beispielsweise aus Silizium, Zinkoxid, Gold, Kohlenstoff. Die anorganische Trägerschicht kann abhängig vom anorganischen Material durch bekannte Verfahren, wie z.B. durch thermische Verdampfung, Elektronenstrahlverdampfung, Sputtern, elektrochemisches 30 Abscheiden oder als Feststoff mit glatter Oberfläche auf das zweite Substrat aufgebracht werden. In dieser Ausführungsform ist es bevorzugt, dass das zweite Substrat nach dem Härten in Schritt (c) lediglich eine Dicke von 1 bis 20 nm aufweist. Dadurch kann erreicht werden, dass die auf dem ersten 35 Substrat aufgebrachten Nanocluster, z.B. Goldcluster, so in das zweite Substrat eingebettet werden, dass sie gleichzeitig

mit der anorganischen Trägerschicht Kontakt haben und dadurch zur Herstellung von Nanoelektroden geeignet sind.

- In Schritt (c) wird das härtbare Material für das zweite Substrat gehärtet. Das Verfahren zum Härten des zweiten Substratmaterials wird abhängig von der Natur des Substratmaterials geeignet ausgewählt. So werden beispielsweise Polystyrol und Polyphosphazene, die als Lösungen aufgebracht werden können, durch langsames Evaporieren des Lösungsmittels gehärtet. PDMS und Epoxidharze werden thermisch polymerisiert bzw. vernetzt und dadurch ausgehärtet. PEG-Diacrylate werden photochemisch polymerisiert und auf diese Weise gehärtet.
- Nach dem Härten weist das zweite Substrat vorzugsweise eine Dicke von 1 nm bis einigen cm auf, insbesondere bevorzugt ist eine Dicke von 10 nm bis 100 cm. Im Hinblick auf eine Anwendung des polymeren oberflächenstrukturierten Substrats als Folie weist das zweite Substrat nach dem Schritt (c) vorzugsweise eine Dicke von 10 nm bis 1 cm auf, besonders bevorzugt 100 nm bis 1 mm.

- In der Ausführungsform, bei der die in Schritt (ii) verwendbaren zweiten Substratmaterialien durch thermische Verdampfung, Elektronenstrahlverdampfung, Sputtern oder elektrochemisches Abscheiden auf das erste Substrat aufgebracht werden, sind diese verwendbaren zweiten Substratmaterialien Leiter oder Halbleiter, bevorzugt ausgewählt aus Si, C, Zinkoxid, Cr, Indiumoxid, Cu, Indiumarsenid, Galliumarsenid und Hexadecafluorpthalocyanin (F16CuPc), oder Materialien, die für optisch relevante Beschichtungen verwendbar sind, wie Aluminiumoxid, Calciumfluorid und Magnesiumfluorid. Beispielsweise lässt sich eine F16CuPc-Schicht unter Verwendung eines Mikrowellengenerators bei folgenden Bedingungen aufbringen: Temperatur: 125°C, Druck: 2×10^{-5} Torr, Behandlungsdauer: 100 sec. Eine ca. 50 nm dicke Cr-Schicht kann beispielsweise

durch Sputtern erhalten werden. Dazu wird mit einer Beschleunigungsspannung von 60 mA und einem Argondruck von 1×10^{-5} Torr gearbeitet. Wie im Fall des oben beschriebenen härtbaren zweiten Substratmaterials weisen die so
5 hergestellten Schichten ebenfalls bevorzugt eine Dicke von 10 nm bis 1 μ m, besonders bevorzugt 100 nm bis 1 μ m, auf.

Im Schritt (iii) bzw. (d) des Verfahrens zur Herstellung eines oberflächenstrukturierten Substrats bzw. polymeren
10 oberflächenstrukturierten Substrats wird das erste Substrat von dem in Schritt (ii) aufgetragenen zweiten Substrat bzw. von dem in Schritt (c) gehärteten zweiten Substrat, einschließlich der Nanocluster, abgetrennt, wodurch ein mit anorganischen Nanoclustern im Nanometerbereich strukturiertes
15 zweites Substrat erhalten wird, wobei die Nanocluster mit dem gleichen Muster auf das zweite Substrat übertragen werden, das die Nanocluster auf dem ersten Substrat aufwies. Die Abtrennung erfolgt in einem geeigneten Verfahren entweder mechanisch oder durch ein Abtrennmittel, das abhängig von der
20 Natur des ersten Substratmaterials und unter Berücksichtigung der Natur des zweiten Substratmaterials geeignet ausgewählt wird. Zu beachten ist dabei, dass das eingesetzte Abtrennmittel so ausgewählt wird, dass zwar das erste Substrat von dem Abtrennmittel angegriffen wird,
25 beispielsweise durch Lösen, aber umgekehrt das zweite Substrat gegenüber diesem Abtrennmittel so stabil und unempfindlich wie möglich ist. So lässt sich beispielsweise ein erstes Substrat, das aus Glas oder Siliziumdioxid besteht, mit Flusssäure (z.B. 25%ig) entfernen, wenn das
30 zweite Substrat aus Polystyrol, Epoxidharz, Polydimethylsiloxan (PDMS), Polyethylenglycol-diacrylat (PEG-DA) oder Phosphazenen besteht. Im Fall von Polystyrol als erstes Substrat kann beispielsweise Toluol als geeignetes Abtrennmittel eingesetzt werden, wenn das zweite Substrat aus
35 PEG-DA oder PDMS besteht.

Die Größe des in Schritt (iii) bzw. (d) erhaltenen Substrats bzw. polymeren Substrats mit strukturierter Oberfläche ist beliebig und kann je nach gewünschter Anwendung zwischen 100 nm² und mehreren Metern betragen. Bevorzugt ist eine Größe von 1 mm² bis 100 cm².

- Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform des Verfahrens der vorliegenden Erfindung kann zwischen Schritt (i) und Schritt (ii) bzw. Schritt (a) und Schritt (b) ein Schritt der Immobilisierung eines Anbindungsmoleküls durchgeführt, vorzugsweise ausgewählt aus Propenthionol, Mercaptopolyethylenglykolacrylat, Cysteamin mit Acryloylchlorid, Polyethylenglykoldithiol, Alkylthioglykolat und Amino-1-alkylthiol. "Alkyl" bezeichnet einen geraden oder verzweigten, gesättigten oder ungesättigten Kohlenwasserstoff mit 1 bis 24 Kohlenstoffatomen, bevorzugt 4 bis 18 Kohlenstoffatome, besonders bevorzugt 6 bis 12 Kohlenstoffatome. Als besonders vorteilhaft haben sich Amino-1-undecanthiol und Allyl-mercptoacetat gezeigt. Das Anbindungsmolekül sollte derart ausgewählt werden, dass es sich spezifisch an die anorganischen Nanocluster anbinden lässt und sich chemisch oder elektrostatisch mit dem zweiten Substrat verbindet, aber an dem ersten Substrat nicht haftet.
- Die Immobilisierung der Anbindungsmoleküle erfolgt durch bekannte Verfahren. Beispielsweise kann die Anbindung von Propenthionol an Goldcluster in der Gasphase erfolgen, die anderen oben genannten Thiole werden in Lösung innerhalb einer Reaktionszeit von etwa 12 h an Goldcluster angebunden.
- Durch die Anbindungsmoleküle wird eine bessere Anbindung der anorganischen Nanocluster im bzw. am zweiten Substrat erzielt.
- In einer besonders vorteilhaften Ausführungsform können als Anbindungsmoleküle Zellen verwendet werden. In diesem Fall binden die Adhäsionsproteine der Zelle abhängig von der

Nanostruktur auf dem ersten Substrat nur an bestimmte Nanocluster. Dadurch kann erreicht werden, dass nach dem Abtrennen des ersten Substrats nur solche Nanocluster auf dem zweiten Substrat zurückbleiben, die an die Adhäsionsproteine der Zelle gebunden sind. Auf diese Weise lassen sich wichtige Erkenntnisse über das Adhäsionsverhalten von Zellen auf nanostrukturierten Oberflächen erhalten.

Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform kann im Anschluss an den Schritt (iii) bzw. (d) eine Passivierung der die Nanocluster umgebenden Bereiche durchgeführt werden, um eine gezielte Wechselwirkung von z.B. Zellen oder anderen Biomolekülen mit den anorganischen Nanoclustern zu erzielen. Eine solche Passivierung durch Polyethylenglykol ist beispielsweise in der US-Patentanmeldung 2003/0133963 A1 von J.A. Hubbell beschrieben. Eine weitere Möglichkeit zur Passivierung besteht in der Erzeugung von Hydroxylgruppen auf den Oberflächen von Polystyrol- oder PDMS-Substraten durch ein Sauerstoff-Plasma. Auf diesen Hydroxylgruppen lassen sich dann durch Anbinden von (3-Triethoxysilyl-propyl)-carbamidsäure-(methoxypolyethylenglykol)-estern eine molekulare PEG-Monoschicht mit stark proteinabweisenden Eigenschaften herstellen. Außerdem ist bekannt, dass sich Polystyrol-Oberflächen im Sauerstoff-Plasma mit Bovin Serum Albumin (BSA) gegen Proteinwechselwirkungen und Zelladhäsion passivieren lassen. Um die unspezifische Anbindung von BSA an den Bereich der Struktur, der nicht passiviert werden soll, zu verhindern, muss dieser Bereich zuerst mit einer anderen spezifisch anbindenden Substanz geschützt werden. So können Goldcluster beispielsweise mit PEG-Thiolen geschützt werden, die nach einer Plasma-Aktivierung der Oberfläche angebunden werden. Die Bindung des Thiols zum Gold kann in Iod-Atmosphäre wieder zerstört werden. Nach der unspezifischen Anbindung des BSA an das Polystyrol kann das PEG dann abgewaschen werden (s. Promotionsarbeit Wolfgang Geyer, Universität Heidelberg, 04.05.2001).

Nach dem Schritt (iii) bzw. (d) der Abtrennung des ersten Substrats und ggf. nach der oben beschriebenen Passivierung kann ein Schritt der Biofunktionalisierung der anorganischen Nanocluster durchgeführt werden. "Biofunktionalisierung"

5 bezeichnet einen Schritt, in dem spezifische Moleküle an die nanostrukturierten Cluster angebracht werden, um diese für bestimmte biologische Anwendungen zu funktionalisieren. Hierunter können alle Proteine, Proteinsequenzen und andere Moleküle, die von biologischem Interesse sind, verstanden
10 werden. Diese Moleküle lassen sich direkt oder über verschiedene Anbindungsmoleküle an die Nanocluster anheften. Ein cyclisches RGD-Peptid mit Thiolanker lässt sich z.B. an die Goldcluster nach dem Passivierungsschritt anbinden. Die Goldcluster lassen sich so für die spezifische Anbindung von
15 Integrinen, einem zellulären Adhäsionsprotein, funktionalisieren. Ein anderes Beispiel ist die Anbindung von molekularen Motoren wie Kinesin oder Myosin.

Gemäss einer weiteren bevorzugten Ausführungsform kann das im
20 Schritt (b) aufgebrachte Substratmaterial vor oder nach der Härtung mit heterobifunktionalen Molekülen für die Anbindung weiterer Moleküle funktionalisiert werden. Das heterobifunktionale Molekül ist so aufgebaut, dass es mindestens zwei unterschiedliche funktionale Gruppen besitzt.
25 Mindestens eine dieser funktionalen Gruppen ist derart, dass es an das härtbare Material des zweiten Substrats anbinden kann, während die chemische Funktionalität der anderen funktionalen Gruppe(n) auch nach der Anbindung erhalten bleibt. Hierfür eignen sich z.B. 2-Carboxyethylacrylat,
30 Propenthionol und 2-Aminoethylmethacrylat. So kann zum Beispiel neben der Biofunktionalisierung der Nanostruktur eine Biofunktionalisierung der übrigen Substratoberfläche mit beliebigen Molekülen von biologischem Interesse vorgenommen werden. Von besonderem Interesse sind hierbei
35 Wachstumsfaktoren wie EGF, NGF und TGF sowie Zelladhäsionsproteine bzw. Peptide wie Fibronectin, RGD und Catherine als auch extracelluläre Signalmoleküle wie

Vasopressin, Interferon, Insulin. Durch eine solche Funktionalisierung lassen sich Moleküle unterschiedlicher Art in geordneter Weise nebeneinander fixieren, so dass sie miteinander in geregelte Wechselwirkung treten.

- 5 Beispielsweise lässt sich ein PEG Hydrogel, in das bei der Polymerisation Carboxylgruppen eingebunden werden, mit dem Wachstumsfaktor EGF aktivieren, während zusätzlich die Nanostrukturen wie oben beschrieben mit RGD für Zellanbindung funktionalisiert sind, was z.B. für Serum-freie Zellkulturen
10 eingesetzt werden kann. Ein anderes Beispiel ist die geometrische Anordnung von viralen Spike-Proteinen an den Nanostrukturen mit einer Funktionalisierung des Hydrogels mit zellulären Wachstumsfaktoren.

- 15 Eine weitere vorteilhafte Ausführungsform stellt die Verwendung von dreidimensionalen ersten Substraten dar. Dieses dreidimensionale erste Substrat ist ganz oder teilweise auf der Oberfläche nanostrukturiert. In Schritt (b) wird dieses Substrat ganz oder teilweise in dem härtbaren
20 Material eingebettet und in Schritt (d) herausgelöst, so dass eine auf der Oberfläche nanostrukturierte dreidimensionale Struktur erhalten wird. Das dreidimensionale erste Substrat kann eine beliebige dreidimensionale Form aufweisen, z.B. faser-, kugel- oder linsenförmig. Zum Beispiel kann das
25 dreidimensionale erste Substrat eine Glasfaser mit einem Durchmesser von 5µm bis 300µm sein, deren Oberflächen durch das oben genannte Verfahren mit einer Nanostruktur aus Goldclustern beschichtet ist. Vorstellbar sind auch Kolloide, die mit Goldpunkten beschichtet werden. Die Goldpunkte werden
30 durch die Immobilisierung von Cysteamin und Acryloylchlorid aktiviert und in PEG-DA eingegossen. Die Glassfasern können in Schritt (d) mit Flusssäure herausgelöst oder mechanisch abgelöst werden. Spezifische Aktivierung für die Anbindung bestimmter Zellen ermöglicht eine Verwendung als Nervenkanal
35 oder Stent.

Das oben beschriebene Verfahren der vorliegenden Erfindung wird im folgenden unter Bezugnahme auf Figur 1 näher erläutert, wobei in Figur 1 das Verfahren zur Herstellung eines polymeren oberflächenstrukturierten Substrats der vorliegenden Erfindung gemäß einer bevorzugten Ausführungsform schematisch dargestellt ist.

Wie in Figur 1 gezeigt, werden zunächst in einem Schritt (a) anorganische Nanocluster 2 auf eine Oberfläche eines ersten Substrats 1 nanostrukturiert aufgebracht. Anschließend werden Anbindungsmoleküle 6 auf dieser Nanostruktur immobilisiert. In dem nachfolgenden Schritt (b) wird dann ein härtbares Substratmaterial 3 für ein zweites Substrat auf die nanostrukturierte Oberfläche des ersten Substrats 1 aufgebracht. Anschließend wird im Schritt (c) das härtbare Substratmaterial 3 für ein zweites Substrat gehärtet, wodurch das zweite Substrat 4 erhalten wird. In dem Schritt (d) wird das erste Substrat 1 dann von dem zweiten Substrat 4 und den Nanoclustern 2, einschließlich der Anbindungsmoleküle 6, abgetrennt, wodurch ein mit Nanoclustern nanostrukturiertes zweites Substrat 5 erhalten wird.

Gemäß einer alternativen Ausführungsform wird die obige Aufgabe der Erfindung auch gelöst durch ein Verfahren zur Herstellung eines polymeren oberflächenstrukturierten Substrats, umfassend die Schritte:

- (a') Aufnehmen eines Polymers in einem geeigneten Lösungsmittel unter Bildung eines gelösten Kern-Schale-Polymersystems,
- (b') Beladen von mindestens einem Teil der Kerne des Kern-Schale-Polymersystem mit einer oder mehreren, gleichen oder unterschiedlichen Metallverbindungen, die Nanocluster bilden,
- (c') Aufbringen des in Schritt (b') erhaltenen Kern-Schale-Polymersystems als Film derart auf mindestens eine Seite

eines Substrats, dass das Kern-Schale-Polymersystem in einer regelmäßigen Struktur im Film angeordnet ist, und (d') Teilweises Entfernen des in Schritt (c') auf dem Substrat aufgetragenen Polymers des Kern-Schale-Polymersystems, wodurch die Nanocluster nicht mehr vollständig von dem Polymer umgeben sind, und (e') Abtrennen des Substrats von dem in Schritt (d') erhaltenen Film, wodurch ein mit Nanoclustern nanostrukturierter polymerer Film erhalten wird.

Die Schritte (a') bis (c') entsprechen der Vorgehensweise, die üblicherweise in dem Mizellaren Blockcopolymer-Nanolithographie-Verfahren angewendet werden. Details zur Durchführung dieser Schritte finden sich in den Druckschriften DE 199 52 018, DE 197 47 813, DE 297 47 815 bzw. DE 197 47 816.

Unter dem Ausdruck "Kern-Schale-Polymersystem" sind beispielsweise makromolekulare Amphiphile zu verstehen, welche in wässriger oder organischer Lösung assoziieren und wohldefinierte kugelförmige bzw. stäbchenförmige Mizellen, Lamellen, Vesikel oder komplexe Aggregate bilden können. Erfindungsgemäß sind damit auch solche, allgemein als Wirt/Gast-Systeme bezeichnete Systeme eingeschlossen, in denen ein von dem eingesetzten Polymer (Wirtsverbindung) erzeugter Molekülhohlraum bzw. Molekülinnenraum, d. h. der Polymerkern, mit einer Gastverbindung, d.h. der verwendeten Metallverbindung, beladen bzw. komplexiert werden kann.

Das erfindungsgemäß eingesetzte Polymer, welches das Kern-Schale-Polymersystem aufbaut, ist vorzugsweise aus Blockcopolymeren, Pfropfcopolymeren, Mikroarmsternpolymeren, Sternpolymeren mit unterschiedlichen Armen, dendritischen Polymeren, Mikrogelteilchen, Sternblockpolymeren, Blocksternpolymeren und Kern-Schale-Latexpolymeren ausgewählt.

Mehr bevorzugt ist das Polymer Polystyrol-b-polyethylenoxid, Polystyrol-poly(2-vinylpyridin), Polystyrol-poly(4-vinylpyridin) oder ein Gemisch davon. Der Polystyrolblock darin kann aber auch durch andere nicht-polare Polymere, wie
5 beispielsweise Polyisopren, Polybutadien, Polymethylmethacrylat oder andere Polymethacrylate ersetzt werden. Der zweite bzw. polare Block in einem solchen Zweiblockcopolymer kann ein solcher sein, der eine möglichst starke Wechselwirkung mit der eingesetzten Metallverbindung
10 eingeht. Beispiele hierfür sind Polyacrylsäure, Polymethacrylsäure, aminosubstituierte Polystyrole, Polyacrylate bzw. Polymethacrylate, aminosubstituierte Polydiene, Polyethylenimine, verseifte Polyoxazoline oder hydriertes Polyacrylnitril. Der erste Block kann auch aus
15 einem polaren Polymer aufgebaut sein, jedoch mit der Maßgabe, dass dann die Metallverbindung derart gewählt ist, dass diese hauptsächlich, d.h. selektiv, mit dem zweiten polaren Block wechselwirkt.

20 Typischerweise werden die vorgenannten Polymersysteme in einem selektiven Lösungsmittel, wie z. B. Toluol, in einer Menge von etwa 10^3 bis 100 mg/ml, vorzugsweise etwa 5 mg/ml, gelöst. Nach etwa 12 Stunden wird in Schritt (b') des erfindungsgemäßen Verfahrens die Lösung mit einer oder
25 mehreren Metallverbindungen versetzt und für 24 Stunden stark gerührt, um mindestens einen Teil der durch das Kern-Schale-Polymersystem gebildeten Polymerkerne mit der/den Metallverbindung(en) zu beladen.

30 Die Metallverbindungen sind dieselben wie die für die oben beschriebenen Metallcluster. Bevorzugt ist auch in dieser alternativen Ausführungsform Au bzw. eine Au-Verbindung.

In Schritt (c') des erfindungsgemäßen Verfahrens wird das
35 Aufbringen des Films in Mono- oder Multischichten auf mindestens eine Seite eines Substrats vorzugsweise durch Tauch-, Gieß-, Spinschleuderverfahren oder durch Adsorption

aus verdünnter Lösung durchgeführt. Mehr bevorzugt wird das Aufbringen in Mono- oder Multischichten durch Tauchverfahren in verdünnter Lösung durchgeführt. In einer bevorzugten Ausführungsform wird bzw. werden vor Schritt (c') die im Polymerkern enthaltende(n) Metallverbindung(en) durch chemische Behandlung und/oder durch energiereiche Strahlung, beispielsweise UV-Licht, Röntgenstrahlung oder Elektronenbeschuss, in Lösung oder im Film in das Metall oder ein Metalloxid überführt.

Als verwendbare Substratmaterialien für das Substrat im Fall des mizellaren Blockcopolymer-Nanolithographie-Verfahrens sind insbesondere zu nennen: Edelmetalle, oxidische Gläser, mono- oder multikristalline Substrate, Halbleiter, Metalle mit oder ohne passivierter Oberfläche, Isolatoren oder allgemein Substrate mit hoher Resistenz gegen nachfolgende Ätzprozeduren. Vorzugsweise handelt es sich hierbei um Pt, Au, GaAs, AlxGaAs, Si, SiO₂, Ge, SixNy, SixGaAs, InP, InPSi, GaInAsP, Glas, Graphit, Diamant, Glimmer, SrTiO₃ sowie deren dotierte Modifikationen.

Die in Schritt (c') erhaltenen Filme, d.h. makroskopisch deckende Filme, werden beispielsweise durch definiertes Ziehen eines Substrats aus der Lösung mit Geschwindigkeiten zwischen beispielsweise 0,001 mm/min und 2 m/min erzielt. Die mit der Metallverbindung beladenen Polymerkerne werden dabei unter Ausbildung einer regelmäßigen Struktur im Film im wesentlichen intakt abgeschieden.

In Schritt (d') des erfindungsgemäßen Verfahrens wird der Film zusammen mit dem vom Film mindestens teilweise bedeckten Substrat einem reaktiven Ionenätzverfahren, einem Ionensputterverfahren oder einem nasschemischen Verfahren oder einer Kombination davon unterworfen. Die auf der Substratoberfläche abgeschiedenen Strukturen dienen dabei als Maske, die durch Ätztechniken in das entsprechende Substrat übertragen werden, wobei nur ein Teil des auf dem Substrat

- aufgebrachten Films rückstandsfrei an der gewünschten Stelle bzw. dem gewünschten Bereich entfernt wird, und worin die durch das Kern-Schale-Polymersystem erzeugte, regelmäßige Struktur aufgrund und in Abhängigkeit von der Art der
- 5 Beladung der Polymerkerne sowie der Dauer des reaktiven Ionenätzverfahrens und/oder des Ionensputterverfahrens und/oder des nasschemischen Verfahrens in eine Reliefstruktur des Substrats überführt wird. Vorzugsweise wird ein Ionenätzen mit Argon, Ozon, Sauerstoff und deren Mischungen
- 10 durchgeführt, mehr bevorzugt ist ein Argon-Ionen-Sputtern. Der Ausdruck "teilweises Entfernen" bedeutet, dass die Nanocluster nach dem teilweisen Entfernen des Polymers nicht mehr vollständig von dem Polymer umgeben sind. Bevorzugt bleiben 20 bis 80 % der Oberfläche der anorganischen Cluster
- 15 mit dem Polymer umgeben. Bevorzugter ist ein Bereich von 30 bis 70 % der Oberfläche der Cluster nach dem teilweisen Entfernen des aufgebrachten Films mit Polymer bedeckt, noch bevorzugter 40 bis 60 %, und am meisten bevorzugt 50 %.
- 20 Die Dicke des in Schritt (c') aufgebrachten Films ist bevorzugt 1 nm bis einige cm, insbesondere 10 nm bis 100 cm, besonders bevorzugt 10 nm bis 1 cm, noch bevorzugter 100 nm bis 1 mm.
- 25 Der Schritt (e') des Abtrennens des Substrats von dem in Schritt (d') erhaltenen Films erfolgt auf die gleiche Weise wie für Schritt (d) gemäß Anspruch 1 beschrieben.

Die aus den oben beschriebenen Verfahren gemäß der

30 vorliegenden Anmeldung erhältlichen polymeren Substrate mit nanostrukturierten Oberflächen können insbesondere auf Implantat- und Stentmaterialien aufgebracht und als Kultursubstrate für Zellen, Bakterien und Viren, als Nährböden für Differenzierungsexperimente von Stammzellen und

35 Nährböden für Gewebe verwendet werden. Weiche polymere Substrate spielen insbesondere für neuronales Wachstum eine Rolle. Außerdem können sie auch für elektronische Bauteile

- eingesetzt und zur Benetzung/Entnetzung und gegen Verschmutzung von Gegenständen verwendet werden. Ein Beispiel dafür ist die Anwendung in einer Serum-freien Zellkultur für die Erzeugung von Hautersatz. Darüber hinaus sind durch das
- 5 erfindungsgemäße Verfahren erhältlichen Substrate mit nanostrukturierten Oberflächen wichtig für unterschiedlichste Anwendungen, bei denen über eine genaue Anordnung von biologisch aktiven Molekülen biologische Systeme imitiert, manipuliert, untersucht und quantifiziert werden, z.B.
- 10 Imitation von Virus- oder Pollen-Wechselwirkungen mit Zellen, Manipulation der Zelldifferenzierung zu erwünschten Phenotypen und die Anbindung molekularer Motoren zur Untersuchung und Quantifizierung ihrer Aktivität. Außerdem können sie auch für elektronische und optische Bauteile,
- 15 wobei hier die Verwendung von halbleitenden Substraten von besonderem Interesse ist, sowie als biologische oder chemische Sensoren eingesetzt und zur Benetzung/Entnetzung und gegen Verschmutzung von Gegenständen verwendet werden.
- 20 Ein besonderer Vorteil der vorliegenden Erfindung ist weiterhin, dass über die Geometrie und chemische und physikalische Beschaffenheit der Oberfläche, auf der eine Zelle adhärieren kann, die Bindungsrezeptoren und die Proteine in der Zelle auf eine Weise angeordnet und
- 25 positioniert werden können, dass die Funktion der Zelle, z.B. Aktivität von biochemischen Signalwegen, Genexpression und die Synthese von bestimmten zellulären Proteinen, darüber gezielt gesteuert werden können.
- 30 Im Folgenden wird die vorliegende Erfindung durch Beispiele näher erläutert.

Beispiel 1

- 35 **Übertragung von Goldstrukturen von einer Glasoberfläche auf Polystyrol**

Ein Exsikkator mit dem Glassubstrat mit der zu übertragenden Goldstruktur wird evakuiert und mit einem Schlenkkolben verbunden, in welchem sich einige μl Propenthiol befinden. Das so verdampfte Propenthiol wirkt für 12 Stunden auf die Substratoberfläche ein.

Nach Belüften und Spülen des Substrats im Stickstoffgegenstrom wird eine Polystyrol/Toluol-Lösung (25 mg/ml) durch einen 0,2 μm Spritzenfilter auf die Substratoberfläche aufgetropft (ca. $5\mu\text{l}/\text{cm}^2$).

Nach 6 Stunden Trockenzeit bei Raumtemperatur wird das Polystyrol für 1 Stunde bei 60 °C im Ofen ausgehärtet. Das Substrat wird mit der Polystyrol bedeckten Seite nach oben in eine 12%ige Flusssäure-Lösung gelegt. Nach einigen Sekunden schwimmt der Polystyrolfilm auf, wird mit MQ-Wasser gespült und mit Stickstoff trockengeblasen.

Beispiel 2

Übertragung von Goldstrukturen von einer Glasoberfläche auf Polyethylenglykol

Das Glassubstrat mit den zu übertragenden Goldstrukturen wird für 12 Stunden in eine 5%ige Lösung aus PEG-dithiol in DMF gelegt.

Nach Spülen in MQ-Wasser wird im Stickstoffgegenstrom eine Lösung aus 300 mg PEG-Diacrylat (PEG-DA), 0,15 mg Photoinitiator (Irgacure 2959) und 300ml Wasser aufgetragen (ca. $5\mu\text{l}/\text{cm}^2$).

Unter Stickstoff wird für 45 min mit einer UV Lampe (275nm) bestrahlt.

Das Substrat wird mit der Glasseite nach oben in einer Weise mit 12%iger Flusssäurelösung betropft, dass keine Flusssäure über den Rand des Glases hinweg mit dem PEG-Hydrogel in Kontakt kommt. Nach einigen Stunden löst sich das Glas von dem Hydrogelfilm.

Das Hydrogel wird mehrfach in MQ-Wasser gewaschen und im Wasser aufbewahrt.

5 Beispiel 3

Übertragung von Goldstrukturen in eine PEG Röhre

Die mit Gold-Nanostrukturen strukturierte Glasfaser mit einem
10 Durchmesser von 50 - 150 μm für 3 Stunden in Propenthio-
Dampf hängen. Die Faser wird anschließend in einen Tropfen
PEG-DA mit Photoinitiator Irgacure 2959 gelegt. Nach 45
minütiger UV Bestrahlung unter Stickstoff wird die Glasfaser
15 gehalten, dass der verfestigte PEG Tropfen noch zu ca. zwei
Dritteln aus der Säure ragt. Sobald die Flusssäure, die
entlang der Glasfaser im Inneren des PEG Tropfens nach oben
steigt, das obere Ende des PEG Tropfens erreicht, ist die
Faser in ihrem Durchmesser so dezimiert, dass sie aus dem PEG
20 Tropfen herausgezogen werden kann und die Goldstrukturen im
Inneren der entstandenen Röhre zurück lässt.

Beispiel 4

25 **Herstellung einer biofunktionalisierten PEG Matrix mit Gold Nanostrukturen**

1 mg 2-Carboxyethylacrylat wird in 500 ml PEG-DA 700 gelöst.
Die Lösung wird gemäss Beispiel 2 zur Übertragung von
30 Goldstrukturen eingesetzt. Nach der Polymerisation und dem
Übertrag der Goldstrukturen auf das PEG lassen sich die
Carboxyl Gruppen in N-Hydroxy-succinimid-ester überführen.
Dies geschieht durch Überführen der Substrate in eine 1%ige
Lösung aus N-Hydroxysuccinimide in einem HEPES Puffer (pH
35 7,3). Eine darauf folgende Anbindung von Tris-
(carboxymethyl)-amin (NTA) in getrocknetem DMSO und die
Komplexierung mit Nickel ermöglicht die Anbindung beliebiger

Proteine über Histidin. Nach der Anbindung von NTA und vor der Nickel-Komplexierung können die Goldstrukturen über eine Thiolgruppe mit einem bioaktiven Molekül z.B. RGD funktionalisiert werden.

Patentansprüche

- 5 1. Verfahren zur Herstellung eines
oberflächenstrukturierten Substrats, umfassend die
Schritte:
- 10 (i) Herstellen eines ersten Substrats, das auf
mindestens einer Oberfläche mit anorganischen
Nanoclustern nanostrukturiert ist,
- 15 (ii) Aufbringen eines Substratmaterials für ein
zweites Substrat, das vom ersten Substratmaterial
verschieden ist, auf die im Schritt (i) erhaltene
nanostrukturierte Oberfläche des ersten
Substrats, und
- 20 (iii) Abtrennen des ersten Substrats von dem zweiten
Substrat aus Schritt (ii), einschließlich der
anorganischen Nanocluster, wodurch ein mit
Nanoclustern nanostrukturiertes zweites Substrat
erhalten wird.
- 25 2. Verfahren gemäß Anspruch 1, wobei die Aufbringung des
zweiten Substratmaterials in Schritt (ii) durch
thermische Verdampfung, Elektronenstrahlverdampfung,
Sputtern oder elektrochemisches Abscheiden erfolgt.
- 30 3. Verfahren gemäß Anspruch 2, wobei das zweite
Substratmaterial ein Leiter oder Halbleiter ist,
ausgewählt aus Si, C, Zinkoxid, Cr, Indiumoxid, Cu,
Hexadecafluorophthalocyanin (F16CuPc), Indiumarsenid und
Galliumarsenid, oder Aluminiumoxid, Calciumfluorid oder
35 Magnesiumfluorid ist.

4. Verfahren zur Herstellung eines polymeren oberflächenstrukturierten Substrats, umfassend die Schritte:
- 5 (a) Herstellen eines ersten Substrats (1), das auf mindestens einer Oberfläche mit anorganischen Nanoclustern (2) nanostrukturiert ist,
- (b) Aufbringen eines härtbaren Substratmaterials (3) für ein zweites Substrat, das vom ersten
- 10 Substratmaterial verschieden ist, auf die im Schritt (a) erhaltene nanostrukturierte Oberfläche des ersten Substrats, wobei das härtbare Substratmaterial ausgewählt ist aus einem organischen vernetzbaren oder nichtvernetzba-
- 15 ren Polymer, einem Harz, einem organischen polymerisierbaren und/oder vernetzbaren Oligomer und einem organischen polymerisierbaren Polymerprecursor oder Mischungen davon,
- (c) Härten des Substratmaterials für das zweite
- 20 Substrat und
- (d) Abtrennen des ersten Substrats von dem in Schritt (c) erhaltenen zweiten Substrat (4), einschließlich der anorganischen Nanocluster, wodurch ein mit Nanoclustern nanostrukturiertes zweites Substrat
- 25 (5) erhalten wird.
5. Verfahren gemäß Anspruch 4, worin zwischen Schritt (a) und Schritt (b) ein Schritt der Immobilisierung eines Anbindungsmoleküls (6) durchgeführt wird.
- 30
6. Verfahren gemäß Anspruch 5, worin das Anbindungsmolekül ausgewählt ist aus Propenthionol, Mercaptopolyethylenglykolacrylat,
- 35 Polyethylenglykoldithiol, Cysteamin mit Acryloylchlorid, Alkylthioglykolat und Amino-1-alkylthiol, worin Alkyl einen geraden oder verzweigten, gesättigten oder

ungesättigten Kohlenwasserstoff mit 1 bis 24 Kohlenstoffatomen bezeichnet.

5 7. Verfahren gemäß Anspruch 5, worin die Anbindungsmoleküle Rezeptoren einer Zelle sind.

8. Verfahren zur Herstellung eines polymeren oberflächenstrukturierten Substrats, umfassend die Schritte:

10

(a') Aufnehmen eines Polymers in einem geeigneten Lösungsmittel unter Bildung eines gelösten Kern-Schale-Polymersystems,

15

(b') Beladen von mindestens einem Teil der Kerne des Kern-Schale-Polymersystem mit einer oder mehreren, gleichen oder unterschiedlichen Metallverbindungen, die Nanocluster bilden,

20

(c') Aufbringen des in Schritt (b) erhaltenen Kern-Schale-Polymersystems als Film derart auf mindestens eine Seite eines Substrats, dass das Kern-Schale-Polymersystem in einer regelmäßigen Struktur im Film angeordnet ist,

25

(d') teilweises Entfernen des in Schritt (c') auf dem Substrat aufgetragenen Polymers des Kern-Schale-Polymersystems, wodurch die Nanocluster nicht mehr vollständig von dem Polymer umgeben sind, und

30

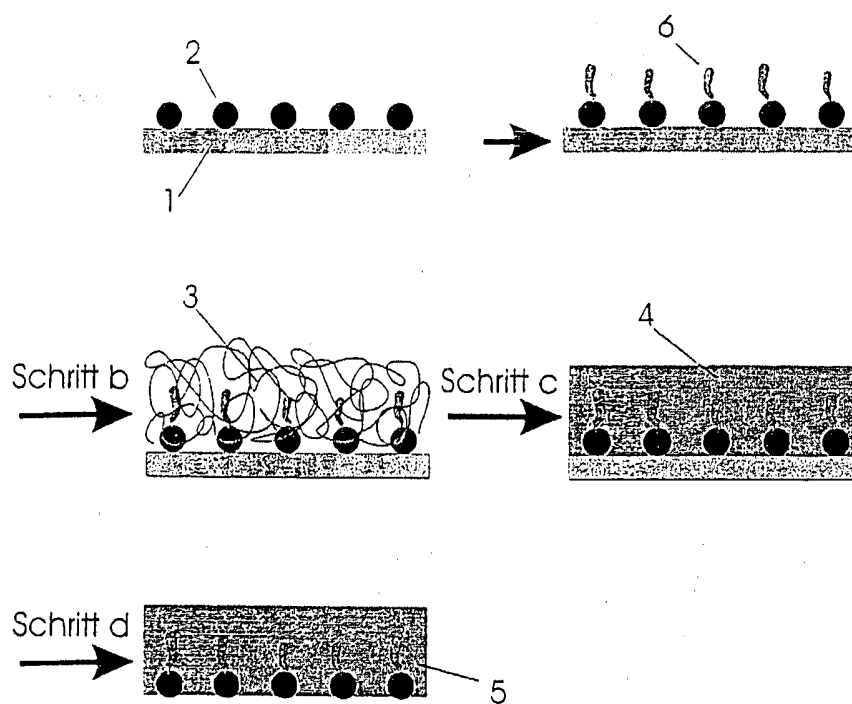
(e') Abtrennen des Substrats von dem in Schritt (d') erhaltenen Film, wodurch ein mit Nanoclustern nanostrukturierter polymerer Film erhalten wird.

9. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 4 bis 8, worin das erste Substrat aus Schritt (i) oder Schritt (a) eine dreidimensionale Form besitzt.

35

10. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 9, worin die anorganischen Cluster Au-Cluster sind.

11. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 10, worin die anorganischen Nanocluster mit einem Abstand von 1 nm bis 300 μm strukturiert angeordnet sind.
- 5 12. Substrat mit strukturierter Oberfläche, erhältlich durch ein Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 11.
13. Verwendung des Substrats gemäß Anspruch 12 zur Aufbringung auf ein Stent- oder Implantatmaterial.
- 10 14. Verwendung des Substrats gemäß Anspruch 12 zur Adhäsion von Zellen, Viren und/oder Bakterien.
- 15 15. Verwendung des Substrats gemäß Anspruch 12 zur strukturierten Anbindung biologisch aktiver Moleküle zur Imitierung, Manipulation, Untersuchung und Quantifizierung biologischer Systeme.
- 20 16. Verwendung des polymeren Substrats gemäß Anspruch 12 für die Herstellung elektronischer und optischer Bauteile und chemischer Sensoren.



FIGUR 1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International Application No
 PCT/EP2005/009787

 A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 7 B05D5/00 B05D7/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 B05D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 197 47 815 A1 (UNIVERSITAET ULM, 89081 ULM, DE) 6 May 1999 (1999-05-06) cited in the application column 1, lines 1-30; claims -----	1,8,12, 16
X	DE 198 43 411 A1 (UNIVERSITAET ULM KOERPERSCHAFT DES OEFFENTLICHEN RECHTS) 23 March 2000 (2000-03-23) page 2, lines 29-62 page 3, lines 40-60 -----	1,8,12
X	WO 99/21652 A (UNIVERSITAET ULM; SPATZ, JOACHIM; MOELLER, MARTIN; HERZOG, THOMAS; MOE) 6 May 1999 (1999-05-06) page 1, paragraph 1 page 5, line 26 - page 7, line 10 page 10, line 6 - page 11, line 2; claims ----- -/--	1,8,12

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

24 October 2005

Date of mailing of the international search report

11/11/2005

Name and mailing address of the ISA

 European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Polesak, H

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2005/009787

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2002/123227 A1 (WINNINGHAM THOMAS ANDREW ET AL) 5 September 2002 (2002-09-05) -----	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/EP2005/009787

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 19747815	A1	06-05-1999	NONE
DE 19843411	A1	23-03-2000	NONE
WO 9921652	A	06-05-1999	AT 246542 T 15-08-2003 AU 1665299 A 17-05-1999 CA 2308302 A1 06-05-1999 EP 1027157 A2 16-08-2000 JP 2004500226 T 08-01-2004
US 2002123227	A1	05-09-2002	NONE

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationale Patentzeichen
PCT/EP2005/009787

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 B05D5/00 B05D7/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 B05D

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DE 197 47 815 A1 (UNIVERSITAET ULM, 89081 ULM, DE) 6. Mai 1999 (1999-05-06) in der Anmeldung erwähnt Spalte 1, Zeilen 1-30; Ansprüche	1,8,12, 16
X	DE 198 43 411 A1 (UNIVERSITAET ULM KOERPERSONSCHAFT DES OEFFENTLICHEN RECHTS) 23. März 2000 (2000-03-23) Seite 2, Zeilen 29-62 Seite 3, Zeilen 40-60	1,8,12
X	WO 99/21652 A (UNIVERSITAET ULM; SPATZ, JOACHIM; MOELLER, MARTIN; HERZOG, THOMAS; MOE) 6. Mai 1999 (1999-05-06) Seite 1, Absatz 1 Seite 5, Zeile 26 - Seite 7, Zeile 10 Seite 10, Zeile 6 - Seite 11, Zeile 2; Ansprüche	1,8,12
	----- -/--	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

24. Oktober 2005

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

11/11/2005

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Polesak, H

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 2002/123227 A1 (WINNINGHAM THOMAS ANDREW ET AL) 5. September 2002 (2002-09-05) -----	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Patenzzeichen

PCT/EP2005/009787

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 19747815	A1	06-05-1999	KEINE
DE 19843411	A1	23-03-2000	KEINE
WO 9921652	A	06-05-1999	AT 246542 T 15-08-2003
		AU 1665299 A	17-05-1999
		CA 2308302 A1	06-05-1999
		EP 1027157 A2	16-08-2000
		JP 2004500226 T	08-01-2004
US 2002123227	A1	05-09-2002	KEINE