

Imaging von Zell-Material-Interaktionen mittels Reflektometrie

Johanna Hutterer¹, Peter Fechner¹, Günther Proll¹, Alexander Krauth¹ und Günter Gauglitz¹

¹Institut für Physikalische und Theoretische Chemie, Eberhard Karls Universität, Tübingen, Deutschland
Kontakt: johanna.hutterer@iptc.uni-tuebingen.de

Einleitung

Der Bedarf an schnellen und zuverlässigen Messergebnissen treibt die Entwicklung neuer Hochdurchsatzmethoden voran. Insbesondere in Bereichen wie der Proteomik, Genomik und Diagnostik steigt der Bedarf an hochdurchsatzfähigen Analysemethoden kontinuierlich. Um diesem Bedarf gerecht zu werden, werden häufig etablierte Techniken wie die Massenspektrometrie, die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und der Enzym-linked Immunosorbent Assay (ELISA) eingesetzt. Diese Methoden ermöglichen eine sensitive und spezifische Detektion von Biomolekülen, sind jedoch zeitintensiv und erfordern oft eine aufwendige Probenvorbereitung. Unter anderem bietet der ELISA im Mikrotiterplattenformat die Möglichkeit zur parallelisierten und damit gleichzeitigen Untersuchung mehrerer Proben. Um niedrige Nachweisgrenzen zu erzielen, werden in ELISA und verwandten Methoden (z.B. RIA, FIA) Marker wie Enzyme, radioaktive Marker, Fluorophore oder Nanopartikel eingesetzt. Im Gegensatz dazu ermöglichen direkte optische Sensormethoden wie die reflektometrische Interferenzspektroskopie (RIfS), die bilayer interferometry (BLI), die Oberflächenplasmonenresonanzspektroskopie (SPR) oder Gitterkoppler eine markierungsfreie Detektion [1]. Diese direkte Messung bietet nicht nur eine quantitative Bestimmung des Analyten, sondern erlaubt auch eine detaillierte Charakterisierung von Analyt-Rezeptor-Interaktionen, da störende Einflüsse von Markermolekülen vermieden werden. Darüber hinaus können thermodynamische und kinetische Parameter bestimmt werden. Durch die Echtzeitüberwachung in hoher zeitlicher Auflösung und den geringen Bedarf an Probenvorbereitung können direkte optische Verfahren schnelle und aussagekräftige Ergebnisse liefern.

Da vermehrt biotechnologische Verfahren eingesetzt werden, um u.a. Therapeutika herzustellen, wird auch zunehmend die Herausforderung an die Sensorik gestellt, auch komplexere biologische Systeme analysieren zu können. Auch in der Medizintechnik gewinnt die Untersuchung von Wechselwirkungen zwischen (Bio)Materialien und Zellen zunehmend an Bedeutung, um Implantat Oberflächen spezifischer auf den jeweiligen Anwendungszweck anzupassen. Auch hier sind direkte optische Methoden zur Interaktionsanalyse eine vielversprechende Option [2,3,4,5]. Vor allem photonische Kristalle [6] und Gitterkoppler [7] wurden bisher verwendet, um die Zelladsorption oder rezeptorvermittelte Veränderungen des Zellmetabolismus nach der Bindung von Wirkstoffmolekülen zu untersuchen. Auch die Reflektometrie eignet sich für die Untersuchung von Zellen auf Oberflächen. Die

RIfS wurde eingesetzt um die Adsorption von Zellen an mit Proteinen modifizierten Oberflächen [8] und das Spreiten von Jurkat-T-Zellen nach Aktivierung des Rezeptors CD28 [9] zu untersuchen.

Trotz der zahlreichen Vorteile direkter optischer Messmethoden ist die parallele Durchführung mehrerer Messungen häufig eine Herausforderung. Im Fall der SPR wurden verschiedene Varianten entwickelt, um auch mehrere Proben zeitgleich messen zu können [10]. Sowohl die SPR wie u. a. auch Mach-Zehnder Interferometer, Young Interferometer, Gitterkoppler und optische Resonatoren basieren auf dem Prinzip der Refraktometrie, wobei ausschließlich Änderungen des Brechungsindex gemessen werden [1]. Jedoch weisen refraktometrische Methoden häufig eine geringe Eindringtiefe auf, wodurch das Messen großer Analyten wie Zellen erschwert wird. Die Einwellenlängenreflektometrie, auch 1λ Reflektometrie genannt, ist eine reflektometrische Methode, die auf der Interferenz von Licht an dünnen Schichten beruht [11, 12]. Sie ist eine Variante der RIfS und bietet die Möglichkeit zum Imaging und damit zum Multiplexing. Zudem liegt die Eindringtiefe dieser Methode bei der Kohärenzwellenlänge des verwendeten Lichtes, und damit deutlich höher als bei den meisten refraktometrischen Methoden.

Die in diesem Artikel vorgestellten Ergebnisse der 1λ -Reflektometrie sollen das Potenzial dieser Methode in verschiedenen Anwendungsbereichen, von der Anwendung als Biosensor bis hin zur Untersuchung von Zell-Material-Interaktionen demonstrieren.

Die 1λ -Reflektometrie

Durch die Anlagerung der Analyten entsteht in der 1λ -Reflektometrie eine Interferenzschicht an der Transduceroberfläche (Abb. 1a, b). Die Intensität des reflektierten Lichtes hängt sowohl von der Dicke dieser Interferenzschicht sowie der Änderung des Brechungsindex an der Grenzfläche ab. Wird die Signaländerung über die Zeit aufgetragen erhält man eine Bindungskurve (Abb. 1d).

In der Einwellenreflektometrie wird ein mikrofluidisches System mit Pumpe und Flusszelle genutzt, um die Probenlösungen kontinuierlich über den Transducer zu führen (Abb. 2). Das Licht einer grünen LED wird senkrecht auf die Rückseite des Transducers eingestrahlt und die Intensität des reflektierten monochromatischen Lichts mittels Photodioden aufgenommen. Durch den Einsatz einer CCD-Kamera kann die Intensitätsänderung des reflektierten Lichts auch orts aufgelöst aufgezeichnet werden (Abb. 2).

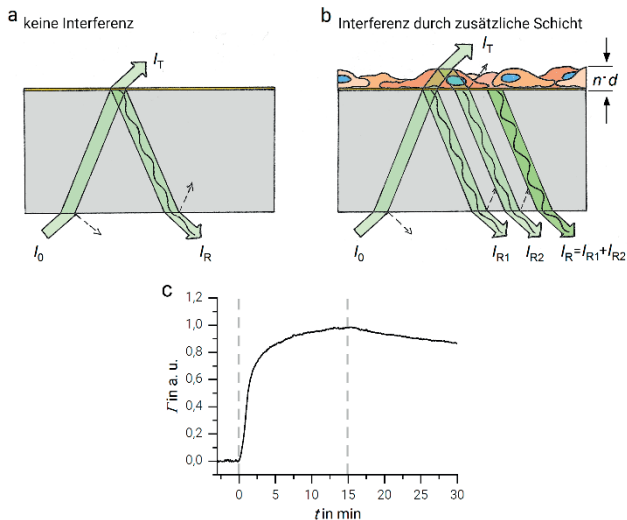


Abb. 1: Funktionsprinzip der 1- λ -Reflektometrie. a) Der Transducer der 1- λ -Reflektometrie wird senkrecht von unten (hier aus Gründen der Übersichtlichkeit in deinem Winkel gezeichnet) mit einer schmalbandigen Lichtquelle beleuchtet. b) Durch die Anlagerung der Analyten entsteht oder verändert sich eine Interferenzschicht. Die an den Phasengrenzen der Materialien mit unterschiedlichem Brechungsindex reflektierten Teilstrahlen überlagern sich. c) Das hypothetische Interferenzspektrum des reflektierten Lichtes erklärt die Änderung der Intensität des reflektierten Lichtes bei einer Wellenlänge, wenn Bindungsprozesse an der Oberfläche auftreten. d) Beispielhafte Bindungskurve gemessen mit der 1- λ -Reflektometrie

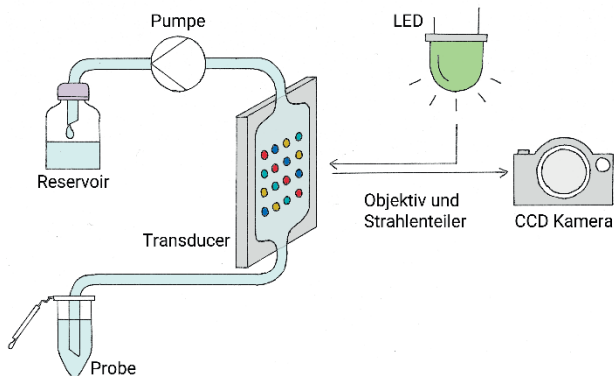


Abb. 2: Apparativen Aufbau der 1- λ -Reflektometrie. Mit Hilfe der Pumpe und einer Flusszelle wird die Probe über den Transducer geleitet. Als Lichtquelle wird eine grüne LED verwendet und das reflektierte Licht wird mit Hilfe einer CCD-Kamera aufgezeichnet.

Imaging in der 1- λ -Reflektometrie

Oberflächenmodifizierung:

Um mit der imaging-fähigen reflektometrischen Methode eine Vielzahl von Interaktionen gleichzeitig beobachten zu können, muss die Sensoroberfläche ortsaufgelöst funktionalisiert werden. Zunächst wird eine (Bio)Polymerschicht kovalent auf den gereinigten Transducern immobilisiert, um unspezifische Wechselwirkungen zu minimieren. Da alle Bindungsereignisse an der Oberfläche in der Reflektometrie zu einer Signaländerung führen, ist es wichtig die Sensoroberfläche gegenüber unspezifischen Wechselwirkungen mit Probenmatrixbestandteilen abzuschirmen, um ein spezifisches Signal zu erhalten. Anschließend werden auf dieser Schutzschicht reaktive Gruppen erzeugt, die als Ankerpunkte für die kovalente Immobilisierung von Biomolekülen dienen. Nun können die Erkennungsstrukturen wie z. B. Antikörper auf die aktivierte Oberfläche gespottet werden. Hierfür können z.B. kleine Tropfen der jeweiligen Lösungen mit Hilfe einer Pipette auf dem Transducer platziert werden. Auch das Verwenden von Schablonen in deren Aussparungen die entsprechenden Lösungen pipettiert werden, ist möglich. Mit Hilfe von automatisierten Druckverfahren können hochpräzise und reproduzierbare Arrays mit mehreren hundert verschiedenen Proben erstellt werden.

Referenzierung:

Um mögliche Inhomogenitäten der Beleuchtung des Transducers und des Probenflusses in der Flusszelle zu kompensieren, werden Bereiche auf dem Transducer nahe der Probenspots für eine interne Referenzierung herangezogen (Abb. 3). Die Möglichkeit örtlich aufgelöst messen zu können, bietet einen großen analytischen Vorteil der 1- λ -Reflektometrie, da Kontroll- und Referenzmessungen in derselben Messung mitgeführt werden können.

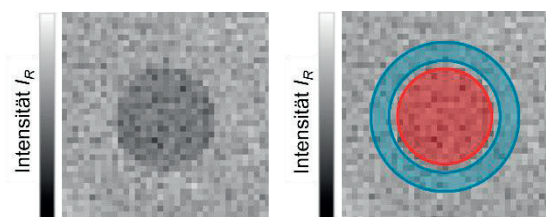


Abb. 3: Referenzierung in der 1- λ -Reflektometrie. Der Bereich des Messspots ist in Rot gekennzeichnet, während der Referenzbereich um den Messspot herum in Blau gekennzeichnet ist.

Untersuchungen biomolekularer Wechselwirkungen mittels Reflektometrie

Klassischerweise können direkt-optische Sensoren zur Untersuchung biomolekularer Wechselwirkungen herangezogen werden. Um die Leistungsfähigkeit der 1- λ -Reflektometrie in diesem Bereich zu zeigen, wurde die Interaktion eines Anti-Testosteron-Antikörpers mit Testosteron-BSA an der Oberfläche untersucht. Die Abbildung 4 zeigt ein Array mit 960 Spots mit unterschiedlichen Konzentrationen von Testosteron-BSA und verdeutlicht damit das hohe Multiplexing-Potenzial dieser Technologie. Zunächst wurde mit PBS eine Basislinie aufgenommen, um sicherzustellen, dass das Signal zu Beginn der Messung konstant ist. Nach 220 s wurde die Testosteron Antikörperlösung injiziert und die Bindungskurven aufgezeichnet. Sowohl die erhaltenen Bindungskurven als auch Intensitätsunterschiede im Array zeigen deutlich, dass die Signalintensität direkt von der Konzentration des immobilisierten Testosteron-BSA abhängt.

In einem zweiten Beispiel wurde anhand eines Modellsystems die Hybridisierung von DNA-Strängen untersucht. In diesem Modellsystem wurden unterschiedliche Konzentrationen der verwendeten

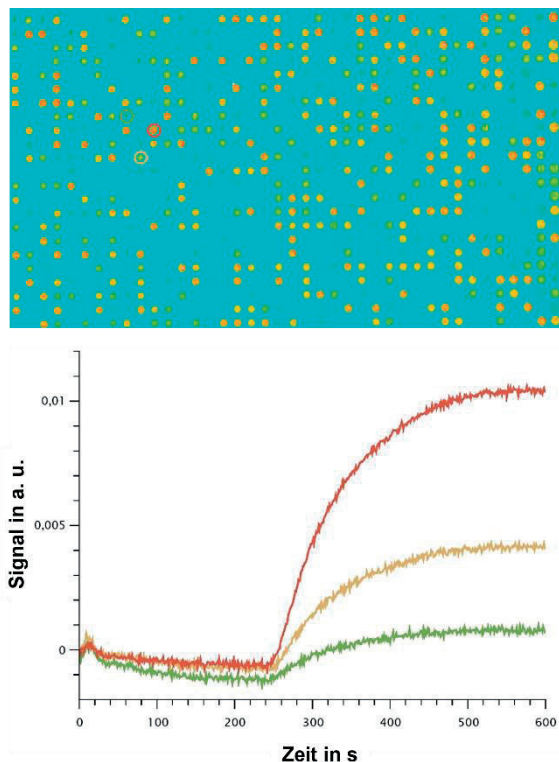


Abb. 4: Sensorarray der 1- λ -Reflektometrie mit den zugehörigen Bindungskurven eines Antikörper-Assays. Auf einen 1- λ -Reflektometrie Transducer wurden 960 Testosteron-BSA Spots in unterschiedlichen Konzentrationen immobilisiert. Oben ist die Intensitätsänderung des reflektierten Lichtes als Folge der Bindung des Anti-Testosteron Antikörpers in Falschfarbendarstellung gezeigt. Die Bindungskurven zu den mit einem grünen, gelben und roten Kreis markierten Spots sind unten abgebildet.

Fänger-DNA auf der Oberfläche mittels Spotting immobilisiert (Abb. 5). Auch hier wurde zu Beginn für 280 s eine Basislinie aufgezeichnet. Anschließend wurde bis zum Zeitpunkt 550 s die DNA-Lösung (DNA-Länge: 20 Basenpaare) injiziert und die Hybridisierung der Fänger-DNA an den Spots über die Intensitätsänderung des reflektierten Lichtes beobachtet. Anschließend wurde die Dissoziation der DNA von der Fänger-DNA für weitere 200 s aufgenommen. Die Bindungskurven in Abb. 5 bilden den gemittelten Signalverlauf aller Spots mit gleicher Fänger-DNA Konzentration ab. Da in diesem Modellsystem der komplementäre DNA-Stränge verwendet wurden zeigen diese erwartungsgemäß keine Dissoziation.

Die Ergebnisse belegen, dass die 1- λ -Reflektometrie ein sehr gutes Werkzeug zur Untersuchung biomolekularer Wechselwirkungen darstellt. Verschiedene Erkennungsstrukturen konnten erfolgreich und stabil auf der Oberfläche immobilisiert werden. Zudem sind unspezifische Wechselwirkungen an den verwendeten Probenarrays für den Antikörper-Assay sowie den DNA-Assay nicht feststellbar und die spezifische Wechselwirkung zwischen dem Analyten und Erkennungsstruktur konnte mit hoher örtlicher und zeitlicher Auflösung beobachtet werden.

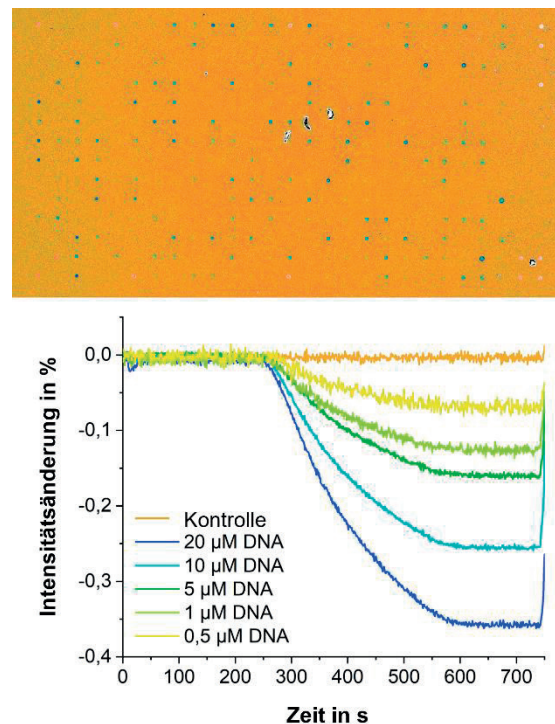


Abb. 5: Probenarray der 1- λ -Reflektometrie mit den zugehörigen Bindungskurven eines DNA-Assays. Auf einen 1- λ -Reflektometrie Transducer wurde Fänger-DNA auf Spots in unterschiedlichen Konzentrationen immobilisiert. Oben ist die Intensitätsänderung des reflektierten Lichtes als Folge der Bindung des komplementären DNA-Strangs in Falschfarbendarstellung gezeigt. Die gemittelten Bindungskurven an die Spots mit unterschiedlicher Fänger-DNA Konzentration sind unten abgebildet.

Imaging von Zell-Material-Interaktionen

Die Untersuchung komplexer biologischer Systeme erfordert häufig den Einsatz von Multiplexing-Techniken. Aufgrund der hohen Variabilität biologischer Systeme, die durch genetische Unterschiede, Umwelteinflüsse und zufällige Schwankungen bedingt ist, ist eine hohe Anzahl an Replikaten notwendig, um robuste und statistisch signifikante Ergebnisse zu erhalten. Zudem ist es oft nötig viele Interaktionspartner bei identischen Versuchsbedingungen zu untersuchen. Durch das Multiplexing in der 1- λ -Reflektometrie ist sowohl das effiziente Messen von Replikaten sowie eine simultane Messung vieler Proben zugleich möglich. Daher kann die 1- λ -Reflektometrie eingesetzt werden, um die Adsorption von Zellen an unterschiedliche Proteine zu untersuchen [13]. Hierfür wurden auf einem Glatransducer mit Hilfe einer PDMS-Schablone die Proteine Vitronektin, Kollagen, Albumin, Fibronektin und Laminin mittels Physisorption aufgebracht (Abb. 6a). Die verwendeten Maus Wildtyp Epidermis Fibroblast Zellen (MEF) wurden vor der Messung vom Boden der Kulturflaschen mittels Trypsin-EDTA gelöst und eine Zellsuspension mit einer Konzentration von $10 \cdot 10^6$ Zellen/mL hergestellt. Während der Messung wurde die Zellsuspension auf 37 °C temperiert und regelmäßig geschwenkt, um eine Sedimentation der Zellen in der Probe zu verhindern. Nachdem die Basislinie mit Zellkulturmedium aufgezeichnet wurde, wurde die Zellsuspension 15 min lang über die Oberfläche geleitet. Während der folgenden 45 min wurde erneut das Zellkulturmedium über den Transducer geführt, um das Verhalten der Zellen an den Oberflächen zu beobachten.

Die Injektion der Zellsuspension führte auf allen Oberflächen zu einem deutlichen Anstieg des Messsignals, was auf eine Adsorption der Zellen an die jeweiligen Proteine hinweist (Abb. 6). Die größte Signaländerung wurde auf den Laminin, gefolgt von Fibronektin, Albumin, Kollagen und Vitronektin Oberflächen beobachtet. Da die initiale Zelladsorption zum Teil die Kinetik der Zell-Material-Interaktion widerspiegelt, wurde die Anfangssteigung der Bindungskurven bestimmt. Im Vergleich zu den anderen getesteten Oberflächen (Fibronektin, Kollagen, Albumin) zeigte Laminin die höchste initiale Adhäsionsrate, während Vitronektin die niedrigste aufwies. Die Betrachtung der Dissoziationsphase lieferte weitere wertvolle Erkenntnisse. Ein ausgeprägter Abfall des Signals auf den Laminin- und, in geringerem Maße, auf den Albumin- und den Kollagen-Oberflächen deutet auf eine Ablösung der Zellen von diesen Substraten hin. Auf der Fibronektin-Oberfläche ist der Signalabfall am wenigsten deutlich was für eine bessere Adhäsion der Zellen auf diesen Oberflächen spricht. Die konstante Erhöhung des Signals auf Vitronektin-Oberflächen weist hingegen auf eine bessere Adhäsion und ein beginnendes Spreiten der Zellen auf der Oberfläche hin. In Tab.1 sind einige Charakteristika der Interaktion zusammengefasst.

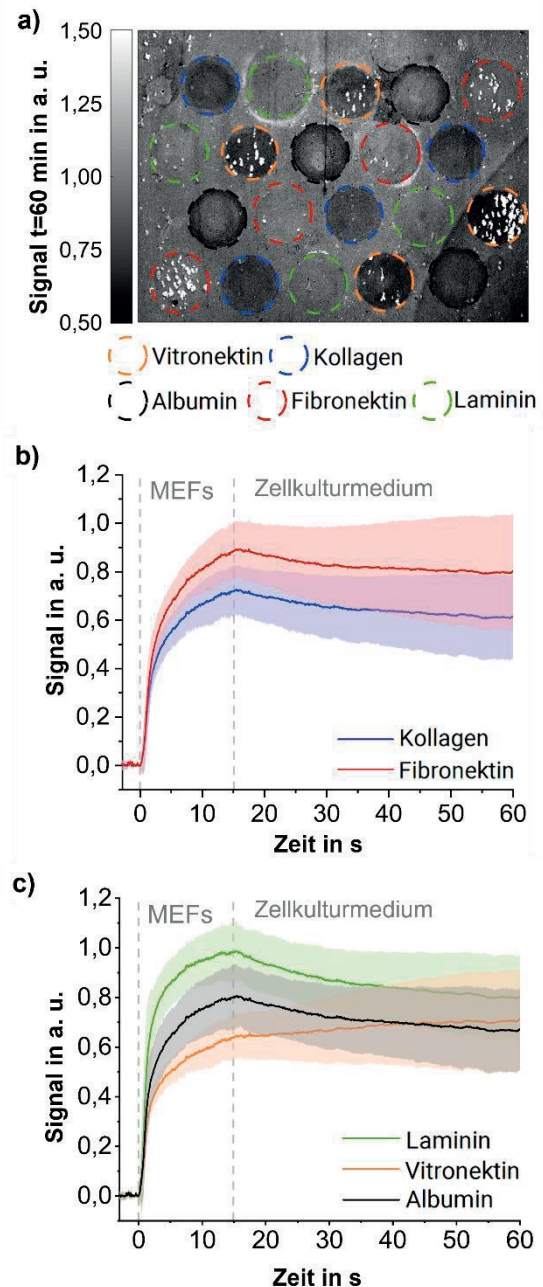


Abb.6: Adsorption von MEF-Zellen auf mit Spots verschiedenen Proteinen auf einer Glasoberfläche. a) Illustration des durch die Zelladsorption verursachten 1- λ -Reflektometrie-Signals. Die Spots der 5 untersuchten Proteinen mit jeweils 4 Replika sind mit den verschiedenfarbigen Kreisen markiert. Das Graustufenbild zeigt die Intensität des reflektierten Lichtes. b) Sensorgramm zeigt die Zelladsorption auf Kollagen und Fibronektin und c) Laminin, Vitronektin und Albumin. Die Linien zeigen den Mittelwert und die farbig hinterlegte Fläche die Standardabweichung von jeweils 12 Replikaten. Nach der Basislinie mit dem Zellkulturmedium wurde die Zellsuspension mit einer Konzentration von $10 \cdot 10^6$ Zellen/mL 15 min lang über den Transducer geleitet. Daraufhin wurde das Zellkulturmedium 45 min lang injiziert, um die Dissoziation der Zellen von der Oberfläche zu beobachten.

Tab. 1: Charakteristika der Adsorption von MEF-Zellen auf mit Proteinen modifizierten Oberflächen.

	initiale Zelladsorption in a. u./s	Signal nach 15 min in a. u.
Vitronektin	0,35 ± 0,08	0,64 ± 0,09
Kollagen	0,36 ± 0,10	0,72 ± 0,11
Albumin	0,49 ± 0,14	0,80 ± 0,13
Fibronektin	0,46 ± 0,11	0,89 ± 0,12
Laminin	0,75 ± 0,15	0,98 ± 0,12

Um einen direkten Vergleich zwischen dem Messsignal der 1- λ -Reflektometrie und der Anzahl adhärnter Zellen zu ermöglichen, wurden fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen verwendet. Hierzu wurden die Zellen in einer Dichte von 500 Zellen/mm² auf den mit Proteinen funktionalisierten Transducer für 15 min oder 24 h inkubiert und anschließend fixiert und gefärbt (AktinGreen, NucBlue). Die Anzahl der adhärenen Zellen auf den unterschiedlichen Oberflächen wurde über die Zählung der gefärbten Zellkerne ermittelt (Abb. 7). Der Vergleich des Messsignals nach 15 min und der Anzahl der adhärenen Zellen resultierte in einer hervorragenden Korrelation dieser beiden Messgrößen. Daher spiegelt das Signal in der 1- λ -Reflektometrie nach 15 min die Anzahl der adsorbierten Zellen wider. Während eine Fixierung und Färbung der Zellen nach 15 min keine belastbaren Ergebnisse liefern würde, da die noch schwach gebundenen Zellen während dem Fixieren und Färben leicht abgelöst werden können, liefert die 1- λ -Reflektometrie schon nach dieser kurzen Messzeit aussagekräftige Ergebnisse. Zudem ermöglicht die hohe zeitliche Auflösung eine umfassende Charakterisierung der Zell-Material-Interaktion, wobei die Interaktion der Zellen mit verschiedenen Proteinen simultan untersucht werden konnte.

Zusammenfassung und Ausblick

In den vorliegenden Studien konnten wir die breite Anwendbarkeit der 1- λ -Reflektometrie demonstrieren, die von der Anwendung als Biosensoren bis hin zur Untersuchung von Zell-Material-Interaktionen reicht. Die Verschiedene Erkennungsstrukturen konnten auf dem Transducer erfolgreich immobilisiert werden. Automatisierte Druckverfahren ermöglichten eine Anzahl von bis zu 960 Messspots auf einem Transducer, was das hohe Multiplexing-Potenzial dieser Methode zeigt. Mit verfeinerten Druckprotokollen kann theoretisch auch eine weitaus größere Anzahl an Proben auf einem Transducer immobilisiert werden. Neben der Untersuchung von biomolekularen Wechselwirkungen lieferte auch die Untersuchung von Zell-Material-Interaktionen vielversprechende Ergebnisse. Es konnte gezeigt werden, dass das Signal der 1- λ -Reflektometrie nach einer Messzeit von 15 min proportional zur Anzahl der adhärenen Zellen ist. Zudem konnte die Interaktion der MEF-Zellen mit den Proteinen Vitronektin, Kollagen, Albumin, Fibronektin und Laminin aufgrund der hohen zeitlichen Auflösung der 1- λ -Reflektometrie umfassend charakterisiert werden. Die gewonnenen Bindungskurven können für kinetische und thermodynamische Analysen der Interaktionsprozesse herangezogen werden, womit ein Affinitätsscreening mit Hilfe der 1- λ -Reflektometrie realisierbar ist. Auch die Untersuchung einzelner Zellen erscheint möglich, wenn Objektive mit stärkerer Vergrößerung verwendet werden. Ein mögliches Anwendungsfeld dieser Methode ist die Qualitätskontrolle biotechnologischer Herstellungsprozesse. Die 1- λ -Reflektometrie wird bereits im Rahmen des HORIZON EUROPE Projekt (BioProS) eingesetzt, um an einer Verbesserung der Qualitätskontrolle während der Produktion therapeutischer Viren zu forschen. In diesem Projekt soll ein

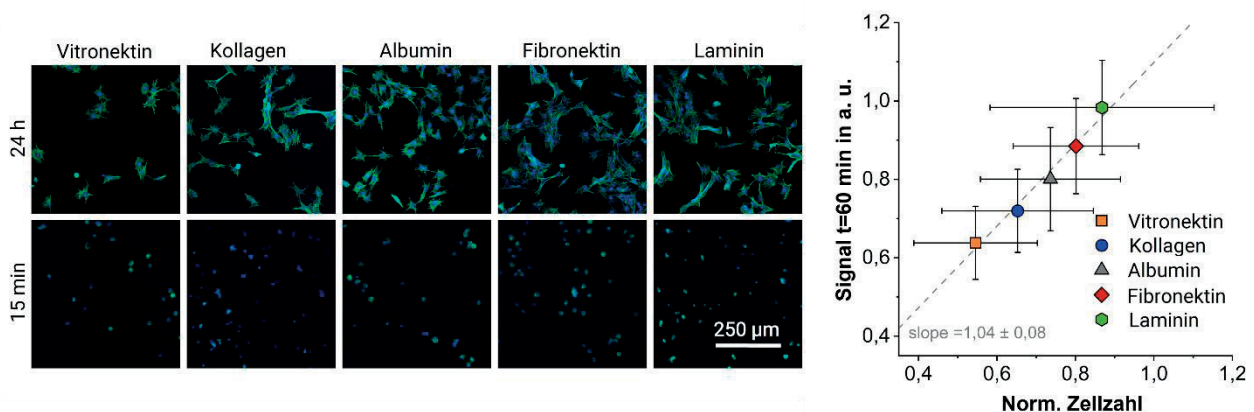


Abb.7: links: Morphologische Untersuchung der Adhärenen MEF-Zellen auf dem mit verschiedenen Proteinen beschichtetem Glas. Die in grün dargestellte Färbung von F-Aktin gibt Aufschluss über die Organisation des Zytoskeletts der Zellen. Die Anzahl der adhärenen Zellen würde über die Zählung der gefärbten Zellkerne (blau) erfasst. Rechts: lineare Korrelation des 1- λ -Reflektometrie -Signals nach einer Injektionszeit der Zellsuspension von 15 min und der Anzahl an fixierten und fluoreszenzmarkierten Zellen nach einer Inkubationszeit von 24 h.

multifunktionaler Sensorchip zur simultanen Messung verschiedener Assays (DNA, Antikörper, zellbasiert) entwickelt werden. In der Materialforschung für die Medizintechnik kann die 1- λ -Reflektometrie dazu beitragen, die Interaktionen der relevanten Zelltypen mit neu entwickelten Implantat Oberflächen zu charakterisieren.

Literatur

- [1] Gauglitz, Guenter. "Direct optical sensors: principles and selected applications." *Analytical and bioanalytical chemistry* 381 (2005): 141-155.
- [2] Chen, Yangyang, et al. "Optical biosensors based on refractometric sensing schemes: A review." *Biosensors and Bioelectronics* 144 (2019): 111693.
- [3] Gauglitz, Günter. "Critical assessment of relevant methods in the field of biosensors with direct optical detection based on fibers and waveguides using plasmonic, resonance, and interference effects." *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 412.14 (2020): 3317-3349.
- [4] Fang, Ye. "Label-free cell-based assays with optical biosensors in drug discovery." *Assay and drug development technologies* 4.5 (2006): 583-595.
- [5] Ramsden, J. J., et al. "Kinetics of adhesion and spreading of animal cells." *Biotechnology and Bioengineering* 43.10 (1994): 939-945.
- [6] Shamah, Steven M., and Brian T. Cunningham. "Label-free cell-based assays using photonic crystal optical biosensors." *Analyst* 136.6 (2011): 1090-1102.
- [7] Fang, Y. "Optical waveguide-based cellular assays." *Label-Free Monitoring of Cells in vitro* (2019): 189-217.
- [8] Hutterer, J.; Gauglitz, G. "Charakterisierung von Zellsorption auf Biomaterialien mittels Reflektometrischer Interferenzspektroskopie." *14. Dresdner Sensor-Symposium 2019 (AMA)* 2019, 82 – 87.
- [9] Möhrle, Bernd P., et al. "Label-free characterization of cell adhesion using reflectometric interference spectroscopy (RIfS)." *Analytical and bioanalytical chemistry* 384 (2006): 407-413.
- [10] Wong, Chi Lok, and Malini Olivo. "Surface plasmon resonance imaging sensors: a review." *Plasmonics* 9 (2014): 809-824.
- [11] Schwarz, Barbara, et al. "Imaging Reflectometric Interference Spectroscopy (iRIfS) für die markierungsfreie biomolekulare Interaktionsanalyse von Peptid- und Proteinarrays" *Deutsches BioSensor Symposium, Heilbad Heiligenstadt*. Bd. 47. 2011.
- [12] Fechner, Peter, Günter Gauglitz, and Günther Proll. "Through the looking-glass-Recent developments in reflectometry open new possibilities for biosensor applications." *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 156 (2022): 116708.
- [13] Hutterer, Johanna, et al. "Parallelized label-free monitoring of cell adhesion on extracellular matrix proteins measured by single colour reflectometry." *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (2022): 1-11.

Danksagung

Wir danken Albert Kraft für die Durchführung der 1- λ -Reflektometrie Messungen zum DNA-Modellsystem. Prof. Ralf Kemkemer und seinem Arbeitskreis danken wir für die Mitbenutzung des Zellkulturlabors sowie die Bereitstellung der MEF-Zellen. Diese Arbeiten wurden im Rahmen des Promotionskollegs „Intelligente Prozess- und Materialentwicklung in der Biomaterialomics“ vom Ministerium für Wissenschaft, Forschung und Kunst Baden-Württemberg und dem HORIZON EUROPE Projekt (BioProS, grant agreement no. 101070120) durch die Europäische Union unterstützt.