

# Zelladhäsionsverhalten auf enantiomerenrein funktionalisierten Zeolith-L-Monoschichten\*\*

Jehad El-Gindi, Kathrin Benson, Luisa De Cola, Hans-Joachim Galla und Nermin Seda Kehr\*

Professor Dieter Hoppe zum 70. Geburtstag gewidmet

Die meisten Zellfunktionen, wie Adhäsion, Wachstum, Proliferation oder Differenzierung, werden durch die Art und Weise wie Zellen mit der extrazellulären Matrix (EZM) wechselwirken, beeinflusst.<sup>[1]</sup> Die EZM ist eine komplexe Mischung aus nichtlebender Materie, welche die meisten Zellen in mehrzelligen Organismen umgibt und die physikalischen Eigenschaften des Gewebes durch Zell-Matrix-Beziehungen bestimmt. Neben der Regulierung der interzellulären Kommunikation ist die EZM für das dynamische Verhalten von Zellen verantwortlich. In der biomedizinischen Forschung werden derzeitig funktionalisierte nanostrukturierte Materialien, wie selbstorganisierende Monoschichten (SAMs) aus Nanopartikeln (NPs), als Modellsysteme für die EZM verwendet.<sup>[2]</sup> Bei den SAMs aus NPs werden die mit den Nanopartikeln verankerten funktionellen Gruppen in viel höherer Dichte angeboten als bei rein kovalenter Anbindung der gleichen Gruppen an die Oberfläche oder als SAMs der Funktionalität auf dem Träger.<sup>[2f,3]</sup> Dies führt zu einer größeren Zahl an Kontaktstellen zwischen den Zellen und der Oberfläche, und somit kann der Informationstransfer zwischen den lebenden Zellen und dem biokompatiblen Material verbessert und kontrolliert werden.

Während des letzten Jahrzehnts wurde gezeigt, dass die Wechselwirkung zwischen Zellen und nanostrukturierten Oberflächen durch bioaktive Liganden kontrolliert werden kann,<sup>[4]</sup> z.B. auf der Oberfläche adsorbierte oder in diese eingegebene Kohlenhydrate oder Peptide,<sup>[5-7]</sup> führen zur Biokompatibilität und steigern die Adhäsion und das Wachstum von Zellen. Da in der Natur Enantiomere unterschiedliche Effekte auf biologische Vorgänge haben, müssen beide optischen Isomere des entsprechenden bioaktiven Liganden für das Design von biokompatiblen nanostrukturierten Materialien beachtet werden. In einer bahnbrechenden Arbeit zeig-

ten Addadi et al., dass sich Endothelzellen auf enantiomeren Calciumtartrat-Kristallen unterschiedlich verhalten.<sup>[8]</sup> Kürzlich berichteten Sun et al. über die Wechselwirkung von lebenden Systemen mit chiralen Oberflächen.<sup>[9a,b]</sup> Sie zeigten, dass Zellen ihre Morphologie und ihr Adhäsionsverhalten in Abhängigkeit von der verwendeten chiralen Oberfläche veränderten. Die gleiche Gruppe beschrieb das unterschiedliche Adsorptionsverhalten von einzel- und doppelsträngiger DNA sowie von Proteinen auf enantiomeren Oberflächen.<sup>[10a-e]</sup>

Hier berichten wir über die enantioselektive Funktionalisierung von Zeolith-Nanopartikeln mit Aminosäuren, den Aufbau der entsprechenden Monoschichten und die stereo-kontrollierte Wechselwirkung der erhaltenen enantiomeren SAMs mit unterschiedlichen Zelltypen (Primärzellen, Zelllinien einschließlich Krebszellen). Der Gebrauch von Zeolithen bringt gegenüber der bloßen Funktionalisierung der Trägeroberfläche den Vorteil, dass die Poren der Partikel genutzt werden können, indem man sie mit Fluoreszenzfarbstoffen belegt. Durch Verwendung von enantiomeren SAMs aus farbstoffbeladenen Zeolithen können wir die Position der Zellen auf den NPs bestimmen. Interessanterweise haben wir herausgefunden, dass wir unsere Strategie zur Trennung von Primärzellen und Krebszellen verwenden können. Bei der erfolgreichen Untersuchung zur Trennung von zwei Zelltypen haben wir insbesondere bei Verwendung von Endothelzellen und C-6-Gliomzellen eine herausragende Selektivität gefunden.

Zeolith-L-Kristalle, ein bekanntes mikroporöses Alumosilicatmaterial, wurden als Mikro/Nanoobjekte gewählt, um ihre Vorteile zu nutzen: die kristalline Natur, die optische Transparenz, die großenabhangigen Eigenschaften<sup>[11]</sup> (von 30 bis 10000 nm) und, wichtig für unsere Anwendung, die Einstellung der Seitenverhältnisse von langen Zylindern bis hin zu sehr flachen Scheiben. Zeolithe haben zahlreiche Anwendungen im Bereich von Sensorik,<sup>[12]</sup> Elektronik<sup>[13]</sup> und Biotechnologie.<sup>[14]</sup> Die Oberfläche der Kristalle lässt sich einfach funktionalisieren, und sie können als Monoschichten auf Siliciumträgern organisiert werden.<sup>[15,16]</sup> Kürzlich haben wir die Funktionalisierung von Zeolithen und SAMs aus Zeolithen mit den bioaktiven Molekülen Arginin-Glycin-Asparaginsäure (RGD)<sup>[17]</sup> bzw.  $\alpha$ -D-Mannosid<sup>[18]</sup> mithilfe der Mikrokontaktdruck-Technik beschrieben. Die entsprechenden SAMs aus Zeolithen wurden für Zelladhäsions- und Zellstrukturierungsexperimente genutzt.<sup>[17,18]</sup>

Penicillamin (PEN), ein bioaktiver Chelatbildner, wurde als bioaktives Molekül ausgewählt, da die beiden Enantiomere sehr unterschiedliche Eigenschaften aufweisen. Die pharmazeutische Form von PEN, D-Penicillamin (D-PEN),

[\*] Dr. J. El-Gindi, Prof. L. De Cola, Dr. N. Seda Kehr  
Physikalisches Institut und Zentrum für Nanotechnologie  
Westfälische Wilhelms-Universität Münster  
Heisenbergstraße 11, 48149 Münster (Deutschland)  
E-Mail: seda@uni-muenster.de

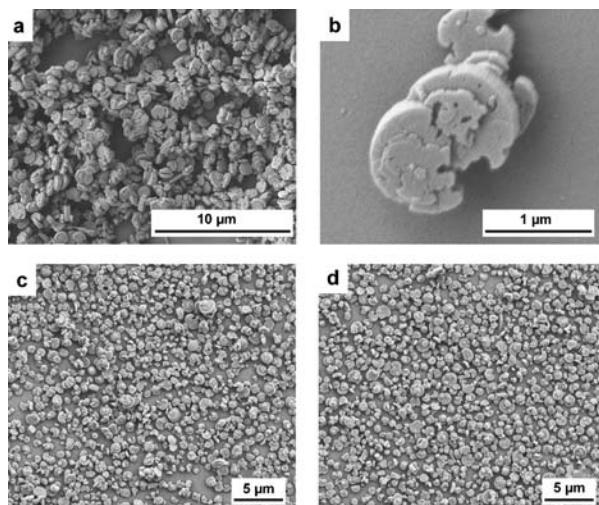
K. Benson, Prof. H.-J. Galla  
Institut für Biochemie, Westfälische Wilhelms-Universität Münster  
Wilhelm-Klemm-Straße 2, 48149 Münster (Deutschland)

[\*\*] Diese Arbeit wurde unterstützt durch den ERC Advanced grant award Nr. 247365. N.S.K. dankt dem SFB 858 für die finanzielle Unterstützung. Wir danken Prof. Rainer Pöttgen und Dr. Manfred Möller für XRD-Messungen und Dr. Andreas Schäfer für XPS-Messungen.

 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201109144> zu finden.

wird zur Entfernung des Kupferüberschusses bei der Wilson-Krankheit verwendet. L-Penicillamin (L-PEN) verhindert die Wirkung von Pyridoxin, das den Natrium-Kalium-Ausgleich unterstützt und die Bildung von roten Blutkörperchen fördert.

Scheibenförmige Zeolith-L-Kristalle mit einem mittleren Durchmesser von ca. 820 nm und einer Höhe von 360 nm wurden hergestellt<sup>[11]</sup> (siehe Abbildung 1a,b; ein Größen-



**Abbildung 1.** Rasterelektronenmikroskopie (REM)-Aufnahme von scheibenförmigen Zeolith-L-Kristallen (a, b). REM-Aufnahmen von L-PEN-zeo (c), D-PEN-zeo (d).

verteilungshistogramm und ein Röntgenbeugungsdiagramm (XRD) der Zeolithe sind in Abbildung S1 bzw. S2 der Hintergrundinformationen zu finden). Die Kristalle wurden nach Standardmethoden mit dem Fluoreszenzfarbstoff *N,N'*-Bis(2,6-dimethylphenyl)perlen-3,4,9,10-tetracarbonsäure-dimid (DXP)<sup>[19]</sup> beladen und mit 3-(Aminopropyl)triethoxysilan (APTES) funktionalisiert.<sup>[20]</sup> Die erhaltenen aminofunktionalisierten Zeolith-L-Kristalle (NH<sub>2</sub>-zeo) wurden geteilt. Um Chiralität auf der Zeolithoberfläche einzuführen, wurde ein Teil mit D-PEN, der andere Teil mit L-PEN funktionalisiert, jeweils in Gegenwart von 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid (EDC) und *N*-Hydroxysuccinimid (NHS) in Dimethylsulfoxid (DMSO) zur Initiierung der Peptidkupplungsreaktion (Abbildung S3). Abschließend wurden die entsprechenden SAMs aus den enantiomerenrein funktionalisierten Zeolithen auf Glasoberflächen hergestellt (Abbildung 1c,d; Details sind in den Hintergrundinformationen zu finden).<sup>[15a, 16a]</sup> Die Zeolith-L-Kristalle wurden kovalent an die Glasoberfläche gebunden, um stabile SAMs aus Zeolith L zu erhalten.

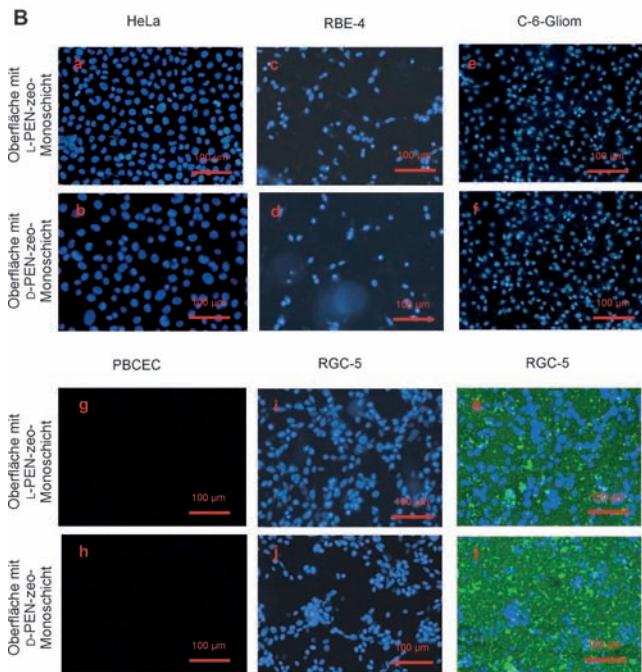
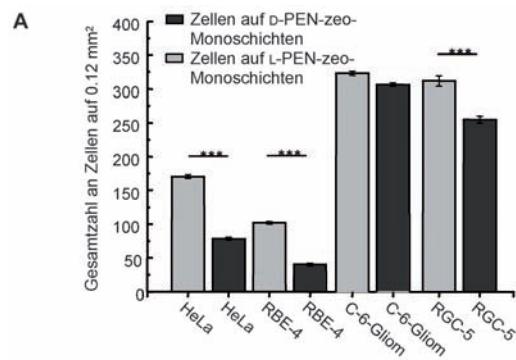
Die D- und L-PEN funktionalisierten Zeolith-Kristalle (D-PEN-zeo bzw. L-PEN-zeo) wurden mit Infrarotspektroskopie (IR), Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS) und über ihr Zeta-Potential charakterisiert. Die IR Banden der  $\nu(\text{CO})$ - und  $\nu(\text{CN})$ -Schwingungen der Amidbindungen aus den PEN-funktionalisierten Zeolith L bei 1641 bzw. 1543 cm<sup>-1</sup> (L-PEN-zeo) und 1645 bzw. 1543 cm<sup>-1</sup> (D-PEN-zeo) sind charakteristisch für die Amid-I- und Amid-II-Absorption (Abbil-

dung S4, S5). Das C1s-XPS-Spektrum von D- und L-PEN-zeo zeigte einen scharfen Peak bei ca. 285.0 eV für die Kohlenwasserstoffkette. Die Bindungsenergie von etwa 288.4 eV wurde der Amidfunktion zugeordnet (O=C—N) (Abbildung S6, S7). Die signifikante Erhöhung des Zeta-Potentials der modifizierten Zeolithe von 17.0 mV (NH<sub>2</sub>-zeo), 25.1 mV (D-PEN-zeo) bzw. 24.9 mV (L-PEN-zeo) bei pH 7 zeigte zusätzlich die erfolgreiche Funktionalisierung von NH<sub>2</sub>-zeo mit Penicillamin.

Anschließend wurden Adhäsionsexperimente mit verschiedenen Zelltypen, wie Primärzellen (Endothelzellen) und Krebszellen (HeLa, RGC-5, RBE-4, C-6-Gliomzellen), sowohl mit den D- als auch mit den L-PEN-zeo-Monoschichten durchgeführt. Jeder Zelltyp wurde einzeln auf die D- bzw. L-PEN-zeo-Monoschicht ausgesät und inkubiert. Nach 12 Stunden wurden die adhärierten Zellen gewaschen, fixiert und mit 4',6-Diamidino-2-phenylindol-dihydrochlorid (DAPI) angefärbt.

Die fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen in Abbildung 2 zeigen, dass sich das Adhäsionsverhalten der Zelllinien wie auch der Primärzellen gegenüber den funktionalisierten Zeolith-L-Monoschichten in Abhängigkeit von der entsprechenden Oberflächenchiralität unterscheidet. HeLa-Zellen (aus dem Gebärmutterhalskrebs), RBE-4-Zellen (endothiale Zelllinie aus Rattengehirn) und RGC-5-Zellen (Zelllinie aus Netzhautganglion der Ratte) adhärierten stärker auf den L-PEN-zeo-Oberflächen als auf den D-PEN-zeo-Oberflächen (Abbildung 2). Doppelt so viele HeLa-Zellen adhärierten auf der L-PEN-funktionalisierten Oberfläche, und im Fall der RBE-4-Zellen wurden sogar fast dreimal so viele detektiert. RGC-5-Zellen bevorzugten die L-PEN-zeo-Oberflächen, aber dieser Zelltyp scheint größere Cluster auf der D-PEN-zeo-Oberfläche zu bilden. Diese Ergebnisse demonstrieren, dass Zellen die verschiedenen enantiomorphen Oberflächen der SAM aus Zeolith erkennen und differenzieren können. Eindrucksvolle Unterschiede wurden beim Vergleich von primären Kapillarendothelzellen des Schweinehirns (PBCEC) mit C-6-Gliomzellen (Astrocyt-Gliomzellen der Ratte) erhalten. Die Zellen zeigten ein komplett unterschiedliches Adhäsionsverhalten. Während C-6-Gliomzellen auf beiden Oberflächen ungefähr gleich adhärierten, beobachteten wir keine Adhäsion von Endothelzellen auf den Oberflächen (Abbildung 2). Dieses Verhalten wird vermutlich durch die bioaktiven Substituenten der Zeolith-L-Oberfläche verursacht<sup>[17, 18]</sup> und/oder durch die Nanostrukturierung der Oberfläche bewirkt.<sup>[21]</sup> Dieses bemerkenswerte Resultat weist auf die Möglichkeit der Abtrennung eines Zelltyps aus einem Gemisch mit einem anderen hin. Der Einsatz von DXP-beladenen PEN-Zeolithen ermöglichte uns die unabhängige Beobachtung der Zeolithkristalle und der angefärbten Zellen. So konnten wir die Position der Zellen auf der Monoschicht bestimmen. Als repräsentative Beispiele zeigen Abbildung 2k und 2l die fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen von RGC-5-Zellen auf DXP-beladenen SAMs aus Zeolithen.

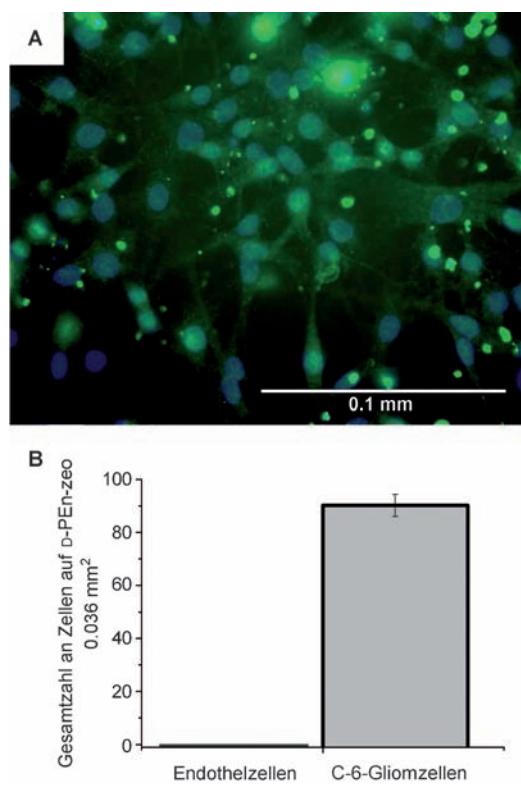
Neben der Zell-EZM-Wechselwirkung sind die Analyse und Trennung von Zellen (z.B. Extraktion von ungewöhnlichen Zellen aus einer heterogenen Population) wichtige Instrumente der experimentellen Biologie und Medizin.<sup>[22]</sup> Be-



**Abbildung 2.** A) Quantitative Daten der auf den d- und L-PEN-zeo-Monoschichten angelagerten Zellen.  $N=3$ ; \*; \*\*\* Daten zeigen signifikante Unterschiede (ANOVA: \*  $p \leq 0.05$ , \*\*\*  $p \leq 0.001$ ). Die Dichte der HeLa-Zellen auf den SAMs aus L-PEN-zeo bzw. d-PEN-zeo war  $1.4 \times 10^5 \text{ cm}^{-2}$  bzw.  $6.5 \times 10^4 \text{ cm}^{-2}$ . Die Dichte der RBE-4-Zellen auf den SAMs aus L-PEN-zeo bzw. d-PEN-zeo betrug  $8.5 \times 10^4 \text{ cm}^{-2}$  bzw.  $3.3 \times 10^4 \text{ cm}^{-2}$ . Die Dichte der C-6-Gliomzellen auf den SAMs aus L-PEN-zeo bzw. d-PEN-zeo wurde zu  $2.7 \times 10^5 \text{ cm}^{-2}$  bzw.  $2.5 \times 10^5 \text{ cm}^{-2}$  ermittelt. Die Dichte der RGC-5-Zellen auf den SAMs aus L-PEN-zeo bzw. d-PEN-zeo war  $2.6 \times 10^5 \text{ cm}^{-2}$  bzw.  $2.1 \times 10^5 \text{ cm}^{-2}$ . B) Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen der auf den enantiomerenrein funktionalisierten Zeolith-Monoschichten angelagerten unterschiedlichen Zellen. (a–j) Anregung: 330–385 nm, (k–l) Anregung: 400–440 nm. Blau: DAPI-angefärbte Zellen; grün: DXP-beladene Zeolith.

sonders die Vermeidung der Kontamination von Zellkulturen oder die Trennung von Primärzellen und Zelllinien erfordern besondere Methoden. Um zu belegen, dass die Selektivität unserer Oberflächen bezüglich der Zelladhäsion zur Zelltrennung genutzt werden kann, haben wir mit unserem enantiomorphen und biokompatiblen Material einen neuen Satz von Experimenten vorbereitet. In einem repräsentativen Beispiel haben wir d-PEN-funktionalisierte Monoschichten verwendet, um Endothelzellen (Primärzellen) von C-6-Gli-

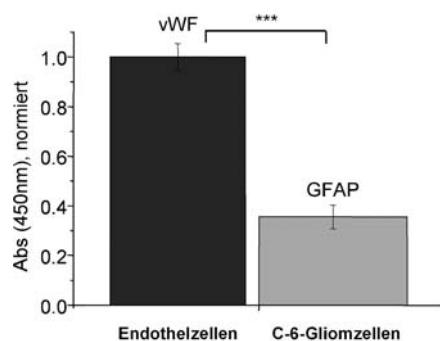
omzellen (Zelllinie) zu trennen, da es mit den verschiedenen Verdauungsprotokollen bisher noch immer nicht möglich ist, ausdifferenzierte Gliomzellen von Endothelzellen der Blut-Gehirn-Schranke (BBB) zu isolieren. Ein 1:1-Gemisch der beiden Zelltypen wurde auf eine d-PEN-zeo-Monoschicht aufgebracht, und nach 12-stündiger Inkubation wurde der Überstand von der d-PEN-zeo-Monoschicht getrennt. Die auf der d-PEN-zeo-Monoschicht adhärierten Zellen wurden fixiert und einer Immunfärbung mit Antikörpern unterzogen: Van-Willebrand-Faktor (vWF, exprimiert von Endothelzellen, rote Fluoreszenz)<sup>[23]</sup> und saures Gliafaserprotein (GFAP, exprimiert von C-6-Gliomzellen, grüne Fluoreszenz)<sup>[24]</sup> wurden als spezifische Antigene der Zellsorten verwendet. Danach wurden die Zellkerne der auf der d-PEN-zeo-Monoschicht adhärierten Zellen mit DAPI (blaue Fluoreszenz) angefärbt. Abschließend wurden sie mit Fluoreszenzmikroskopie (Abbildung 3 A) analysiert und mit dem Programm Image J quantifiziert (Abbildung 3 B). Die fluoreszenzmikroskopische Aufnahme in Abbildung 3 A zeigt eindeutig die vollkommene Trennung von C-6-Gliomzellen und Endothelzellen bei der Verwendung von Oberflächen mit einer d-PEN-zeo-Nanoschicht. Ausschließlich C-6-Gliom-



**Abbildung 3.** Trennung von Endothelzellen und C-6-Gliomzellen mit SAM aus d-PEN-zeo-Oberflächen. A) Die Immunfluoreszenzaufnahme der auf der SAM aus d-PEN-zeo-Oberfläche anhaftenden GFAP-markierten C-6-Gliomzellen (Anregung: 460–550 nm; blau: DAPI-angefärbte C-6-Gliomzellkerne, grün: GFAP-markierte C-6-Gliomzellen). B) Quantitative Daten der auf der d-PEN-zeo-Monoschicht angelagerten Zellen.  $N=4$ ; \* Daten zeigen signifikante Unterschiede (ANOVA: \*  $p \leq 0.05$ ). Die Dichte der C-6-Gliomzellen auf der d-PEN-zeo-Monoschicht ist  $2.5 \times 10^5 \text{ cm}^{-2}$ ; es wurden keine Endothelzellen auf der Oberfläche detektiert.

zellen adhärierten auf der Zeolith-Monoschicht, da nur die grüne Fluoreszenz der GFAP exprimierenden Zellen fluoreszenzmikroskopisch detektiert wurde. Es wurde keine rote Fluoreszenz der vWF exprimierenden Endothelzellen auf der Oberfläche der Zeolith-Monoschicht gefunden.

Wir quantifizierten unsere Resultate durch Bestimmung der Zahl der verbliebenen Endothelzellen und C-6-Gliomzellen im Überstand nach dem Zelltrennungsexperiment. Die Zellen im Überstand wurden einer Immunfärbung mit vWF (Endothelzellen) bzw. GFAP (C-6-Gliomzellen) unterworfen und mit einem ELISA-Test („enzyme linked immunosorbent assay“) analysiert. Der ELISA-Test zeigte, dass im Überstand des Zelltrennungsexperiments mindestens dreimal so viel vWF (Endothelzellen) wie GFAP (C-6-Gliomzellen) detektiert wurde (Abbildung 4). Somit war es möglich, mit unserem



**Abbildung 4.** Die mit ELISA bestimmte relative Menge von nichtanhärenden Endothelzellen und C-6-Gliomzellen im Überstand:  $1 \pm 0.016$  für Endothelzellen und  $0.333 \pm 0.048$  für C-6-Gliomzellen.  $N = 6-8$ ; \*\*\* Daten zeigen signifikanten Unterschied (ANOVA, t-Test einer Stichprobe; \*\*\*  $p \leq 0.001$ ). Die Daten wurden auf die Absorption der Endothelzellen bei 450 nm gleich 1 normiert.

neuen enantiomorphen biokompatiblen Material (SAM aus D-PEN-zeo) selektiv im ersten Schritt mehr als 60 % der C-6-Gliomzellen aus dem 1:1-Ausgangsgemisch von Endothelzellen und C-6-Gliomzellen aufzunehmen.

Zusammenfassend konnten wir die erfolgreiche enantioselektive Funktionalisierung von Zeolith mit D- und L-Penicillamin und den Aufbau der entsprechenden enantiomorphen Oberflächen als SAMs aus diesen Zeolithen zeigen. Durch Zelladhäsionsexperimente mit unterschiedlichen Zelltypen demonstrierten wir, dass Zellen die unterschiedlichen enantiomorphen Oberflächen der SAM aus Zeolith erkennen und differenzieren. Schließlich nutzten wir unsere neue biokompatible Oberfläche zur selektiven Trennung der malignen C-6-Gliom-Zelllinien von primären Endothelzellen.

Die erhaltenen Resultate eröffnen neue Perspektiven für den Aufbau von geeigneten enantiomorphen SAM aus NPs (als EZM-Modell), um Zell-Oberflächen-Wechselwirkungen besser im Detail zu verstehen. Des Weiteren sind nicht nur die Kontrolle des Zellverhaltens (z. B. Trennung, Adhäsion, Wachstum und Differenzierung), sondern auch der Aufbau neuer biokompatibler Oberflächen für Anwendungen wie das Gewebe-Engineering vorstellbar.

## Experimentelles

Scheibenförmige Zeolith-L-Kristalle wurden nach einer literaturbekannten Methode synthetisiert.<sup>[11]</sup> Die Resultate der XRD-Messung von Zeolith L wurden mit bekannten Daten verglichen.<sup>[25]</sup> Die Aminofunktionalisierung,<sup>[20]</sup> die DXP-Beladung<sup>[19]</sup> und die Bildung der SAMs aus Zeolithen auf Glas<sup>[15a, 16a]</sup> wurden nach bekannten Methoden durchgeführt. Zell- und enzymgekoppelte Immunabsorptions-Tests sind in den Hintergrundinformationen beschrieben.

D- oder L-PEN-Funktionalisierung von Zeolith L: Eine Lösung aus D- bzw. L-PEN (0.2 mM), EDC (1.5 mM) und NHS (3.0 mM) in 1 mL DMSO wurde tropfenweise zu einer Suspension aus NH<sub>2</sub>-zeo (20 mg) in 1 mL DMSO gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde die Suspension zentrifugiert (10 min bei 4400 U min<sup>-1</sup>), und der abgetrennte Feststoff wurde zweimal mit DMSO und dreimal mit Ethanol gewaschen. Abschließend wurde der Feststoff bei Raumtemperatur getrocknet.

Eingegangen am 25. Dezember 2011

Online veröffentlicht am 1. März 2012

**Stichwörter:** Enantiomorphe Oberflächen · Selbstorganisierte Monoschichten · Zelladhäsion · Zelltrennung · Zeolith L

- [1] a) L. A. Liotta, K. Tryggvason, S. Garbisa, I. Hart, C. M. Foltz, S. Shafie, *Nature* **1980**, 284, 67–68; b) K. M. Yamada, S. K. Akiyama, *Cell Membr.* **1984**, 2, 77–148; c) S. Mwenifumbo, M. M. Stevens, *Biomed. Nanostruct.* **2008**, 225–260; d) R. O. Hynes, *Science* **2009**, 326, 1216–1219.
- [2] a) S. Zhang, *Nat. Biotechnol.* **2003**, 21, 1171–1178; b) N. J. Gleason, C. J. Nodes, E. M. Higham, N. Guckert, I. A. Aksay, J. E. Schwarzbauer, J. D. Carbeck, *Langmuir* **2003**, 19, 513–518; c) H. P. Zheng, M. C. Berg, M. F. Rubner, P. T. Hammond, *Langmuir* **2004**, 20, 7215–7222; d) S. Zhang, X. Zhao, *J. Mater. Chem.* **2004**, 14, 2082–2086; e) W. Kim, J. K. Ng, M. E. Kunitake, B. R. Conklin, P. D. Yang, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 7228–7229; f) S. Wang, H. Wang, J. Jiao, K. J. Chen, G. E. Owens, K. Kamei, J. Sun, D. J. Sherman, C. P. Behrenbruch, H. Wu, H. R. Tseng, *Angew. Chem.* **2009**, 121, 9132–9135; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 8970–8973; g) C. G. Wilson, P. N. Sisco, F. A. Gadala-Maria, C. J. Murphy, E. C. Goldsmith, *Biomaterials* **2009**, 30, 5639–5648; h) H. J. Bai, M. L. Shao, H. L. Gou, J. J. Xu, H. J. Chen, *Langmuir* **2009**, 25, 10402–10407.
- [3] a) J. Park, S. Bauer, K. von der Mark, P. Schmuki, *Nano Lett.* **2007**, 7, 1686–1691; b) L. Ferreira, J. M. Karp, L. Nobre, R. Langer, *Cell Stem Cell* **2008**, 3, 136–146.
- [4] R. C. Gunawan, J. A. King, B. P. Lee, P. B. Messersmith, W. M. Miller, *Langmuir* **2007**, 23, 10635–10643.
- [5] a) I. Iwasaki, H. Maie, K. Akiyoshi, A. Kazunari, *Biomacromolecules* **2007**, 8, 3162–3168; b) A. Carvalho de Souza, J. F. G. Vliegenthart, J. P. Kamerling, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, 6, 2095–2102.
- [6] a) V. P. Torchilin, *Biopolymers* **2008**, 90, 604–610; b) N. Ferrer-Miralles, E. Vazquez, A. Villaverde, *Trends Biotechnol.* **2008**, 26, 267–275.
- [7] a) B. K. Mann, A. T. Tsai, T. Scott-Burden, J. L. West, *Biomaterials* **1999**, 20, 2281–2286; b) A. J. García, *Adv. Polym. Sci.* **2006**, 203, 171–190; c) Z. Popović, M. Otter, G. Calzaferri, L. De Cola, *Angew. Chem.* **2007**, 119, 6301–6304; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 6188–6191.
- [8] D. Hanein, B. Geiger, L. Addadi, *Science* **1994**, 263, 1413–1416.
- [9] a) T. Sun, D. Han, K. Riehemann, L. Chi, H. Fuchs, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 1496–1497; b) X. Wang, H. Gan, T. Sun, B. Su, H. Fuchs, D. Vestweber, S. Butz, *Soft Matter* **2010**, 6, 3851–3855.

- [10] a) K. Tang, H. Gan, Y. Li, L. Chi, T. Sun, H. Fuchs, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 11284–11285; b) H. Gan, K. Tang, T. Sun, M. Hirtz, Y. Li, L. Chi, S. Butz, H. Fuchs, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 5386–5390; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 5282–5286; c) X. Wang, H. Gan, T. Sun, *Adv. Funct. Mater.* **2011**, *21*, 3276–3281; d) T. Sun, G. Qing, B. Sua, L. Jiang, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 2909–2921; e) M. Zhang, G. Qinga, T. Sun, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 1972–1984.
- [11] A. Z. Ruiz, D. Bruhwiler, T. Ban, G. Calzaferri, *Monatsh. Chem.* **2005**, *136*, 77–89.
- [12] S. Mintova, S. Mo, T. Bein, *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 901–905.
- [13] T. Wang, A. Mitra, H. Wang, L. Huang, Y. Yan, *Adv. Mater.* **2001**, *13*, 1463–1466.
- [14] a) A. Corma, V. Fornes, F. Rey, *Adv. Mater.* **2002**, *14*, 71–74; b) T. Yu, Y. Zhang, C. You, J. Zhuang, B. Wang, B. Liu, Y. Kang, Y. Tang, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 1137–1143; c) C. A. Strassert, M. Otter, R. Q. Albuquerque, A. Höne, Y. Vida, B. Maier, L. De Cola, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 8070–8073; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 7928–7931.
- [15] a) A. Zabala Ruiz, H. Li, G. Calzaferri, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 5408–5413; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5282–5287; b) J. S. Lee, H. Lim, K. Ha, H. Cheong, K. B. Yoon, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 5414–5418; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5288–5292.
- [16] a) J. S. Lee, K. Ha, Y. J. Lee, K. B. Yoon, *Adv. Mater.* **2005**, *17*, 837–841; b) K. B. Yoon, *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 29–40; c) M. Zhou, B. Q. Zhang, X. F. Liu, *Chin. Sci. Bull.* **2008**, *53*, 801–816.
- [17] N. S. Kehr, K. Riehemann, J. El-Gindi, A. Schäfer, H. Fuchs, H. J. Galla, L. De Cola, *Adv. Funct. Mater.* **2010**, *20*, 2248–2254.
- [18] N. S. Kehr, J. El-Gindi, H. J. Galla, L. De Cola, *Microporous Mesoporous Mater.* **2011**, *144*, 9–14.
- [19] G. Calzaferri, S. Huber, H. Maas, C. Minkowski, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 3860–3888; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 3732–3758.
- [20] S. N. Huber, G. Calzaferri, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 6906–6910; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6738–6742.
- [21] a) T. Sun, H. Tan, D. Han, Q. Fu, L. Jiang, *Small* **2005**, *1*, 959–963; b) J. Y. Shiu, C. W. Kuo, W. T. Whang, P. Chen, *Lab Chip* **2010**, *10*, 556–558.
- [22] a) J. F. Leary, P. Szaniszlo, T. W. Prow, L. M. Reece, N. Wang, D. M. Asmuth, *Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng.* **2002**, *4625*, 1–8; b) B. M. Dainiak, A. Kumar, I. Y. Galaev, B. Mattiasson, *Adv. Biochem. Eng./Biotechnol.* **2007**, *106*, 1–18; c) M. Kamihira, A. Kumar, *Adv. Biochem. Eng./Biotechnol.* **2007**, *106*, 173–193.
- [23] D. Meyer, H. R. Baumgartner, *Br. J. Haematol.* **1983**, *54*, 1–9.
- [24] S. K. Ludwin, J. C. Kosek, L. F. Eng, *J. Comp. Neurol.* **1976**, *165*, 197–208.
- [25] S. Megelski, G. Calzaferri, *Adv. Funct. Mater.* **2001**, *11*, 277–286.