

**Biotechnologie2020+ Strukturvorhaben:
Leibniz Research Cluster (LRC) –
Bio/Synthetische multifunktionale Mikro-Produktionseinheiten –
Neuartige Wege zur Wirkstoffentwicklung**



Teilprojekt 4

Schlussbericht

im Verbundprojekt

**„Biotechnologie2020+
Strukturvorhaben: Leibniz
Research Cluster (LRC) –
Bio/Synthetische multifunktionale
Mikro-Produktionseinheiten –
Neuartige Wege zur
Wirkstoffentwicklung, Teilprojekt
D“**

**Förderkennzeichen
Zuwendungsempfänger
Laufzeit des Vorhabens
tatsächliche Gesamtkosten
erhaltene Fördersumme
Ansprechpartner
Telefon
E-Mail**

031A360D
Leibniz-Institut für Neue Materialien
01.04.2015 – 31.03.2020
958.163,16 €
952.624 €
Prof. Dr. Aránzazu del Campo
0681-9300-510
aranzazu.delcampo@leibniz-inm.de

Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung unter dem Förderkennzeichen 031A360D gefördert.
Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.

ACHTUNG: Bitte **ausdrücklich darauf hinweisen**, wenn zur Wahrung berechtigter Interessen des Zuwendungsempfängers (ZE) oder Dritter oder aus anderen sachlichen Gesichtspunkten bestimmte Einzelheiten aus dem Bericht Punkt 1 und 2 **vertraulich** zu behandeln sind (z. B. Wahrung der Priorität bei Schutzrechtsanmeldungen).

1. Kurzdarstellung

1.1 Aufgabenstellung

Das LRC verfolgt das Ziel, zellfreie Biotechnologie für die Synthese multifunktionaler Mikro-Produktionseinheiten zu entwickeln. Mit der Entwicklung von Reaktionsplattformen für die Manipulation der mehrstufigen Biosynthese auf einer Mikroebene trägt JRG4 am INM zum Gesamtprojekt bei. Die Reaktionsplattformen müssen vier spezifischen Randbedingungen genügen: 1) kompatibel mit den für die Biosynthese angewandten Enzymkatalysatoren und inert gegenüber Reaktanten sein; 2) geschlossene Kompartimente bieten, die festgelegte Reaktionsbedingungen gewährleisten können (pH, Konzentration); 3) einen stimuli-responsiven Mechanismus zur Steuerung des Reaktionswegs enthalten, um komplexe Reaktionsketten zu vereinfachen (Produkte aus den Anfangsstufen gemischt mit Produkten aus späteren Stufen); 4) ständigen Zugriff auf Zwischenprodukte im Reaktionsprozess zur Kontrolle und Analyse gestatten. Dazu wurden drei verschiedene Plattformen entworfen und entwickelt: strukturelle Oberflächen auf Basis von Hohlsäulen, flüssigkeitsvermittelte mobile Oberflächen und thermo-magnetisch responsive Träger. Die strukturellen Oberflächen bestehen aus geometrisch angeordneten Hohlsäulen aus responsiven Materialien, die zur Einleitung und Entnahme von Reaktionslösungen dienen. In Ergänzung zu dieser Grundidee, gemäß der die Mikro-Reaktionsflüssigkeiten der Luft ausgesetzt werden, sollen die flüssigkeitsvermittelten mobilen Oberflächen die als Mikrotropfen vorliegenden Reaktionsflüssigkeiten im umhüllten Zustand manipulieren. Die mobilen Oberflächen weisen eine Struktur von porösem Substrat mit semi-infundiertem perfluoriertem Ferrofluid auf, das mithilfe magnetischer Anregung bewegt werden kann, sodass die Tropfen transportiert, gemischt und separiert werden können. Die thermo-magnetisch responsive Träger dienen der weiteren Miniaturisierung der Reaktionsplattform. Dieses System setzt sich aus einem MNP-Kern (magnetische Nanopartikel), einer stimuli-responsiven Polymerschale und funktionalen Endgruppen zur Immobilisierung der Enzymkatalysatoren zusammen. Der MNP-Kern dient der Bewegung des Bioreaktors und dem Recycling der Reaktionslösungen, während die stimuli-responsive Polymerschale dem Anhalten bzw. erneuten Anstoßen der Bioreaktionen sowie dazu dient, die Löslichkeit der Bioreaktoren für das Recycling variieren zu können.

Im Gesamtprojekt verwendete JRG 4 die durch JRG 1 (HKI) oder JRG 2 (IPB) optimierten und gereinigten Enzymsysteme. Die für die Reaktionsplattformen erforderlichen Prozessparameter werden in Übereinstimmung mit diesen beiden NWGs eingestellt. Darüber hinaus arbeitete JRG4 mit JRG3 und JRG5 in Bezug auf die Materialien zusammen, die für die Herstellung und Oberflächenmodifikation der Reaktionsplattform verwendet wurden. Die im Ergebnis entstandenen Reaktionsplattformen wurden JRG1 und JRG2 bereitgestellt.

1.2. Voraussetzungen

Die Entwicklung der Reaktionsplattformen erfordert die Kombination von variierbaren Materialien, Mikrofabrikation, Fluidik und Steuerungstechnik. Die entwickelte Technologie soll in erster Linie als Plattform für künftige Synthesereaktoren dienen, die nicht nur für den in diesem Projekt gewählten Syntheseweg angewandt wird, sondern auch für viele weitere biotechnologische Anwendungen ausgelegt werden kann.

Für die erfolgreiche zellfreie Biosynthese ist es notwendig, die Reaktionen durch Kompartimente abzuschotten, d. h., die gewünschten chemischen Reaktionen können in einem geschlossenen System unter definierten externen Rahmenbedingungen, wie Temperatur, pH-Wert und Konzentration der Ausgangsstoffe, ablaufen. Dabei ist sicherzustellen, dass die Reaktionen auf jeder Stufe bis zum erforderlichen Grad

abgelaufen sind und dass die Möglichkeit zur Durchführung von zyklischen Reaktionen gegeben ist. Das heißt, dass ein Produkt der Synthese erneut mit einem Produkt oder Ausgangsstoff aus einer früheren Phase der Synthesekette reagieren kann. Eine weitere Rahmenbedingung ist eine große Zahl von Kombinationsmöglichkeiten, dass es z. B. nach einer zeitaufwendigen Synthese eines Zwischenprodukts möglich sein soll, verschiedene weitere Reaktionswege zu gehen. Dies erfordert die gleichzeitige Verwendung zahlreicher Kompartimente. Die dritte Rahmenbedingung besteht darin, dass die Prozesse weitgehend parallel durchgeführt werden können, sodass sich unterschiedliche Synthesewege so schnell wie möglich untersuchen lassen. Des Weiteren sollen die Plattformen inert gegenüber dem Katalysator und dem Reaktanten sein und die Manipulation der Reaktionen auf der Mikroebene gestatten. Zu diesem Zweck sind mehrere Mechanismen, die synergetisch zusammenwirken können, in die Plattformen einzubauen: 1) ein Isolationsmechanismus, um eine in Kompartimente aufgeteilte Umgebung für die Reaktionen bereitzustellen, 2) ein Betätigungsmechanismus zur Manipulation der Reaktionslösungen für das Anstoßen der Reaktionen; 3) ein Schaltmechanismus zum Anhalten der Reaktionen; 4) ein Separationsmechanismus zur Rückgewinnung des Katalysators für weitere oder zyklische Reaktionen.

1.3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Die ursprüngliche Konstruktion der Reaktionsplattformen basiert auf einer mesostrukturellen Oberfläche aus geometrisch angeordneten gummielastischen Säulen. Wie der Abbildung 1 zu entnehmen ist, haben die Säulen strukturelle Größen zwischen 1 mm und 50 µm und bestehen aus drei Hauptteilen: erstens aus einem Strukturmaterial, das die Form und die mechanischen Grundeigenschaften der Säulen bestimmt, zweitens aus einem Material, das als Aktor dient und die Schaltbarkeit bzw. das gezielte Biegen der Strukturen ermöglicht, und drittens aus einem Mikrokanal, durch den Flüssigkeit ein- und ausgepumpt werden kann. Die Ausgangsstoffe für die Reaktion (rot und blau) werden durch den Mikrokanal in den Strukturen nach oben gepumpt (links). Dann werden die Strukturen durch einen externen Impuls zueinander hin gebogen, sodass sich die Strukturen an der Spitze berühren (Mitte). Die beiden Ausgangsstoffe vermischen sich, reagieren miteinander und können dann abgepumpt oder für den weiteren Syntheseweg mit anderen Ausgangsstoffen oder -produkten in Kontakt gebracht werden. Alternativ können drei Strukturen miteinander in Kontakt gebracht werden, worauf die Reaktanten kontinuierlich miteinander reagieren und die Produkte abgepumpt werden (rechts).

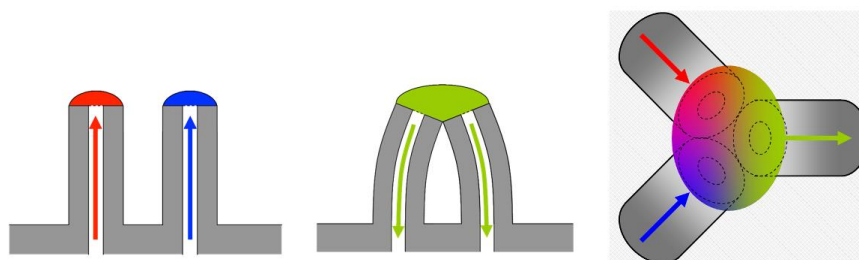


Abbildung 1. Prinzip der mesostrukturellen Oberflächen

Dieses ursprüngliche Design basiert auf der Verwendung von stimuli-responsiven Materialien zum Auslösen des Biegevorgangs. In den beiden ersten Jahren traten mehrere Probleme auf: 1) Das komplizierte Auslösesystem sollte in die Endkomponenten integriert werden, was diese verteuert; 2) Das System war zur Verarbeitung von Tropfen auf Mikroliterebene ausgelegt; auf dieser Ebene sind jedoch zahlreiche kostengünstige Verfahren zur sofortigen Anwendung verfügbar, was die Bedeutung der weiteren Entwicklung der Systems technisch verringert (andere Gruppen können bei ihrer Entwicklung keinen Nutzen aus diesen Vorrichtungen ziehen); 3) Die Wasserverdampfung in derartigen offenen Systemen würde die Konzentration des Reagens im Tropfen verändern. Basierend auf den vorherigen Ergebnissen mit dem ursprünglichen Design wurden zwei neue Varianten vorgeschlagen, um die Entwicklung des Gesamtprojekts zu ergänzen: flüssigkeitsvermittelte mobile Oberflächen und thermo-magnetisch responsive Träger.

Flüssigkeitsvermittelte mobile Oberflächen basieren auf der Entwicklung des ursprünglichen Designs von geometrisch angeordneten gummielastischen Säulen, vereinfachen aber den Betätigungsmechanismus, indem vom Biegen der Säule zur Bewegung der Tröpfchen auf mobilen Oberflächen übergegangen wird. Darüber hinaus verhindert eine ölbedeckte Struktur in diesem Design auch das Verdampfen von Wasser. Um dem Gesamtprojekt besser zu entsprechen, haben wir auch einen neuen Plan zur Entwicklung thermo-magnetisch responsiver Träger für die Manipulation von Reaktionen auf der molekularen Ebene vorgelegt.

Die gesamten Arbeitspakete umfassen die folgenden Aufgaben:

- AP 4.1 Aufbereitung der responsiven Mesostrukturen
- AP 4.2 Aufbereitung der gekoppelten responsiven Mesostrukturen
- AP 4.3 Herstellung responsiver Mesostruktur-Arrays
- AP 4.4 Implementierung von Mikrokanälen in responsive Strukturen
- AP 4.5 Miniaturisierung der Strukturgrößen
- AP 4.6 Entwicklung von Prozessen zur großflächigen Herstellung
- AP 4.7 Flüssigkeitsvermittelte mobile Oberflächen (zusätzlich)
- AP 4.8 Thermo-magnetisch responsive Träger (zusätzlich)

In der Tabelle 1 sind die Plan- und Ist-Stände der Aufgaben in JRG4 zusammengefasst.

Arbeitspaket			2014		2015				2016				2017				2018				2019				2020
			III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I
AP4.1	Herstellung von responsiven Mesostrukturen	Plan																							
		Ist								100															
AP4.2	Herstellung von gekoppelten responsiven Mesostrukturen	Plan																							
		Ist											100												
AP4.3	Herstellung von responsiven Mesostruktur-Arrays	Plan																							
		Ist																	100						
AP4.4	Implementierung von Mikrokanälen in responsive Strukturen	Plan																							
		Ist																	100						
AP4.5	Miniaturisierung der Strukturgröße	Plan																							
		Ist																						60	
AP4.6	Entwicklung von Prozessen zur großflächigen Herstellung	Plan																							
		Ist																						60	
AP4.7	Flüssigkeitsvermittelte mobile Oberflächen	Ist																							
AP4.8	Thermo-magnetisch responsive Träger	Ist																							

1.4. Wissenschaftlicher und technischer Stand vor Projektbeginn

Bei dem entworfenen mesostrukturellen Oberflächensystem handelt es sich um ein „Open-Surface-System“, bei dem geringe Mengen von Flüssigkeiten in Form von Tropfen – als Alternative zu herkömmlichen Mikrofluidik-Chips – manipuliert werden. Open-Surface-Systeme können den unabhängigen und gleichzeitigen Ablauf komplexer chemischer Vorgänge und dabei jederzeit den direkten Zugang zu abgeleiteten Flüssigkeiten für die Beobachtung und Analyse ermöglichen. Vor diesem Projekt wurden mehrere mikrofluidische Open-Surface-Systeme entwickelt, um isolierte Tropfen von auf speziellen Substraten aufgebrachtene Flüssigkeiten einzeln manipulieren zu können: durch Verwendung von Elektrobenetzung¹⁻⁴, Magnetfeldern⁵⁻⁸, und akustischen Oberflächenwellen^{9,10}, um die Tropfenbewegung zu bewirken. Aufgrund der digitalen Funktionsweise der diskreten Flüssigkeitsmengen und da sie gewöhnlich eine zeit- und kostenaufwendige Herstellung sowie zusätzliche Komponenten erfordern, um die zur Tropfenbewegung benötigte Energie bereitzustellen, werden sie häufig als „digitale Mikrofluidik“ bezeichnet. Im Vergleich zu diesen teuren Varianten wurde eine Reihe von kostengünstigen Alternativen entwickelt, bei denen die Wirkung der Oberflächenspannung genutzt wird.^{11,12} Bei diesen Systemen werden sogenannte „Wettability Maps“ verwendet, um Tropfen zu isolieren und auf dem Substrat von einem Bereich zu einem anderen zu transportieren. Beispielsweise wurde die in der porösen Matrix von Papier entwickelte Kapillarität angewandt, um die „pumpenlose“ Bewegung von Flüssigkeiten in der papierbasierten Mikrofluidik zu ermöglichen.¹³⁻¹⁵ Darüber hinaus wurde der Laplace-Druck dazu genutzt, die Bewegung von Flüssigkeiten durch spezielle benetzbare Muster, wie Keilformen^{16,17} oder durch eine dünne Linie verbundene Punkte¹⁸, auf superhydrophoben Substraten zu bewirken. Des Weiteren wurden Benetzbarkeits-Gradienten^{19,20} und Oberflächendeformation^{21,22} untersucht, um den unidirektionalen Flüssigkeitstransport zu realisieren. Die grundlegenden Vorgänge mit Tropfen, wie Transport und Mischen, wurden in diesen Systemen erfolgreich demonstriert. Bei diesen Technologien ist es jedoch schwierig, eine komplexe Manipulation, wie z. B. die Neuprogrammierbarkeit der Flüssigkeitswege, zu erreichen. Unter diesem Aspekt besteht nach wie vor der Wunsch, eine neue Plattform für die Handhabung der Tropfen zu entwickeln, die die Mischung der nicht umhüllten Tropfen auslösen kann und Flexibilität bei der Wahl der kombinatorischen Wege zur Weiterverarbeitung der Flüssigkeiten ermöglicht. Gemäß unserem Vorschlag wird magnetisch responsives Elastomer verwendet, um das Biegen der Hohlsäulen auszulösen. Grundlage für diesen Gedanken war der Beitrag „Magnetically actuated patterns for bioinspired reversible adhesion (dry and wet)“ (*Advanced Materials* **2014**, *26* (5), 775-779), in dem das Aufbereitungsverfahren der magnetisch responsiven Säule vorgestellt und das Biegeverhalten untersucht wird. Wir wählten ein ähnliches Materialsystem und wandten eine ähnliche Herstellungsstrategie an.

Bei der flüssigkeitsvermittelten mobilen Oberfläche handelt es sich um ein kürzlich entwickeltes Open-Surface-System. Dieses basiert in der Hauptsache auf der Anwendung eines Ferrofluids zur Steuerung der Flüssigkeitsbewegung.²⁴⁻²⁸ Das Ferrofluid wird in poröse Substrate infundiert, wo es zwar durch das Substrat stabilisiert wird, aber seine Mobilität behält. Unter dem Einfluss eines Magnetfeldes konzentriert sich das Ferrofluid und bewegt sich mit dem Magneten. Ein relativ schwaches Magnetfeld reicht aus, um eine Bewegung von Wassertropfen zu bewirken.²⁵ Wenn strukturelle Oberflächen mit dem Ferrofluid kombiniert werden, um gleitfähige Verbundoberflächen zu schaffen, wäre die komplexe Steuerung der Tropfen, einschließlich des Fixierens und Gleitens, möglich.²⁸ Diese Beispiele gingen aus der Durchführung unseres Projekts hervor. Trotz dieser ermutigenden Fortschritte bemerkten wir bei den beschriebenen Systemen als Reaktionsplattformen auch einige Nachteile: den komplizierten Herstellungsprozess des Substrats, die geringe Stabilität der Flüssigkeitstropfen auf der gleitfähigen Oberfläche (schnelles Abfließen vom Substrat bei Abwesenheit des magnetischen Feldes) und den unerwünschten Verlust von Ferrofluid beim Entfernen der Tropfen vom Substrat. Anregungen gab uns der Beitrag „Active surfaces: Ferrofluid-impregnated surfaces for active manipulation of droplets“ (*Applied Physics Letters*, 2014, **105**, p. 041604), in dem von einer aus Ferrofluid hergestellten gleitfähigen Beschichtung berichtet wird. Während unserer Forschung konnten wir uns auch auf den neuen Beitrag „Multifunctional ferrofluid-infused surfaces with reconfigurable multiscale topography“ (*Nature*, 2018, **559**, p. 77-82) stützen. Im Unterschied zu den in der Literatur beschriebenen Systemen änderten wir das vollständig infundierte Gleitsystem in eine semi-infundierte mobile Oberfläche, um die reaktiven Tropfen besser manipulieren zu können.

Speziell konzipierte thermo-magnetisch responsive Träger sind eine Art von intelligenten Biokatalysatoren. Sie können auf externe magnetische Stimuli reagieren, um die On-Demand-Synthese von Chemikalien oder Biomolekülen zu ermöglichen.²⁹ In einem typischen Design werden häufig stimuli-responsive Polymere verwendet, um Enzyme zu konjugieren, die den Systemen im Vergleich zu üblichen Enzymkatalysatoren viele vorteilhafte Eigenschaften verleihen, wie erhöhte Stabilität unter rauen Bedingungen, Wiederverwendbarkeit oder Schaltbarkeit.³⁰ Es wird vermutet, dass auch eine einfache Separation dieser Konjugate vom Reaktionsmedium zu erwarten ist, wenn intelligente Polymere integriert werden, um eine umkehrbare Phasentrennung einzuleiten.³¹ Beispielsweise gestattet die Immobilisierung von Enzymen auf thermisch responsiven Hydrogelen nicht nur die umkehrbare Deaktivierung der Enzyme durch die Steuerung der Verfügbarkeit der wasserlöslichen Substrate durch das Quellen bzw. Entquellen des Gelnetzwerks, sondern ermöglicht auch die Separation von diesen Konjugaten.³² Anhand dieser Idee wurden enzymisch-thermisch responsive Hydrogelkonjugate entwickelt, jedoch erfordern diese intelligenten Katalysatoren zu ihrer Separation vom Reaktionsmedium normalerweise eine komplizierte Verarbeitung, einschließlich Zentrifugation, Filtration und weiterer Verfahren, und sind damit für industrielle enzymvermittelte Mehrstufenreaktionen ungeeignet. Zum Zweck der Mehrstufensynthese wurden auch intelligente Multi-Site-Katalysatoren, bei denen die Aktivität des Enzyms einer bestimmten Art selektiv durch andere gesteuert werden kann, vorgeschlagen.³³ Derartige Systeme sind aufgrund ihrer geringen Aktivität, Inkompatibilität, Inhibitionseffekte oder der Herstellung von Non-Bottleneck-Enzymen praktisch noch nicht in vollem Umfang anwendbar.³⁴ Daher besteht auch weiterhin der Wunsch nach einem intelligenten schaltbaren Katalysator für praktische Anwendungen. Hybridmaterialien aus magnetischen Nanopartikeln, die mit einer stabilisierenden Schale aus Polymeren mit einer geringeren kritischen Lösungstemperatur (LCST) versehen sind, können magnetische kolloidale Lösungen bilden, die eine umkehrbare thermische Flokkulation in Medien aufweisen und sich daher als leistungsfähige Träger für den Aufbau intelligenter Biokatalysatoren anbieten.³⁵⁻⁴⁰ Die Integration von Enzymen in diese Hybridmaterialien stellt einen *de-novo*-Ansatz für die Entwicklung intelligenter Biokatalysatoren dar. In derartigen Systemen dient das Polymer als Anker für das Enzym, und gleichzeitig schützt die Polymerschale aufgrund des Temperatureffekts das Enzym ohne gravierende Veränderungen seiner funktionalen Aktivität und erhöht damit seine Biokompatibilität und Stabilität. So wurde kürzlich ein System auf Trypsinbasis entwickelt, das seine Proteaseaktivität bei höheren Temperaturen umkehrbar erhöhen konnte.⁴¹ Trotz dieses Fortschritts sind vor seinem praktischen Einsatz noch etliche Fragen zu klären, wie z. B die unspezifische Ankopplung von Enzymen, die die Systemaktivität beeinträchtigen, und die lange Separationszeit beim Recycling des Katalysators. Wir konnten uns auf die folgenden veröffentlichten Systeme stützen.

Quellenangaben:

1. Mugele, F. and J.-C. Baret, *Electrowetting: from basics to applications*. Journal of Physics: Condensed Matter, 2005. **17**(28): p. R705-R774.
2. Fair, R.B., *Digital microfluidics: is a true lab-on-a-chip possible?* Microfluidics and Nanofluidics, 2007. **3**: p. 245-281.
3. Choi, K., et al., *Digital microfluidics*. The Annual Review of Analytical Chemistry, 2012. **5**: p. 413-440.
4. Hong, J., et al., *Three-dimensional digital microfluidic manipulation of droplets in oil medium*. Scientific Reports, 2015. **5**: p. 10685.
5. Zhang, Y. and T.-H. Wang, *Full range magnetic manipulation of droplets via surface energy traps enables complex bioassays*. Advanced Materials, 2013. **25**(21): p. 2903-2908.
6. Zhang, Y. and N.-T. Nguyen, *Magnetic digital microfluidics- a review*. Lab on a Chip, 2017. **17**(6): p. 994-1008.
7. Huang, G., et al., *Magnetically actuated droplet manipulation and its potential biomedical applications*. Applied Materials and Interfaces, 2017. **9**: p. 1155-1166.
8. Yang, C. and G. Li, *A novel magnet-actuated droplet manipulation platform using a floating ferrofluid film*. Scientific Reports, 2017. **7**: p. 15705.
9. Yeo, L.Y. and J.R. Friend, *Ultrafast microfluidics using surface acoustic waves*. Biomicrofluidics, 2009. **3**: p. 012002.
10. Ding, X., et al., *Surface acoustic wave microfluidics*. Lab on a Chip, 2013. **13**: p. 3626-3649.
11. Chen, H., et al., *Continuous directional water transport on the peristome surface of Nepenthes alata*. Nature, 2016. **532**: p. 85-89.
12. Li, J., et al., *Topological liquid diode*. Science Advances, 2017. **3**(10): p. eaao3530.
13. Martinez, A.W., S.T. Philips, and G.M. Whitesides, *Three-dimensional microfluidic devices fabricated in layered paper and tape*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008. **105**(50): p. 19606-19611.
14. Balu, B., et al., *Patterning of superhydrophobic paper to control the mobility of micro-liter drops for two-dimensional lab-on-paper applications*. Lab on a Chip, 2009. **9**(21): p. 3066-3075.
15. Elsharkawy, M., T.M. Schutzius, and C.M. Megaridis, *Inkjet patterned superhydrophobic paper for open-air surface microfluidic devices*. Lab on a Chip, 2014. **14**: p. 1168-1175.

16. Ghosh, A., et al., *Wettability patterning for high-rate, pumpless fluid transport on open, non-planar microfluidic platforms*. Lab on a Chip, 2014. **14**: p. 1538-1550.
17. Morrisette, J.M., et al., *Rapid, self-driven liquid mixing on open-surface microfluidic platforms*. Scientific Reports, 2017. **7**: p. 1800.
18. Xing, S., R.S. Harake, and T. Pan, *Droplet-driven transports on superhydrophobic-patterned surface microfluidics*. Lab on a Chip, 2011. **11**: p. 3642-3648.
19. Nilsson, M.A. and J.P. Rothstein, *Using sharp transitions in contact angle hysteresis to move, deflect and sort droplets on a superhydrophobic surface*. Physics of Fluids, 2012. **24**: p. 062001.
20. Davanlou, A., H.J. Cho, and R. Kumar, *In situ colorimetric detection and mixing of glucose-enzyme droplets in an open-surface platform via Marangoni effect*. Microfluidics and Nanofluidics, 2016. **20**: p. 96.
21. Davanlou, A. and R. Kumar, *Thermally induced collision of droplets in an immiscible outer fluid*. Scientific Reports, 2015. **5**: p. 9531.
22. Seo, J., et al., *Path-programmable water droplet manipulations on an adhesion controlled superhydrophobic surface*. Scientific Reports, 2015. **5**: p. 12326.
23. Yang, C., Z. Zhang, and G. Li, *Programmable droplet manipulation by combining a superhydrophobic magnetic film and an electromagnetic pillar array*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2018. **262**: p. 892-901.
24. Wang, W.; Timonen, J. V. I.; Carlson, A.; Drotlef, D. M.; Zhang, C. T.; Kolle, S.; Grinthal, A.; Wong, T. S.; Hatton, B.; Kang, S. H.; Kennedy, S.; Chi, J.; Blough, R. T.; Sitti, M.; Mahadevan, L.; Aizenberg, J., *Multifunctional ferrofluid-infused surfaces with reconfigurable multiscale topography*. Nature, 2018, **559**, p. 77-82.
25. Khalil, K. S.; Mahmoudi, S. R.; Abu-dheir, N.; Varanasi, K. K., *Active surfaces: Ferrofluid-impregnated surfaces for active manipulation of droplets*. Applied Physics Letters, 2014, **105**, p. 041604.
26. Zhu, G. P.; Nguyen, N. T.; Ramanujan, R. V.; Huang, X. Y., *Nonlinear deformation of a ferrofluid droplet in a uniform magnetic field*. Langmuir, 2011, **27**, p. 14834-14841.
27. Abdel Fattah, A. R.; Ghosh, S.; Puri, I. K., *Printing Three-Dimensional Heterogeneities in the Elastic Modulus of an Elastomeric Matrix*. ACS Appl Mater Interfaces, 2016, **8**, p. 11018-11023.
28. Tian, D.; Zhang, N.; Zheng, X.; Hou, G.; Tian, Y.; Du, Y.; Jiang, L.; Dou, S. X., *Fast Responsive and Controllable Liquid Transport on a Magnetic Fluid/Nanoarray Composite Interface*. ACS Nano, 2016, **10**, p. 6220-6226.
29. Zakharchenko, A.; Guz, N.; Laradji, A. M.; Katz, E.; Minko, S. *Magnetic Field Remotely Controlled Selective Biocatalysis*. Nat. Catal. 2018, **1**, p. 73-81.
30. Yoshino, T.; Shimada, T.; Ito, Y.; Honda, T.; Maeda, Y.; Matsunaga, T.; Tanaka, T. Biosynthesis of Thermoresponsive Magnetic Nanoparticles by Magnetosome Display System. *Bioconjugate Chem.* **2018**, **29** (5), 1756-1762
31. Xu, J.; Sun, J.; Wang, Y.; Sheng, J.; Wang, F.; Sun, M. Application of Iron Magnetic Nanoparticles in Protein Immobilization. *Molecules* **2014**, **19** (8), 11465-11486.
32. Yassine, O.; Zaher, A.; Li, E. Q.; Alfadhel, A.; Perez, J. E.; Kavaldzhiev, M.; Contreras, M. F.; Thoroddsen, S. T.; Khashab, N. M.; Kosel, J. Highly Efficient Thermoresponsive Nanocomposite for Controlled Release Applications. *Sci. Rep.* **2016**, **6** (1), 28539.
33. Cao, Y.; Wang, Y. Temperature-Mediated Regulation of Enzymatic Activity. *ChemCatChem* **2016**, **8** (17), 2740-2747.
34. Schmidt-Dannert, C.; Lopez-Gallego, F. A Roadmap for Biocatalysis – Functional and Spatial Orchestration of Enzyme Cascades. *Microb. Biotechnol.* **2016**, **9** (5), 601-609.
35. Lai, J. J.; Hoffman, J. M.; Ebara, M.; Hoffman, A. S.; Estournès, C.; Wattiaux, A.; Stayton, P. S. Dual Magnetic-/Temperature-Responsive Nanoparticles for Microfluidic Separations and Assays. *Langmuir* **2007**, **23** (13), 7385-7391.
36. Ohnishi, N.; Furukawa, H.; Hideyuki, H.; Wang, J.-M.; An, C.-I.; Fukusaki, E.; Kataoka, K.; Ueno, K.; Kondo, A. High-Efficiency Bioaffinity Separation of Cells and Proteins Using Novel Thermoresponsive Biotinylated Magnetic Nanoparticles. *NanoBiotechnology* **2006**, **2** (1), 43-49.
37. Gelbrich, T.; Feyen, M.; Schmidt, A. M. Magnetic Thermoresponsive Core-Shell Nanoparticles. *Macromolecules* **2006**, **39** (9), 3469-3472.
38. Brazel, C. S. Magnetothermally-Responsive Nanomaterials: Combining Magnetic Nanostructures and Thermally-Sensitive Polymers for Triggered Drug Release. *Pharm. Res.* **2009**, **26** (3), 644-656.
39. Sun, Y.; Ding, X.; Zheng, Z.; Cheng, X.; Hu, X.; Peng, Y. Magnetic Separation of Polymer Hybrid Iron Oxide Nanoparticles Triggered by Temperature. *Chem. Commun.* **2006**, (26), 2765-2767.
40. Wakamatsu, H.; Yamamoto, K.; Nakao, A.; Aoyagi, T. Preparation and Characterization of Temperature-Responsive Magnetite Nanoparticles Conjugated with N-Isopropylacrylamide-Based Functional Copolymer. *J. Magn. Magn. Mater.* **2006**, **302** (2), 327-333
41. Marten, G. U.; Gelbrich, T.; Schmidt, A. M. Hybrid Biofunctional Nanostructures as Stimuli-Responsive Catalytic Systems. *Beilstein J. Org. Chem.* **2010**, **6**, 922-931

1.5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen.

Im Rahmen des LRC-Projekts arbeiten wir eng mit JRG1 zur Entwicklung intelligenter Biokatalysatoren und mit JRG3 zur Entwicklung schaltbarer Mikrofluidiksysteme zusammen. Als Teil des LRC beteiligten wir uns zudem im Zusammenhang mit der Arbeit in JRG2 und JRG5 aktiv am Gesamtprojekt.

Neben den LRC-Gruppen arbeiten wir auch aktiv mit den folgenden Gruppen zusammen:

Team	Thema
Prof. Aránzazu del Campo am INM	Biomaterialien
Prof. Gerhard Wenz an der Universität des Saarlandes	Stimuli-responsive Polymere
Prof. Joanna Aizenberg an der Harvard University	Gleitfähige Oberflächen
Prof. Joost Vlassak an der Harvard University	Hydrogelmaterialeien
Prof. Xinhua Wan an der Peking University	Magnetische Nanopartikel
Prof. Xu Deng an der University of Electronic Science and Technology of China	Intelligente Oberflächen
Prof. Jian Chen an der Hunan University of Science and Technology	Fluoreszenzsonde

Alle in Zusammenarbeit behandelten Themen sind für das Projekt relevant.

2. Eingehende Darstellung

2.1. Verwendung der Zuwendung und erzielte Ergebnisse

Die finanziellen Aufwendungen betrafen 1) Anstellung von Postdoc-Forschern, Doktoranden, Technikern; 2) Ausrüstungen; 3) Verbrauchskemikalien; 4) Reisen und Konferenzen usw. Weitere Einzelheiten sind dem gesonderten Finanzbericht zu entnehmen.

Wichtigste Ergebnisse

AP 4.1 Aufbereitung der responsiven Mesostrukturen

Meilenstein: Herstellung einer Mesostruktur, die sich durch einen externen Stimulus in jede gewünschte Richtung biegt.

Ergebnis: Wir entwickelten durch die Integration magnetischer Mikropartikel (MMP) in Polydimethylsiloxan (PDMS) ein magnetisch responsives Elastomer mit der Bezeichnung MMP@PDMS. Diese Materialien haben variierbare mechanische Eigenschaften. Wir verwendeten MMP@PDMS zur Aufbereitung der Mesostrukturen, die aus Säulenstrukturen mit einem Durchmesser von 200–800 μm bestehen. Bei magnetischer Aktivierung kann problemlos ein umkehrbares Biegen in jede gewünschte Richtung erreicht werden.

Erfüllungsstand: abgeschlossen/ zu 100 % bearbeitet

AP 4.2 Aufbereitung der gekoppelten responsiven Mesostrukturen

Meilenstein: Herstellung von zwei Mesostrukturen, die unabhängig voneinander durch einen externen Stimulus bewegt werden können.

Ergebnis: Auf der Basis des magnetisch responsiven Elastomers haben wir mithilfe von weicher Lithographie Mesostrukturen entwickelt, die Hohlsäulen enthalten. Die Hohlsäulen sind durch externe Kanäle zum Ein- und Auspumpen von Flüssigkeiten miteinander verbunden. Zwei Hohlsäulen können sich jedoch unabhängig voneinander biegen.

Erfüllungsstand: abgeschlossen/ zu 100 % bearbeitet

AP 4.3 Herstellung responsiver Mesostruktur-Arrays

Meilenstein: Herstellung eines Arrays mit 3 x 3 oder 4 x 4 Mesostrukturen, das über ein Mikrofluidiksystem verfügt.

Ergebnisse: Wir entwickelten ein Verfahren zur Herstellung von responsiven mesostrukturierten Arrays. Anhand dieses Verfahrens stellten wir 3 x 3-Strukturen mit der Fähigkeit, sich unabhängig voneinander zu biegen, her. Die Säulen haben eine Hybridstruktur: Die Spitze der Säule ist magnetisch responsiv, ansonsten besteht sie aus normalem PDMS. Diese Struktur ermöglicht die Steuerung des Biegevorgangs.

Erfüllungsstand: abgeschlossen/ zu 100 % bearbeitet

AP 4.4 Implementierung von Mikrokanälen in responsive Strukturen

Meilenstein: Herstellung von Mesostruktur-Arrays, die über ein vollständig funktionales Mikrofluidiksystem verfügen.

Ergebnisse: Wir haben ein dreistufiges Verfahren zur Integration von Mikrokanälen in die responsiven Arrays von Mesostrukturen entwickelt. Das System gestattet die Manipulation von Flüssigkeiten für Aufgaben wie Transport, Mischen und Separation von Tropfen.

Erfüllungsstand: abgeschlossen/ zu 100 % bearbeitet

AP 4.5 Miniaturisierung der Strukturgrößen

Meilenstein: Strukturgrößen von 100 Mikrometern oder kleiner

Ergebnisse: Wir haben die Größe der Kanäle erfolgreich von 800 auf 200 Mikrometer reduziert, haben jedoch die Miniaturisierung wegen der Modifikation der Arbeitspakete nicht weiter fortgeführt.

Erfüllungsstand: abgeschlossen/ zu 60 % bearbeitet

AP 4.6 Entwicklung von Prozessen zur großflächigen Herstellung

Meilenstein: Demonstration der Kleinserienproduktion von schaltbaren Mikrostrukturen und einer funktionierenden Einheit von Fluidiksystemen.

Ergebnisse: Nach der Modifikation der Arbeitspakete konzentrierten wir uns auf die Entwicklung von Prozessen für die großflächige Herstellung von neuen Systemen. Die entwickelten Prozesse, einschließlich der Aufbereitung von flüssigkeitsvermittelten mobilen Oberflächen und der Synthese der thermo-magnetisch responsiven Träger, sind skalierbar.

Erfüllungsstand: abgeschlossen/ zu 100 % bearbeitet

AP 4.7 Flüssigkeitsvermittelte mobile Oberflächen (zusätzlich)

Wir haben flüssigkeitsvermittelte mobile Oberflächen, die auf einer mit Ferrofluid semi-infundierten porösen Struktur basieren, für die Manipulation von Tropfen entwickelt. Das System wirkt sich nicht nachteilig auf Enzyme aus und ermöglicht verschiedene Arten der Manipulation, wie Transport, „stimuli-freies“ Fixieren, Leiten und Verschmelzen/Reaktion. Auf dieser Plattform behält das Enzym seine katalytische Aktivität in vollem Umfang bei und gestattet die Manipulation von enzymkatalysierten Bioreaktionen.

AP 4.8 Thermo-magnetisch responsive Träger (zusätzlich)

Wir haben einen thermo-magnetisch responsiven Träger für die Aufbereitung von recyclingfähigen enzymbasierten Biokatalysatoren entwickelt. Des Weiteren haben wir ein mehrstufiges Syntheseverfahren entwickelt, wozu die oberflächen-initiierte lebende/gesteuerte Polymerisation und die durch eine Klickreaktion ausgelöste Mobilisierung von Enzymen für die Aufbereitung des Biokatalysators gehören. Das System weist eine temperaturabhängige katalytische Aktivität, eine ausgezeichnete Recyclingfähigkeit, eine gute Stabilität usw. auf und gestattet die Steuerung mehrstufiger Bioreaktionen für die Synthese funktionaler Biomoleküle.

Zusammenarbeit mit dem LRC

a. Immobilisierung des Enzyms auf magnetischen Nanopartikeln (JRG1).

Die Entwicklung intelligenter Biokatalysatoren erfolgte in enger Zusammenarbeit mit JRG1. Zunächst evaluierten wir die Anpassungsfähigkeit des von JRG 1 entwickelten Enzymsystems an unterschiedliche Materialien und testeten die Möglichkeit von enzyminduzierten Reaktionen in Gegenwart responsiver Materialien. Enzyme (MatB) mit verschiedenen Funktionen wurden entwickelt; dazu gehörten lysinbasiertes MatB und fluoreszierendes MatB. Mit diesen funktionalen Enzymen bereiteten wir den thermo-magnetisch responsiven Biokatalysator auf und optimierten darüber hinaus die Recyclingfähigkeit sowie die Stabilität des intelligenten Biokatalysators. Einige Ergebnisse dieser Zusammenarbeit wurden in *ACS Appl. Mater. Interfaces* (2020, 12, 20982-20990) veröffentlicht. Auf Grundlage dieser Ergebnisse arbeiten wir (JRG 1 und JRG 4) auch an dem gemeinsamen Projekt „Biokatalysatoren mit thermisch responsiven magnetischen Nanopartikeln zur Vermittlung von multi-enzymatischen Reaktionen“ mit gemeinsam aufgebrachtem Startkapital.

c. Multifunktionale Mikrofluidiksysteme (JRG 3).

Wir arbeiteten gemeinsam mit JRG3 an der Entwicklung multifunktionaler Mikrofluidiksysteme. Unser Beitrag bestand in der Konstruktion und Herstellung von Heizelementen für die Mikrofluidik-Chips. Die metallischen Heizspulen sind in das weiche Substrat eingebettet und ermöglichen eine präzise Temperaturregelung, um das durch den Bereich fließende Mikrogel variieren zu können.

2.2. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

In Tabelle 2 sind die maßgeblichen Teilnehmer aufgeführt.

Name	Rolle	Zeitraum
Jiayi Cui	Versuchsleiter	Nov. 2015 – März 2020
Lizbeth Ofelia Prieto-López	Postdoc-Stipendiatin	Nov. 2015 – März 2020
Xinhong Xiong	Doktorand/ Assistent	Okt. 2016 – März 2020
Fatih Puza	Doktorand	März 2017 – März 2020
Baiju Krishnan	Postdoc-Stipendiat	Apr. 2017 – März 2020
Sheng Wang	Postdoc-Stipendiat	März 2018 – März 2020
Zeyu Fu	Techniker	Apr. 2018 – März 2020
Jiajia Xu	Technikerin	Dez. 2015 – März 2018
Roxanne Engstler	Assistentin	Nov. 2016 – Apr. 2017

2.3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Beim Abarbeiten der Arbeitspakete entwickelten wir zunächst responsive Materialien für die Arbeitspakete 4.1 und 4.2 (Aufbereitung der responsiven Mesostrukturen und der gekoppelten responsiven Mesostrukturen). Mithilfe weicher Lithographie wurden aus diesen Materialien responsive Mesostruktur-Arrays hergestellt (AP 4.3). Zur Implementierung der Mikrokanäle in die responsiven Strukturen wurde dreistufige Herstellungsprozesse entwickelt (AP 4.4). Im Unterschied zum ursprünglichen Antrag, nach dem das Erfordernis von jedem AP anhand der Zusammenarbeit mit anderen Gruppen bewertet werden kann, konnten wir im Fall der Reaktionsplattform deren Brauchbarkeit für das gesamte Projekt bewerten. Die ersten vier Arbeitspakete wurden zu 100 % erledigt. An der uns zur Verfügung stehenden Plattform stellten wir fest, dass das System die im Antrag gestellten Forderungen zwar vollständig erfüllte, in Bezug auf die Anwendung durch andere Gruppen jedoch noch eindeutige Nachteile hatte. Unter diesem Aspekt waren sämtliche Arbeiten notwendig und wurden vollständig ausgeführt. Obwohl das entwickelte System die Anforderungen des Gesamtprojekts nicht erfüllen kann, haben wir ein neuartiges Open-Surface-System entwickelt, das eine präzise mehrstufige Manipulation von sessilen Tropfen gestattet. Wir entdeckten dieses Problem während der Durchführung der Miniaturisierung (AP 4.5). Das AP 4.5 wurde zu 60 % erfüllt, indem wir die Größe auf 200 Mikrometer reduzierten (das Ziel waren 100 Mikrometer). Die von uns für die Herstellung gewählte Methode und Technologie sind prinzipiell skalierbar. Daher wurde das AP 4.6 gegenüber der ursprünglichen Vorgabe ebenfalls zu 60 % erfüllt. In Bezug auf weitere Strategien sind alle Verfahren direkt skalierbar, und das AP 4.6 wurde zu 100 % erfüllt.

Wir fügten zwei weitere Arbeitspakete (AP 4.7 Flüssigkeitsvermittelte mobile Oberflächen und AP 4.8 Thermo-magnetisch responsive Träger) hinzu. Das System der mobilen Oberflächen sollte das im ursprünglichen Antrag festgelegte Ziel erreichen, und die im AP 4.1-4 entwickelten Systeme wurden direkt für das Pumpen der Tropfen eingesetzt. Die Arbeiten wurden zu 100 % durchgeführt. Das zusätzliche AP 4.8 sollte einen besseren Beitrag für das Gesamtprojekt leisten. Die Arbeiten wurden zu 100 % durchgeführt, und das entwickelte System erbrachte die Möglichkeit des Recyclings des Enzymkatalysators für die mehrstufige Biosynthese. Dies erfolgte in Zusammenarbeit mit JRG 1.

2.4. Voraussichtlicher Nutzen

Das Mesostruktursystem mit Hohlsäulen stellt ein neuartiges Open-Surface-Mikrofluidiksystem dar, das eine Manipulation von Tropfen für verschiedene Prozesse ermöglicht, einschließlich der beabsichtigten mehrstufigen Biosynthese in LRC. (Dabei ist zu berücksichtigen, dass das System nicht direkt in anderen LRC-Gruppen für deren tägliche Untersuchungen eingesetzt wurde, da die einfache auf Mikropipetten basierende Strategie zu diesem Zweck genügte – nicht aber aufgrund seiner Verwendbarkeit in der mehrstufigen Biosynthese). Obwohl die Grundverfahren mit Tropfen, wie Transport und Mischen, in diesen Systemen erfolgreich demonstriert wurden, bleibt es nach unseren Erkenntnissen weiterhin schwierig, komplexe Manipulationen, wie das Umprogrammieren von Flüssigkeitswegen, durchzuführen. Wir verwendeten die in JRG 1 entwickelten Enzyme, um nachzuweisen, dass das in diesem Projekt entwickelte System eine derartige Anforderung erfüllen kann. Neben den Endprodukten sollte auch das dreistufige Verfahren, das wir zur Herstellung dieses komplexen Systems entwickelt haben, auf andere Systeme anwendbar sein.

Die beiden zusätzlichen Arbeitspakete sind ohne Weiteres auch eigenständig anwendbar. Flüssigkeitsvermittelte mobile Oberflächen stellen eine neuartige Open-Surface-Plattform für die Manipulation von Tropfen dar. Ihr Vorteil liegt in dem geschlossenen Mikrofluidiksystem, da die flüssige Hülle die Verdampfung der Flüssigkeit verhindern kann. Auch die von uns entwickelten thermo-magnetisch responsiven Träger stellen eine neue Strategie für die Immobilisierung von Enzymen dar. Das Enzym wurde in der Endgruppe der Polymerketten immobilisiert, wodurch die Aufrechterhaltung der Enzymaktivität gewährleistet wird. Das Design des magnetischen Kerns und der thermisch responsiven Schale ermöglicht eine gute Recyclingfähigkeit und Schaltbarkeit des Katalysators. Für die zellfreie Biosynthese, bei der der Reaktionsweg präzise zu steuern ist, ist es wichtig, die Reaktion deaktivieren und neu aktivieren und den Katalysator für weitere Reaktionen rückzugewinnen zu können. Das von uns entwickelte System kann die meisten dieser Anforderungen erfüllen.

2.5. Fortschritte auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Im Arbeitspaket für thermo-magnetisch responsive Träger wurden die funktionalen Enzyme, einschließlich des lysinbasierten MatB und des fluoreszierenden MatB, von JRG1 entwickelt (die Ergebnisse sind in einem gemeinsamen Bericht zusammengefasst). Die Idee eines magnetischen Clusters, der sich aus mehreren Nanopartikeln zusammensetzt, wurde durch ein gemeinsames Projekt mit Prof. Xinhua Wan angeregt, in dem magnetische Cluster zur Verbesserung der Separationsfähigkeit organischer Verbindungen verwendet wurden (die Ergebnisse sind in zwei gemeinsamen Berichten zusammengefasst). Das Protokoll zur Aufbereitung des magnetischen Clusters wurde in der Gruppe von Prof. Xinhua Wan erarbeitet.

2.6. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses

1. Krishnan, B. P.; Prieto-Lopez, L. O.; Hoefgen, S.; Xue, L.; Wang, S.; Valiante, V.; **Cui, J.**, Thermomagneto-Responsive Smart Biocatalysts for Malonyl-Coenzyme A Synthesis. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2020**, *12*, 20982-20990.
2. Prieto-Lopez, L. O.; Xu, J.; **Cui, J.**, Magnetic-responsive bendable nozzles for open surface droplet manipulation. *Polymers* **2019**, *11*, 1792.
3. Ye, X.; **Cui, J.**; Li, B.; Li, N.; Wang, R.; Yan, Z.; Tan, J.; Zhang, J.; Wan, X., Enantiomer-selective magnetization of conglomerates for quantitative chiral separation. *Nat. Commun.* **2019**, *10*, 1964.
4. Ye, X.; **Cui, J.**; Li, B.; Li, N.; Zhang, J.; Wan, X. (2018) Self-Reporting Inhibitors: A Single Crystallization Process to Obtain Two Optically Pure Enantiomers. *Angew. Chem., Int. Ed.*, *57*, 8120-8124;
5. Zhao, H., Sun, Q., Deng, X. & **Cui, J.** (2018) Earthworm-Inspired Rough Polymer Coatings with Self-Replenishing Lubrication for Adaptive Friction-Reduction and Antifouling Surfaces. *Adv. Mater.* **30**, 1802141;

6. Prieto-López, L. O.; Herbeck-Engel, P.; Yang, L.; Wu, Q.; Li, J.; **Cui, J.**, When Ultimate Adhesive Mechanism Meets Ultimate Anti-Fouling Surfaces—Polydopamine Vs SLIPS: Which One Prevails? *Adv. Mater. Interfaces* **2020**, doi:10.1002/admi.202000876.
7. Krishnan, B. P.; Xue, L.; Xiong, X.; **Cui, J.**, Photoinduced strain-assisted synthesis of a stiff-stilbene polymer by ring-opening metathesis polymerization. *Chem. Eur. J.* **2020**, doi: 10.1002/chem.202002418.
8. Zhou, X.; Zhang, Y.; Zhao, H.; Krishnan, B.; **Cui, J.**, Self-healable and recyclable tactile force sensors with post-tunable sensitivity. *Adv. Funct. Mater.* **2020**, doi: 10.1002/adfm.202003533.
9. Zhao, H.; Sun, Q.; Deng, X.; **Cui, J.**, Switchable cavitation in silicone coatings for energy-saving cooling and heating. *Adv. Mater.* **2020**, *32*, 2000870.
10. Xue, L.; Xiong, X.; Krishnan, B. P.; Puza, F.; Wang, S.; Zheng, Y.; **Cui, J.**, Light-regulated growth from dynamic swollen substrates for making rough surfaces. *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 963.
11. Puza, F.; Zheng, Y.; Han, L.; Xue, L.; **Cui, J.**, Physical entanglement hydrogels: ultrahigh water content but good toughness and stretchability. *Polym. Chem.* **2020**, *11*, 2339-2345.
12. Han, L.; Zheng, Y.; Luo, H.; Feng, J.; Engstler, R.; Xue, L.; Jing, G.; Deng, X.; del Campo, A.; **Cui, J.**, Macroscopic Self-Evolution of Dynamic Hydrogels to Create Hollow Interiors. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2020**, *59*, 5611-5615.
13. Han, L.; Wang, M.; Prieto-Lopez, L. O.; Deng, X.; **Cui, J.**, Self-hydrophobization in a dynamic hydrogel for creating nonspecific repeatable underwater adhesion. *Adv. Funct. Mater.* **2020**, *30*, 1907064
14. Wang, S.; Yang, L.; Wang, H.; Xue, L.; Chen, J.; **Cui, J.**, Nonequilibrium Transesterification for Programming a Material's Stiffening. *ACS Appl. Polym. Mater.* **2019**, *1*, 3227-3232.
15. Zhao, H.; Prieto-López, L. O.; Zhou, X.; Deng, X.; **Cui, J.**, Multistimuli Responsive Liquid-Release in Dynamic Polymer Coatings for Controlling Surface Slipperiness and Optical Performance. *Adv. Mater. Interfaces* **2019**, 1901028
16. Lin, Z.; Wang, H.; Yu, M.; Guo, X.; Zhang, C.-H.; Deng, H.; Zhang, P.; Chen, S.; Zeng, R.; **Cui, J.**; Chen, J., Photoswitchable ultrahigh-brightness red fluorescent polymeric nanoparticles for information encryption, anti-counterfeiting and bioimaging. *J. Mater. Chem. C* **2019**, *7*, 11515-11521.
17. Tran, V. T.; Mredha, M. T. I.; Pathak, S. K.; Yoon, H.; **Cui, J.**; Jeon, I., Conductive tough hydrogels with a staggered ion-coordinating structure for high self-recovery rate. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2019**, *11* (27), 24598-24608.
18. Mredha, M. T. I.; Le, H. H.; Tran, V. T.; Trtik, P.; **Cui, J.**; Jeon, I., Anisotropic tough multilayer hydrogels with programmable orientation. *Mat. Horiz.* **2019**, *6*, 1504-1511.
19. Xiong, X.; Xue, L.; **Cui, J.** (2018) Phototriggered Growth and Detachment of Polymer Brushes with Wavelength Selectivity. *ACS Macro Lett.* *7*, 239-243;
20. Wang, H.; Zhang, P.; Krishnan, B. P.; Yu, M.; Liu, J.; Xue, M.; Chen, S.; Zeng, R.; **Cui, J.**; Chen, J. (2018) Switchable single fluorescent polymeric nanoparticles for stable white-light generation. *J. Mater. Chem. C*, *6*, 9897-9902;
21. Yu, M.; Zhang, P.; Krishnan, B. P.; Wang, H.; Cao, Y.; Chen, S.; Zeng, R.; **Cui, J.**; Chen (2018), From Molecular Toolbox to Photoswitchable Fluorescent Polymeric Nanoparticle's One. *Adv. Funct. Mater.*, *28*, 1804759
22. Zhou, X.; Ma, G.; Zhao, H.; **Cui, J.** (2017) Self-Forming Interlocking Interfaces on the Immiscible Polymer Bilayers via Gelation-Mediated Phase Separation. *Macromolecular Rapid Communications*, *38*, DOI: 10.1002/marc.201700206.
23. Zhao H, Xu J., Prieto-López L O, Jing G, Deng X, **Cui J** (2016) Controlling the localization of liquid droplets in polymer matrices by evaporative lithography. *Angew. Chem. Int. Ed.* *55*, 10681-10685.
24. Jeon I, **Cui J**, Illeperuma W R K, Aizenberg J, Vlassak J (2016) Extremely stretchable and fast self-healing hydrogel. *Adv. Mater.* *28*, 4678-4683.

Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Schlussbericht
3. Titel "Biotechnologie2020+ - Strukturvorhaben: Leibniz Research Cluster (LRC) – Bio/Synthetische multifunktionale Mikor-Produktionseinheiten – Neuartige Wege zur Wirkstoffentwicklung, Teilprojekt D" hier: Schaltbare mesostrukturierte Oberflächen	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] <u>Cui, Jiayi</u> <u>del Campo, Aránzazu</u>	5. Abschlussdatum des Vorhabens 30.09.2020
	6. Veröffentlichungsdatum geplant
	7. Form der Publikation
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) INM – Leibniz-Institut für Neue Materialien Campus D2 2 66123 Saarbrücken	9. Ber. Nr. Durchführende Institution
	10. Förderkennzeichen 031A360D
	11. Seitenzahl 14
12. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. Literaturangaben 2
	14. Tabellen 3
	15. Abbildungen 1
16. Zusätzliche Angaben Abschlussbericht zu 031A360D	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)	
18. Kurzfassung Dieses Projekt verfolgt das Ziel, Mikroreaktionsplattformen für die Manipulation mehrstufiger Biosynthese zu entwickeln. Drei verschiedene Plattformdesigns wurden entworfen: (i) strukturierte Oberflächen mit responsiven Hohlsäulen, die zur Einleitung und Entnahme von Reaktionslösungen dienen, (ii) flüssigkeitsvermittelte mobile Oberflächen, die als Mikrotropfen vorliegende Reaktionsflüssigkeiten im umhüllten Zustand manipulieren, (iii) thermo-magnetisch responsive Träger, die Enzymkatalysatoren immobilisieren und dem Recycling der Reaktionslösungen ermöglichen. Diese Plattformen wurden mit Enzymsystemen von JRG 1 (HKI) und JRG 2 (IPB) validiert. Nach Einstellung der erforderlichen Prozessparameter wurden diese Plattformen JRG1 und JRG2 für die zellfreie Synthese bereitgestellt.	
19. Mikroreaktoren, responsive Polymere, Mikroaktuatoren, Mikrofluidik	
20. Verlag	21. Preis