

# Rasterkraftmikroskopische Analyse von einzelsträngiger DNA auf modifiziertem HOPG

Vorgelegt von

Luis van Merwyk

Angefertigt im Studiengang Bachelor of Science (B.Sc) Biophysik  
an der Universität Bielefeld

Fachbereich Experimental Biophysics & Applied Nanoscience

Sommersemester 2016

Erstgutachter: Prof. Dr. Dario Anselmetti

Zweitgutachter: Dr. Volker Walhorn

20. Oktober 2016



# Inhaltsverzeichnis

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| <b>1</b> | <b>Einleitung</b>                            | <b>2</b>  |
| <b>2</b> | <b>Theorie</b>                               | <b>3</b>  |
| 2.1      | Rasterkraftmikroskopie . . . . .             | 3         |
| 2.1.1    | Konservative Kräfte . . . . .                | 4         |
| 2.1.2    | Dissipative Kräfte . . . . .                 | 5         |
| 2.2      | DNA . . . . .                                | 6         |
| 2.3      | Polymermodelle . . . . .                     | 7         |
| 2.3.1    | Freely-Jointed-Chain . . . . .               | 7         |
| 2.3.2    | Freely-Rotating-Chain . . . . .              | 8         |
| 2.3.3    | Worm-Like-Chain . . . . .                    | 9         |
| <b>3</b> | <b>Material und Methode</b>                  | <b>11</b> |
| 3.1      | M13-DNA . . . . .                            | 11        |
| 3.2      | DNA-Lösung . . . . .                         | 11        |
| 3.3      | Highly oriented pyrolytic graphite . . . . . | 11        |
| 3.4      | Octadecylamin . . . . .                      | 13        |
| 3.5      | Präparation der Substrate . . . . .          | 14        |
| 3.6      | 2D-equilibrium/3D-trapping . . . . .         | 16        |
| 3.7      | Computerprogramme . . . . .                  | 16        |
| 3.7.1    | Easyworm . . . . .                           | 16        |
| 3.7.2    | Tangentenkorrelation . . . . .               | 18        |
| 3.7.3    | Gwyddion . . . . .                           | 19        |
| 3.8      | Messung am AFM . . . . .                     | 19        |
| 3.9      | Datenanalyse . . . . .                       | 20        |
| <b>4</b> | <b>Ergebnisse</b>                            | <b>22</b> |
| <b>5</b> | <b>Fazit</b>                                 | <b>27</b> |
| <b>6</b> | <b>Literatur</b>                             | <b>28</b> |
| <b>7</b> | <b>Danksagungen</b>                          | <b>30</b> |

## **Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Bachelorarbeit selbstständig verfasst und gelieferte Datensätze, Zeichnungen, Skizzen und grafische Darstellungen selbstständig erstellt habe. Ich habe keine anderen Quellen als die angegebenen benutzt und habe die Stellen der Arbeit, die anderen Werken entnommen sind, einschließlich verwendeter Tabellen und Abbildungen, in jedem einzelnen Fall unter Angabe der Quelle als Entlehnung kenntlich gemacht.

Bielefeld, den 20. Oktober 2016

# 1 Einleitung

Die Analyse von Desoxyribonukleinsäure (Desoxyribonucleic acid, engl. DNA), dem Träger der Erbinformationen, wird mit fortschreitender Entwicklung immer wichtiger. Doppelsträngige DNA (dsDNA), wie sie u. a. im menschlichen Zellkern vorliegt, ist ein eher steifes Polymer, welches durch die negative Ladung der Phosphatrückgrate kaum mit sich selbst wechselwirkt. In einzelsträngiger DNA (ssDNA) hingegen bilden die Basen mit komplementären Basen des gleichen Strangs Paare, was zu lokalen Doppelstrangstrukturen innerhalb und damit zu einer knäuelartigen Struktur des gesamten Stranges führt. Diese erschweren z.B. die Analyse mit dem Rasterkraftmikroskop. Um diese vernünftig zu analysieren, muss die ssDNA so immobilisiert werden, dass sie auf einem Substrat ausgestreckt wird.

Im Rahmen dieser Arbeit soll untersucht werden, ob es möglich ist einzelsträngige DNA zu strecken und mit dem Rasterkraftmikroskop zu analysieren. Dazu wird das Substrat auf dem die DNA immobilisiert wird, auf zwei verschiedene Weisen, mit Octadecylamin (ODA) modifiziert, die ssDNA auf diesem platziert und mit dem Rasterkraftmikroskop (Atomic Force Microscopy, AFM) analysiert.

## 2 Theorie

Da es nicht möglich ist DNA mit optischen Mikroskopen abzubilden, wird das AFM benutzt. Der Grund dafür ist die Beugungsbegrenzung nach Abbe von  $\frac{\lambda}{2}$ , wobei  $\lambda$  die Wellenlänge des verwendeten Lichts ist. Das AFM hingegen, ist nicht an diese Begrenzung gebunden, da es ein Kraft- und kein Lichtmikroskop ist.

### 2.1 Rasterkraftmikroskopie

Die Rasterkraftmikroskopie ist eine Rastersondenmethode. Hierbei rastert eine Sonde die Probe ab und je nach Verfahren werden verschiedene Informationen von der Sonde weitergegeben. Beim AFM ist die Sonde ein Federbalken (Cantilever) an dessen Ende sich eine Spitze (Tip) befindet, mit der über die Probe (Sample) gerastert wird. Optimalerweise ist der Tip so spitz, dass auf ihr nur ein Atom thront (Abb. 1).

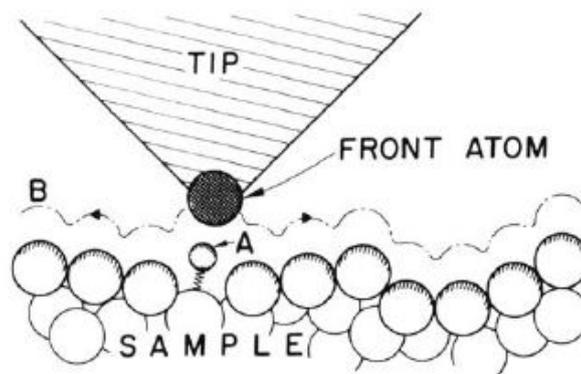


Abbildung 1: Der Tip eines AFM-Cantilevers wie er mit konstanter Kraft über eine Oberfläche rastert [10]

Die Probe befindet sich auf einem Piezoelement welches über einen Feedback-Regelkreis mit dem Sensor verbunden ist. Dies ermöglicht es z.B. dem Cantilever mit konstanter Kraft über die Probe zu rastern [10]. Beim rastern über die Oberfläche der Probe wird der Cantilever ausgelenkt. Diese Auslenkung kann man dazu nutzen, um ein Bild der Oberflächentopographie zu erstellen. Eine Möglichkeit, die Auslenkung zu detektieren, ist die *optical-beam-deflection*-Methode, bei der ein Laserstrahl auf die Rückseite des Cantilevers gerichtet wird und von dort auf eine Photodiode gelenkt wird (Abb. 2). Diese Photodiode besitzt 4 Quadranten und wird so ausgerichtet, dass der Laserstrahl in deren Mitte trifft. Auslenkungen des Cantilevers kann man mithilfe der Teilspannungen der Photodioden messen.

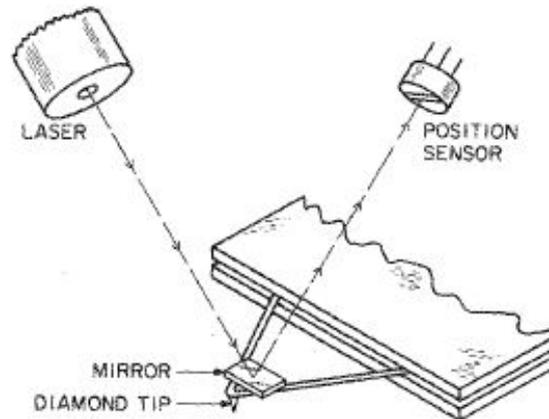


Abbildung 2: Das Schema von der *optical-beam-deflection*-Methode [1]

Für ein AFM gibt es eine Reihe von Betriebsmodi. Häufig genutzt sind der *constant-force*-Modus und der *tapping*-Modus. Bei dem *constant-force*-Modus rastert der Cantilever, wie oben erwähnt, mit konstanter Kraft über die Probe (Abb. 1), dafür sorgt der Feedback-Regelkreis und das Piezoelement unter der Probe. Ändert sich die Kraft auf den Cantilever, so sorgt der Regelkreis dafür, dass der Cantilever entweder von der Probe entfernt oder angenähert wird. Beim *tapping*-Modus wird der Cantilever mit seiner Resonanzfrequenz angeregt und in das Nahfeld der Probe gebracht. Die Wechselwirkung zwischen Probe und Spitze sorgt dafür, dass sich die Resonanzfrequenz des Cantilevers, und somit auch Phase und Amplitude, ändern. Beim *tapping*-Modus wird die Amplitude konstant gehalten. Die Kraft, die der Cantilever erfährt, resultiert aus verschiedenen molekularen bzw. atomaren Wechselwirkungen, welche im Folgenden kurz beschrieben werden.

### 2.1.1 Konservative Kräfte

Zum einen gibt es die elektrostatische Wechselwirkung oder auch Coulomb-Kraft  $F_{Coulomb}$ , mit einer Reichweite von vielen 100 nm, welche sich je nach Ladung von Spitze und Probe unterscheidet:

$$F_{Coulomb} = \frac{1}{4\pi\epsilon\epsilon_0} \frac{Q_1 Q_2}{r^2} \quad (1)$$

Mit  $\epsilon$  und  $\epsilon_0$  als Dielektrizitätskonstanten für Vakuum und Medium,  $Q_i$  für die verschiedenen Ladungen und  $r$  als Abstand der Ladungen. Die elektrostatische Kraft kann je nach Vorzeichen der Ladungen attraktiv oder repulsiv sein. Bei ungeladenem Tip und Sample, kann die Kraft vernachlässigt werden. Eine weitere Wechselwirkung ist die Van-der-Waals-Wechselwirkung, welche eine Reichweite von ungefähr 100 nm hat und auf dem Prinzip der induzierten Dipole basiert [13]. Ein Molekül, das sich einem Anderen annähert, induziert in dieses, aufgrund

von Fluktuationen in der Ladungsverteilung, einen momentanen Dipol und dies führt zu einer attraktiven Kraft. Das VdW-Potenzial lässt sich als:

$$V_{VdW} = \frac{-C}{r^6} \quad (2)$$

schreiben, wobei  $C$  materialabhängig ist [20]. Die Kraft mit der geringsten Reichweite ist die Pauli-Abstoßung. Diese basiert auf dem Pauli-Prinzip, nach dem sich zwei Teilchen, in diesem Fall Elektronen, nicht im selben Quantenzustand befinden dürfen, sprich sich in mindestens einer Quantenzahl unterscheiden müssen. Beim AFM kommt diese Kraft zum tragen, da sich die Atomorbitale von Spitze und Probe überlappen, wenn der Abstand zwischen diesen zu gering ist. Zusammenfassen kann man die Kräfte, bzw. deren Potentiale, im Lennard-Jones-Potential:

$$V(r)_{LJ} = -V_0 \left[ \left( \frac{r_0}{r} \right)^{12} - \left( \frac{r_0}{r} \right)^6 \right] \quad (3)$$

Hierbei sind  $V_0$ ,  $r_0$  und  $r_e$  Energie, Abstand und Gleichgewichtsabstand zwischen zwei Atomen im Gleichgewicht [18].

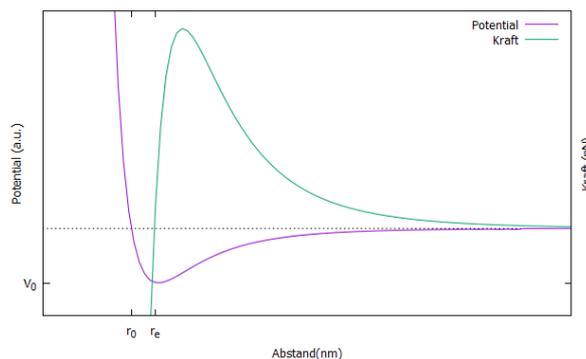


Abbildung 3: Das Lennard-Jones-Potential und die dazugehörige Kraftkurve

Auf Abb. 3 ist zu erkennen, dass wenn sich zwei Atome einander annähern, das Potential sinkt, bei  $r_e$  minimal ist und dann ansteigt. Die Kraft verhält sich dem entsprechend, attraktiv bis zum Gleichgewichtsabstand, wechselt dann ihr Vorzeichen und wird repulsiv. Der Zusammenhang zwischen Potential und Kraft ist  $F(r)_{LJ} = -\frac{\delta}{\delta r} V(r)_{LJ}$

### 2.1.2 Dissipative Kräfte

Da sich bei der Annäherung der Tip im Nahfeld einer Oberfläche befindet und sich, unter atmosphärischen Bedingungen, immer ein dünner Wasserfilm auf einer Oberfläche befindet, wird auch die Kapillarkraft wichtig. Sie kommt zum tragen, wenn der Tip in den dünnen Flüssig-

keitsfilm eintaucht:

$$F_{Kapillar} = \frac{\gamma 2\pi R d}{r_k} \quad (4)$$

Hierbei sind  $\gamma$  die Oberflächenspannung,  $R$  der Tipradius,  $d$  die Eindringtiefe des Tips und  $r_k$  der Wölbungsradius des Flüssigkeitsfilms [18, 20]. Interessant ist, dass es weniger Kraft erfordert mit dem Tip in den Flüssigkeitsfilm einzudringen, als diesen zu verlassen.

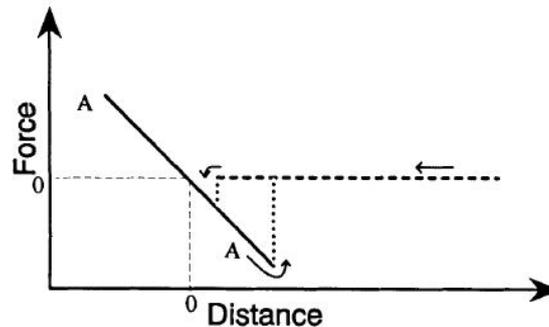


Abbildung 4: Kraftkurve eines Cantilevers der in einen Flüssigkeitsfilm eintaucht [18]

Der Cantilever erfährt, beim Annähern, so lange keine Kraft, bis der Tip mit dem Flüssigkeitsfilm in Kontakt kommt und von diesem gefangen wird. Wird der Cantilever zurückgezogen, so wirken Adhäsionskräfte, welche verhindern, dass dieser den Flüssigkeitsfilm verlässt (Abb. 4).

## 2.2 DNA

Die Desoxyribonukleinsäure ist eines der wichtigsten Biomoleküle, da es der Träger der Erbinformation eines Lebewesens ist. Das Molekül liegt meist in einer Doppelhelix vor, die aus zwei anti-parallelen Strängen von Nukleotiden besteht, ein Strang aus einer Verkettung von Nukleotiden und ein Nukleotid aus einem negativ geladenen Phosphatrückgrat, 2-Desoxyribose und einer der vier Basen der DNA (Abb. 5 links). Die vier Basen sind die Pyrimidinderivate Thymin und Cytosin und die Purinderivate Adenin und Guanin. Die 2-Desoxyribose bildet die Basis eines Nukleotids. An das C1'-Atom der 2-Desoxyribose ist die Base und an das C5'-Atom das Phosphat gebunden. Mehrere Nukleotide können eine Kette bilden, wenn der Phosphatrest eines Nukleotids mit der 3'-OH-Gruppe eines Anderen bindet (Abb. 5 rechts). Die Richtung der Kette wird durch die Atome der 2-Desoxyribose bestimmt, der Anfang ist das 5'-Ende, an dem das Phosphat gebunden ist, und das Ende das 3'-Ende des Strangs.

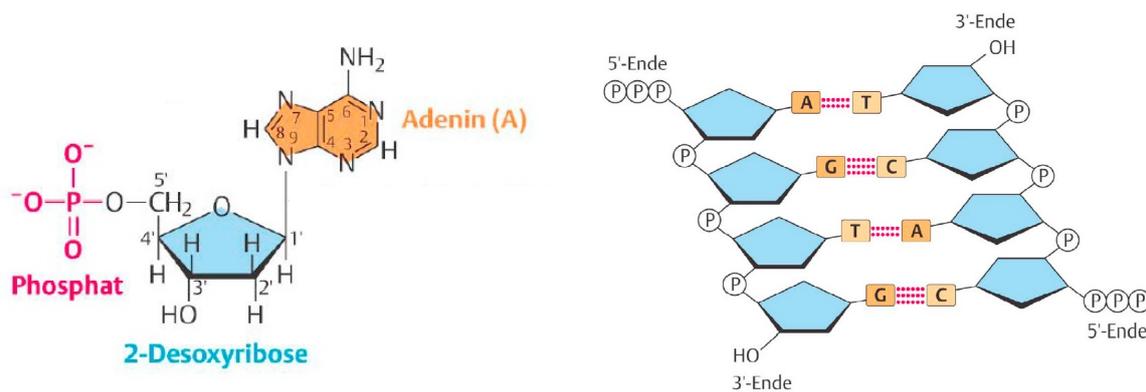


Abbildung 5: **Links:** Schema eines Nucleotids mit Adenin als Beispiel für eine Base **Rechts:** Schema eines Doppelstrangs [14]

Die Doppelstrang-Strukturen entstehen durch die Ausbildung von Basenpaaren. Liegt die DNA in einem Doppelstrang vor, sind zwei Basen miteinander gepaart. Cytosin basenpaart mit Guanin, mithilfe von zwei, und Adenin mit Thymin, mithilfe von drei Wasserstoffbrücken. Die Phosphatrückgrate der Ketten zeigen nach außen. Im Falle eines Einzelstranges sind die Basen ungepaart. Dadurch kommt es jedoch vor, dass ein Einzelstrang mit sich selber lokale Doppelstrang-Strukturen ausbildet und infolge dessen zu einer Art Knäuel wird.

## 2.3 Polymermodelle

Ein Polymer, z.B. DNA, ist eine lange Kette aus  $N$  identischen Monomeren, bzw. kleinen Molekülen, den Nucleotiden, dessen physikalischen Eigenschaften sich durch Hinzufügen oder Entfernen einiger weniger Monomere nicht wesentlich verändert [17]. Um Polymere zu charakterisieren wird mehr benötigt als nur Masse und Volumen. Sie sind ein nicht ideales System, eine Masse mit Ausdehnung. Hinzukommt, dass Konformationsänderungen stattfinden können, die die Eigenschaften des Polymers verändern. Im Wesentlichen beschreiben die Polymermodelle Polymere als aneinander verknüpfte Stäbe die verschiedene Eigenschaften hinsichtlich der Stablänge  $l$ , des Bindungswinkels  $\Theta$  und des Torsionswinkels  $\Phi$  aufweisen und untereinander nicht wechselwirken.

### 2.3.1 Freely-Jointed-Chain

Das Freely-Jointed-Chain (FJC) Modell beschreibt das Polymer als  $n$  feste Segmente, die keine festen Bindungswinkel haben (Abb. 6).

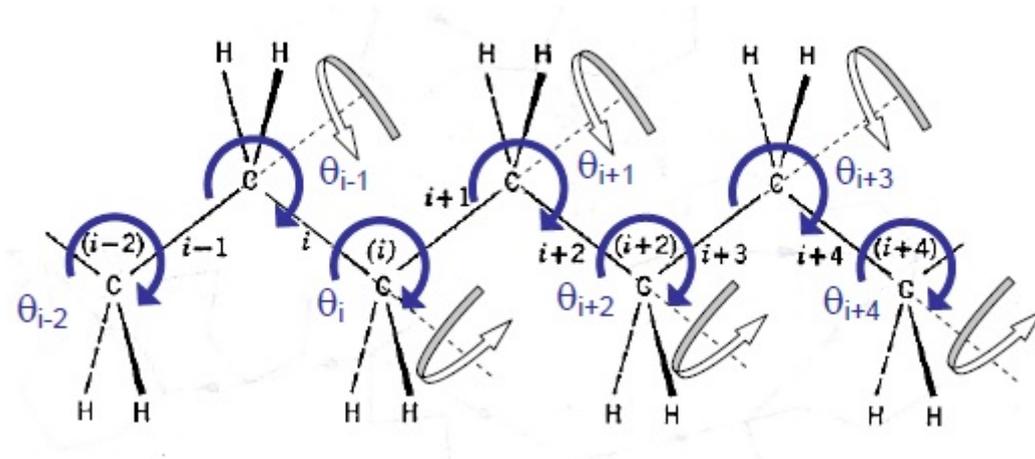


Abbildung 6: FJC am Beispiel einer Kohlenwasserstoffkette [19]

Eine für diese Modell charakteristische Größe ist der quadratischen End-zu-End-Abstand  $\langle \vec{L}^2 \rangle$ , dieser wird dazu benutzt, die räumliche Ausdehnung eines Moleküls zu beschreiben. Die Konturlänge eines Polymers aus  $N$  Segmenten der Länge  $l$  ist:

$$\vec{L}_0 = \sum_{i=1}^N \vec{l}_i = Nl \quad (5)$$

Quadriert ergibt sich:

$$\langle \vec{L}^2 \rangle = \left\langle \left( \sum_{i=1}^N \vec{l}_i \right) \left( \sum_{j=1}^N \vec{l}_j \right) \right\rangle = Nl^2 + 2l^2 \sum_{1 \leq i < j \leq N} \langle \cos(\Theta_{ij}) \rangle \quad (6)$$

Da die Verteilung der Winkel zufällig ist, ergibt sich  $\langle \cos(\Theta_{ij}) \rangle = 0$  und daraus folgt:

$$\langle \vec{L}^2 \rangle = Nl^2 \quad (7)$$

### 2.3.2 Freely-Rotating-Chain

Nach dem Freely-Rotating-Chain (FRC) Modell besteht ein Polymer aus  $n$  Stäben die eine konstante Länge und einen konstanten Bindungswinkel  $\Theta$  haben. Der Torsionswinkel  $\Phi$  ist dabei beliebig (Abb. 7).

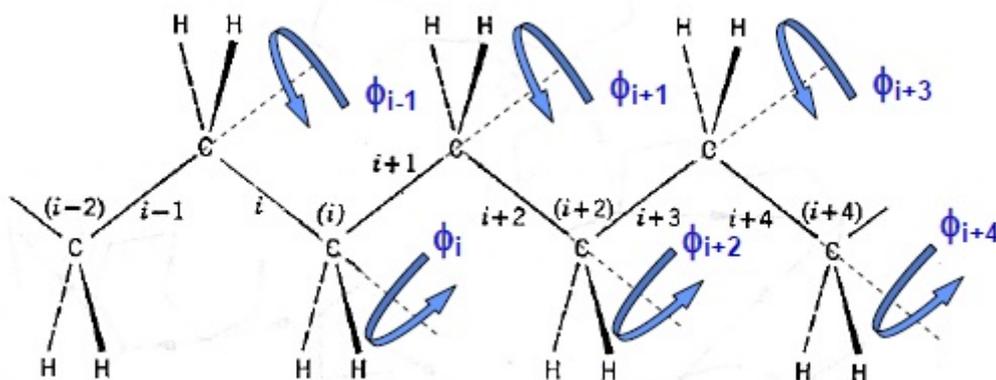


Abbildung 7: FRC am Beispiel einer Kohlenwasserstoffkette [19]

Der quadratische End-zu-End-Abstand für das FRC ist

$$\langle \vec{L}^2 \rangle = Nl^2 \sigma_N = N_{eff} l_{eff}^2 \quad (8)$$

und die Entsprechende Konturlänge,

$$L_0 = Nl = N_{eff} l_{eff} \quad (9)$$

wobei  $\sigma_N$  das Steifheitsmaß ist, je größer  $\sigma_N$  desto steifer das Polymer,  $N_{eff} = \frac{N}{\sigma_N}$  die effektive Segmentzahl und  $l_{eff} = l\sigma_N$  die effektive Länge ist [17].

### 2.3.3 Worm-Like-Chain

Ein Spezialfall des FJC-Modells ist das Worm-Like-Chain (WLC) Modell in dem die Bindungswinkel  $\Theta$  klein sind. Vielmehr kann es nicht als Kette aus Segmenten, sondern als flexibler Stab aufgefasst werden. Für das WLC-Modell ist die Persistenzlänge  $P$  charakteristisch und gibt an, auf welchem Abschnitt das Polymer seine Richtung behält.

$$P = \frac{K}{k_B T} \quad (10)$$

Hierbei sind  $k_B$  die Boltzmannkonstante,  $T$  die Temperatur und  $K$  die Biegesteifigkeit. Der quadratische End-zu-End-Abstand ist hier durch

$$\langle \vec{L}^2 \rangle = 2PL_0 - 2P \left(1 - \exp\left(\frac{-L_0}{P}\right)\right) \quad (11)$$

gegeben. Es gibt zwei Spezialfälle, einmal, dass die Konturlänge viel größer ist, als die Persistenzlänge und einmal das entsprechende Gegenteil. Ist die Konturlänge kleiner als die Persi-

stanzlänge, liegt das Polymer als steifer Stab vor und es ergibt sich nach einer Reihenentwicklung der Exponentialfunktion

$$\sqrt{\langle \vec{L}^2 \rangle} = L_0 = N_{eff} l_{eff} \quad (12)$$

Im anderen Fall, ergibt sich

$$\langle \vec{L}^2 \rangle = 2PN_{eff}l_{eff} \quad (13)$$

Das Modell eignet sich besonders gut, um steife Polymere, wie doppelsträngige DNA, zu charakterisieren [7].

## 3 Material und Methode

### 3.1 M13-DNA

Im Rahmen dieser Arbeit wird einzelsträngige sog. M13-DNA (Institute for Bioengineering of Catalonia, Spanien) verwendet. Für Testzwecke wurde auch die DNA des  $\lambda$ -Phagen benutzt. M13 ist eine Bakteriophage, d.h. eine Phage die Bakterien, im Falle von M13 *Escherichia coli*, befällt. Wird eine Bakterie von einer Phage infiziert, so wird das Phagengenom in diese integriert, führt jedoch nicht zur Lyse der Zelle. Die Lyse ist der Tod einer Bakterie durch Produktion von Phagen-Proteinen anstatt Eigener. Die M13-DNA im Bakterium bringt dieses dazu, die codierten Gene in Proteine umzusetzen [14]. Es ist möglich, die Phagen-DNA vor der Infektion zu verändern, um ein gewünschtes Protein von einem Bakterium herstellen zu lassen. Es ist ebenfalls möglich, M13-DNA für DNA-Origami zu nutzen. Beim DNA-Origami wird die DNA-Sequenz eines Stranges so präpariert, dass wenn dieser sich in sich selbst faltet Nanostrukturen entstehen, deren Form von der DNA-Sequenz abhängig ist[15].

### 3.2 DNA-Lösung

Die DNA liegt in  $50nM$  Lösung vor und muss noch verdünnt werden. Dazu muss zunächst die Zielkonzentration ausgerechnet werden.  $1pmol$  der DNA entsprechen  $4,78ng$ . Um die gewünschte Konzentration von  $0.47\frac{ng}{\mu l}$  zu erreichen müssen  $2\mu l$  der Stammlösung mit  $998\mu l$  Milli-Q-Wasser verdünnt werden. Dazu wird das Wasser in ein Eppendorf-Gefäß gefüllt und erst dann wird die DNA-Lösung dazugegeben. Die Verdünnung wird dann geschüttelt, um die Verteilung der DNA-Moleküle zu homogenisieren. Die Arbeit von Dubrovin et al [9] diente hier als Orientierung für die Konzentration und die Methode.

### 3.3 Highly oriented pyrolytic graphite

Highly oriented pyrolytic graphite (HOPG) ist ein Graphit Substrat das aus mehreren Ebenen Kohlenstoff, der innerhalb einer Ebene in Hexagonen angeordnet ist, besteht. Die Ebenen sind verschoben, so dass sich jedes zweite Kohlenstoffatom eines Hexagons über der Mitte eines darunter liegenden Hexagons befindet (Abb. 8). Der Abstand zweier Ebenen beträgt  $0.34nm$  [2].

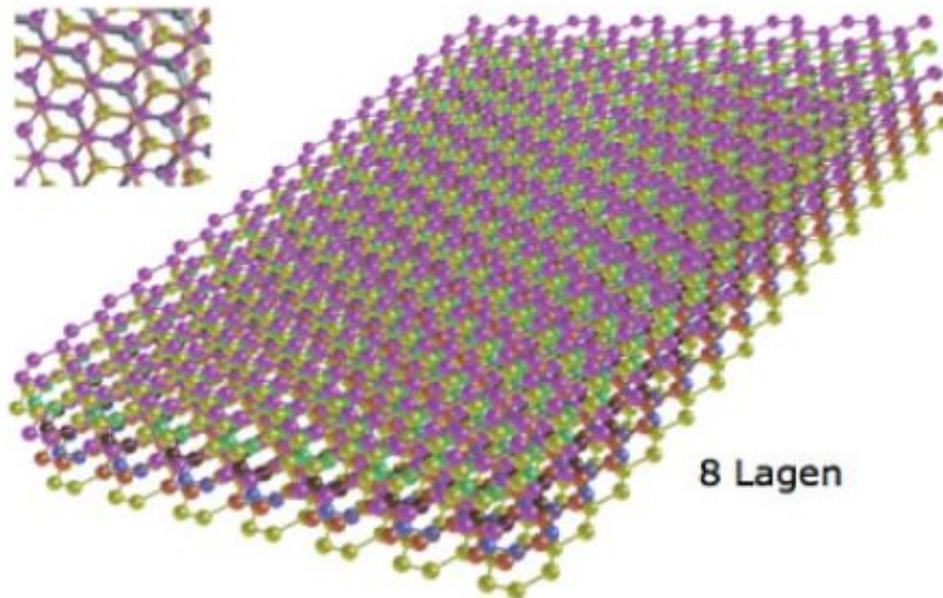


Abbildung 8: Schematischer Aufbau von acht übereinanderliegenden Graphenlagen [2]

Die einzelnen Schichten können mit dem passendem Werkzeug, z.B. Klebeband, abgetragen werden, sodass ein HOPG Substrat mehrfach einsetzbar ist. Theoretisch bestehen HOPG Substrate aus übereinander liegenden Monolagen, praktisch ist jedoch eine Art Schuppenmuster zu erkennen (Abb. 9).

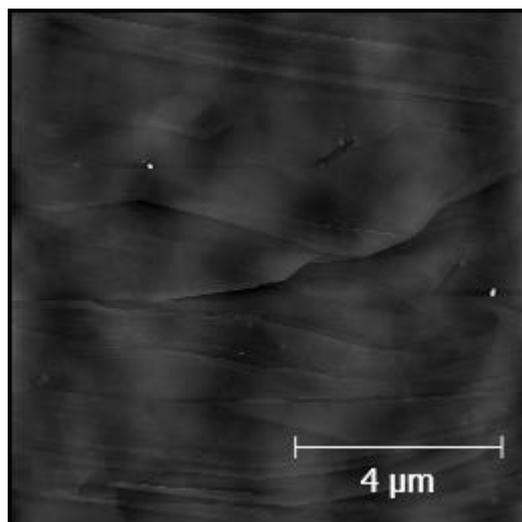


Abbildung 9: 10x10µm topographischer AFMscan von HOPG

### 3.4 Octadecylamin

Octadecylamin (ODA)(Abb. 10) ist eine weiße pulverartige Substanz die bei Raumtemperatur fest ist und einen Schmelzpunkt bei 50-52° Celsius hat. Während der Substratpräparation wird ODA bei 100° verdampft.(siehe Kap. 3.5)



Abbildung 10: Struktur von Octadecylamin, chemische Summenformel:  $H_3C - (CH_2)_{16} - CH_2 - NH_2$ [6]

ODA wird mit dem Signalwort Gefahr beschrieben, da die Chemikalie ätzend, gesundheitsschädlich und umweltschädlich ist. Wird ein HOPG-Substrat mit ODA bedampft, so ordnen sich die einzelnen Moleküle selbstständig an. Die molekulare Struktur des Substrats, in diesem Fall die hexagonale Struktur von HOPG, beeinflusst, wie sich die Moleküle auf der Oberfläche niederlassen. In den einzelnen Reihen, lagern sich die Kopfgruppen der Moleküle zusammen.

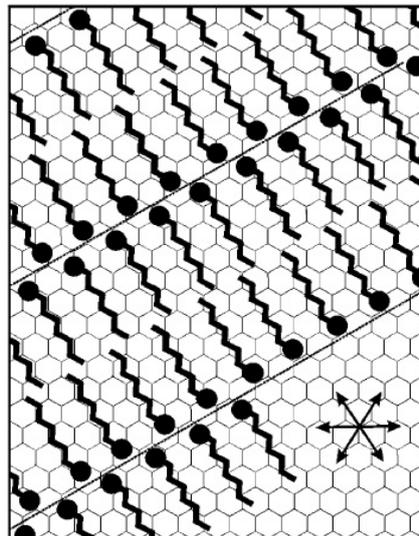


Abbildung 11: Schema der Orientierung von ODA auf HOPG. [21]

Die sich aneinander anlagernden Kopfgruppen erscheinen im AFM scan höher als die Schwanzgruppen, sodass eine lamellenartige Struktur entsteht (Abb. 11). Diese beeinflussen, aufgrund

der positiven Ladung der Kopfgruppen und der hydrophoben Schwanzgruppen, die Adsorption der DNA. Vorzugsweise wird die DNA entlang einer oder mehrerer Lamellen adsorbiert. Die Ausrichtung und Länge der Lamellen wird vom HOPG, bzw. dessen Unregelmäßigkeiten wie den Domänen, beeinflusst. Auf Abb. 12 (rote Pfeile) sind die Unregelmäßigkeiten z.B. am Rand einer Schuppe zu erkennen.

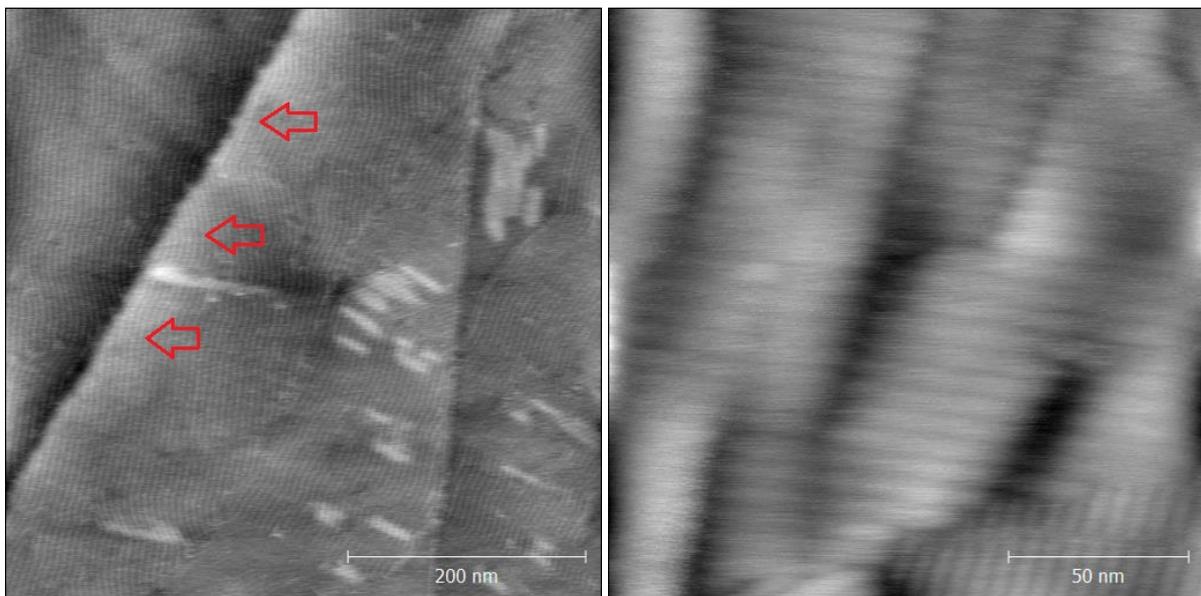


Abbildung 12: Topographischer AFMscan **Links**: Übersichtsaufnahme von vielen Lamellen **Rechts**: Nahaufnahme

### 3.5 Präparation der Substrate

Um DNA mithilfe des AFM charakterisieren zu können, muss sie zunächst immobilisiert werden. Dazu wird DNA in Lösung auf eine Konzentration von  $0.47 \frac{ng}{\mu l}$  verdünnt und geschüttelt. Dann wird das HOPG Substrat mithilfe eines Klebestreifens abgezogen, um die oberste Schicht und somit auch mögliche Verschmutzungen zu entfernen und vorsichtig in einer Halterung befestigt. Nun wird eine kleine Menge ODA (  $10ng$  ) auf einen halbierten Objektträger platziert und auf eine auf  $100^\circ$  vorgeheizte Heizplatte gelegt. Die Halterung, in dem das HOPG-Substrat befestigt ist, wird nun an einem Abstandshalter befestigt für ungefähr 10 Sekunden über dem ODA platziert (Abb. 13).

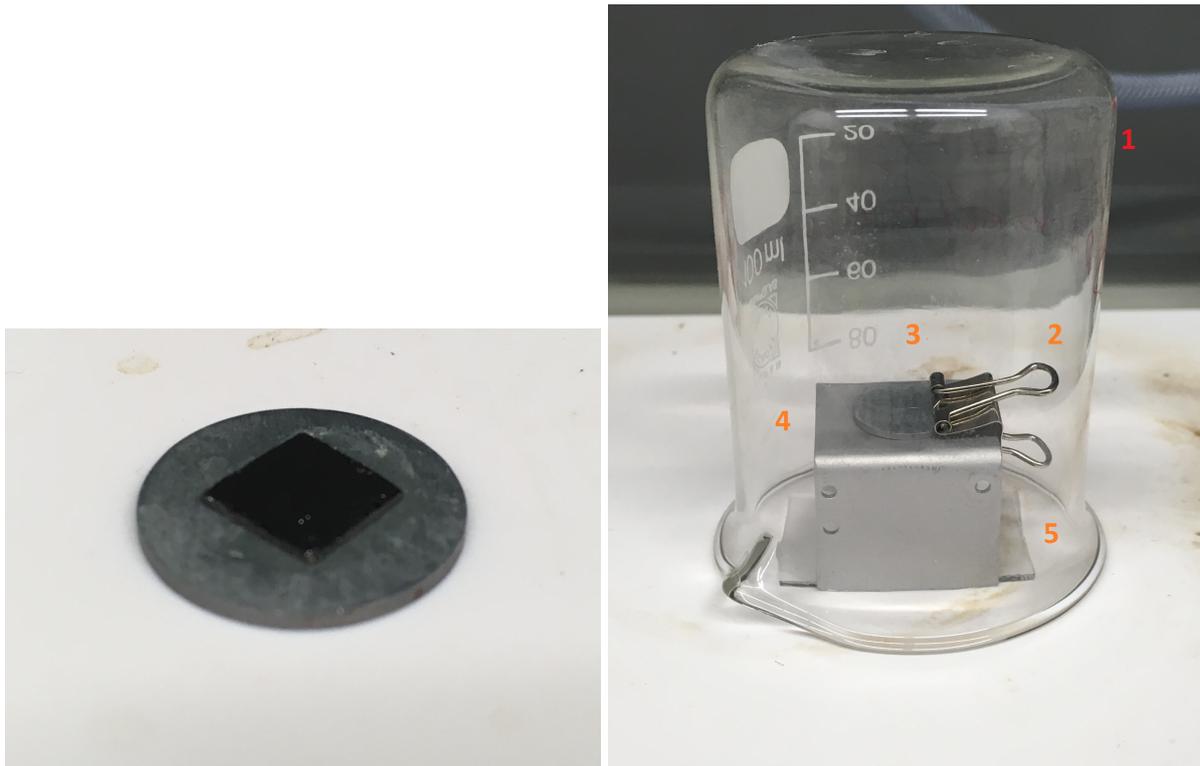


Abbildung 13: **Links:** HOPG auf einem Träger **Rechts:** Präparationsaufbau 1. Becherglas, 2. Klemme, 3. Träger, 4. Abstandshalter, 5. Objektträger

Während des Bedampfens wird alles mit einem Becherglas abgedeckt um den Vorgang vor äußeren Einflüssen wie Luftzügen zu schützen. Der ganze Vorgang findet unter einem Abzug statt, da ODA eine gefährliche Chemikalie ist. Nach dem Bedampfen wird 5 Minuten gewartet bis  $10\mu\text{l}$  der DNA-Lösung auf das modifizierte HOPG gegeben werden. Die Lösung wird nach 10 Minuten Inkubationszeit mit einem Filterpapier o.Ä. abgezogen und mit Stickstoff abgepustet, sodass sich keine Flüssigkeit mehr auf dem Substrat befindet [9, 16]. Eine andere Methode eine Monoschicht ODA auf dem HOPG aufzutragen ist der Langmuir-Blodgett-Trog. Der Trog ist ein Wasserbecken mit zwei Barrieren auf der Wasseroberfläche, die dazu verwendet werden können, Substanzen auf der Wasseroberfläche zusammenschieben. Über dem Becken und mittig zwischen den Barrieren, befindet sich eine Vorrichtung in der man ein Substrat einspannen kann, auf das die Monoschicht übertragen werden soll. Um ODA mit dem Trog zu übertragen, wird dieses zunächst in Chloroform gelöst ( $2.13\frac{\mu\text{g}}{\mu\text{l}}$ ) und vorsichtig mit einer Hamilton-Spritze auf die Wasseroberfläche übertragen. Nun wird ein Oberflächendruck von  $35\frac{\text{nN}}{\text{m}^2}$  eingestellt und das eingespannte HOPG der Wasseroberfläche angenähert bis der Meniskus dieses bedeckt. Daraufhin wird das HOPG zurückgezogen und zum trocknen stehen gelassen. Wenn das Substrat getrocknet ist, wird es analog wie oben erwähnt behandelt.

### 3.6 2D-equilibrium/3D-trapping

Üblicherweise befindet sich DNA in Lösung und liegt in dieser als Knäuel vor. Wird die Lösung mit der DNA auf ein Substrat gegeben, hängt es von der Bindungsstärke zwischen DNA und Substrat ab, in welcher Konformation die DNA auf dem Substrat immobilisiert wird. Bindet Substrat und DNA stark, tritt ein Phänomen auf, was als 3D-trapping bezeichnet wird. Das DNA-Molekül bindet so stark und schnell an das Substrat, dass es keine Konformationsänderung mehr durchführen kann und somit zu einer 2D-Abbildung seiner 3D-Struktur wird. Ist die Bindung weniger stark tritt das 2D-equilibrium auf. Hierbei hat das Molekül, bevor es irreversibel an das Substrat bindet, noch die Möglichkeit eine Konformationsänderung einzugehen, d.h. dass sie sich entwindet [3, 4].

### 3.7 Computerprogramme

#### 3.7.1 Easyworm

Easyworm ist ein frei zugängliches Programm (open source), bestehend aus drei ausführbaren Dateien *Easyworm1.exe*, *Easyworm2.exe* und *Synchains.exe*, zur Analyse von Polymeren die durch das WLC-Modell charakterisiert werden können. Um das Programm zu nutzen benötigt man die Mathworks Compiler Runtime *MRC\_R2011a.exe*. Ist diese installiert, kann Easyworm genutzt werden. Um Bilder auszuwerten müssen sie zunächst geflattet und als Bitmap exportiert werden. Das zu analysierende Polymer sollte gut zu erkennen sein um eine Bearbeitung zu ermöglichen. Damit Easyworm1 eine Bilddatei akzeptiert, muss das Bild quadratisch sein, ohne irgendwelche Skalen und Extras, und sich im Ordner der ausführbaren Easyworm-Datei befinden. Die Bilddatei wird mit der Schaltfläche *LoadHeightMap* geöffnet unter der bei geöffneter Bilddatei der jeweilige Name angezeigt wird. Darunter muss die Scangröße des Bildes eingetragen werden. Mit der Schaltfläche *SelectChain* kann die Auswertung gestartet werden.

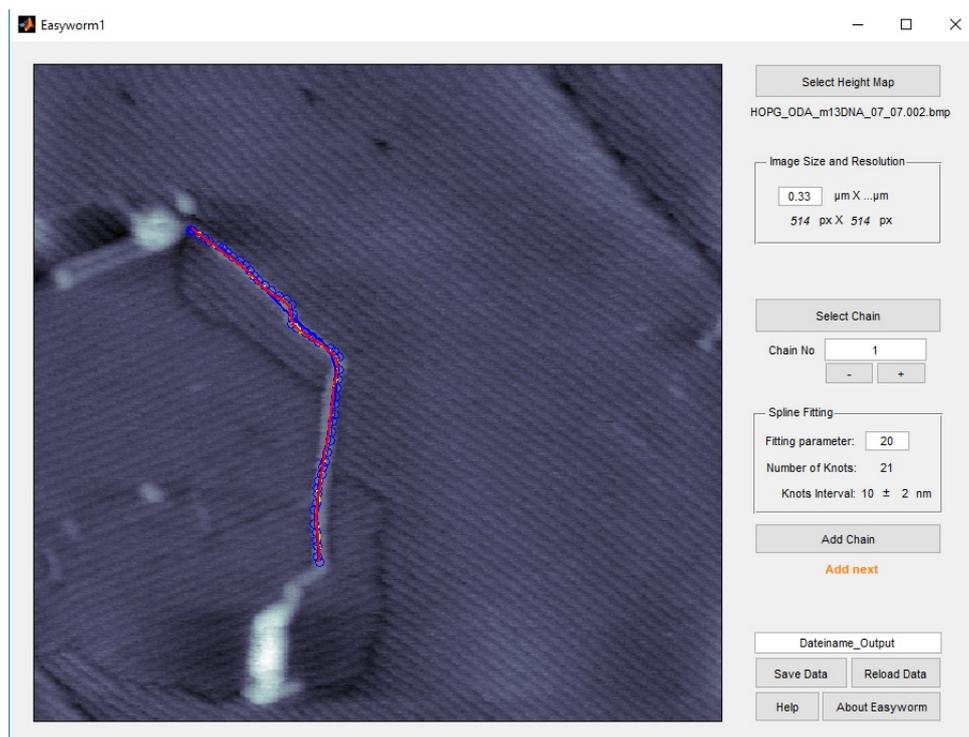


Abbildung 14: Easyworm1 mit bereits gesetzten und bestätigten Datenpunkten

Die Auswertung erfolgt mit dem Setzen von Datenpunkten entlang des Polymers mithilfe von Mausklicks. Sind die Datenpunkte für ein Polymer gesetzt, muss dies mit der Enter-Taste bestätigt werden. Sind die Datenpunkte für das Programm erkennbar, erscheinen eine rote und eine blaue Linie entlang der Punkte (Abb. 14), sind die Datenpunkte unzureichend oder überschneiden sich, so werden die Linien nicht sichtbar, ein Geräusch ertönt und die Auswertung muss von neuem begonnen werden. Werden die Datenpunkte vom Programm akzeptiert, können die Daten mit der *AddChain*-Schaltfläche zwischengespeichert werden. Endgültig werden die Daten mithilfe der Schaltfläche *SaveData* gespeichert. Mit *ReloadData* kann ein vorhandener Datensatz ergänzt werden. Die gespeicherte Datei wird mit *Easyworm2.exe* ausgewertet (Abb. 15). Dazu muss sie zunächst mit *LoadData* in das Programm geladen werden. Zur Auswertung wird die Tangent Correlation (Tangentenkorrelation, siehe unten) benötigt. Die Tangentenkorrelation ist eine von drei Möglichkeiten die Persistence Length (Persistenzlänge) und die Bending Rigidity (Biegesteifigkeit) eines Polymers zu bestimmen.

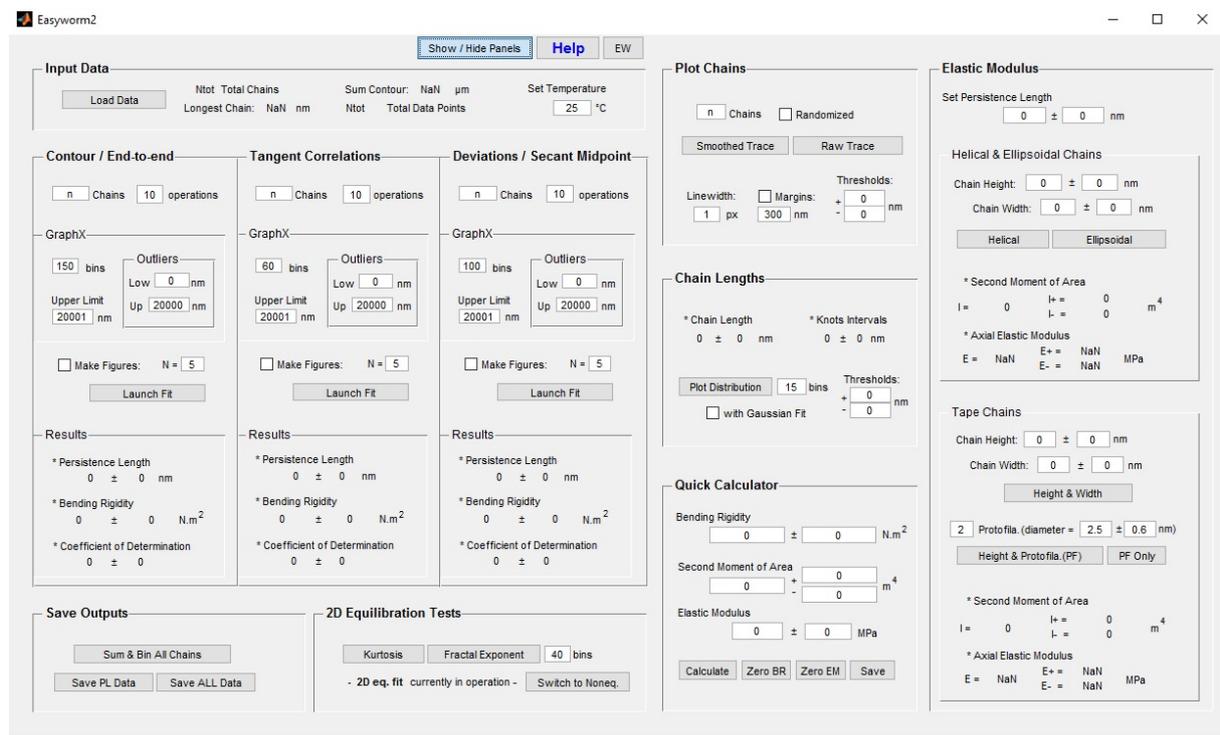


Abbildung 15: Easyworm2 mit allen möglichen Schaltflächen angezeigt

Mit der Schaltfläche *LaunchFit* wird die Auswertung gestartet. Um die Daten speichern zu können, müssen alle drei Fit-Methoden, ein *Kurtosis*-Test durchgeführt werden und die Schaltfläche *Sum&BinAllChains* ausgewählt werden. Mit *SavePLData* werden alle relevanten Daten als .txt-Datei abgespeichert [11].

### 3.7.2 Tangentenkorrelation

Die Tangentenkorrelation ist eine Möglichkeit die Persistenzlänge eines Polymers zu bestimmen. Dabei werden die Winkel zwischen den Tangenten  $\overline{p_n p_{n+1}}$  und  $\overline{p_{n+1} p_{n+2}}$  gemessen und gemittelt werden (Abb. 16), wobei  $p_n$  ein beliebiger Datenpunkt ist. Die Kosinus der Winkel werden dann gemittelt und aus dem Mittel wird die Persistenzlänge errechnet.

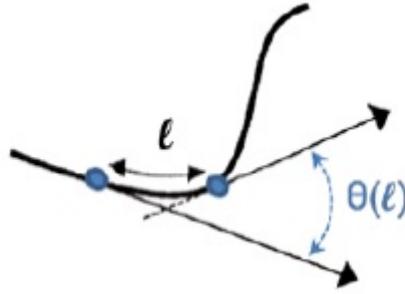


Abbildung 16: Schema der Tangentenkorrelation [11]

Die Formel mit der die Persistenzlänge berechnet wird folgt aus der normierten Verteilung der Winkel

$$\mathcal{P}(\theta(l)) = \sqrt{\frac{P}{a\pi l}} \exp\left(-\frac{P\theta^2}{al}\right) \quad (14)$$

Der Faktor  $a$  ist entweder  $a_{2D} = 2$  für ein Polymer im 2D-equilibrium oder  $a_{3D} = 1.5$  für ein 3D-trapped Polymer. Um den Erwartungswert für  $\cos(\Theta)$  zu bekommen muss

$$\int_{-\infty}^{\infty} \mathcal{P}(\theta(l)) \cos(\Theta) d\Theta = \langle \cos(\Theta) \rangle = \exp\left(-\frac{l}{aP}\right) \quad (15)$$

Hierbei sind  $l$  die Segmentlänge und  $P$  die Persistenzlänge. Per Äquivalenzumformung ergibt sich aus dem hinteren Teil der obigen Gleichung

$$P = \frac{l}{a \ln(\langle \cos(\Theta) \rangle)} \quad (16)$$

Für  $\langle \cos(\Theta) \rangle$  wird der Cosinus vom Mittelwert der gemessenen Winkel eingesetzt um die Persistenzlänge zu berechnen[4, 8, 11].

### 3.7.3 Gwyddion

Zur Analyse der Daten, die durch das AFM aufgenommen wurden, wird das Programm Gwyddion v.2.45 benutzt. Mit dem Programm ist es möglich Wölbungen oder Facetten aus dem Substrat wegzufiltern, Fehlerhafte Pixel zu entfernen oder elektronisches Rauschen herauszufiltern. Die Bearbeitung eines jeden Bildes ist anders und muss dem entsprechend angepasst werden.

## 3.8 Messung am AFM

Die Messungen wurden mit einem Multimode 8 (Burker, USA) AFM, mit der Software Nanoscope (Version 8.15) und Tap300Al-G Cantilever (BudgetSensors, Bulgarien) durchgeführt. Die

Cantilever bestehen aus Silikon, haben eine Federkonstante von  $20 - 75 \frac{N}{m}$  und eine Resonanzfrequenz von  $300 \pm 100 kHz$ . Um das AFM möglichst gut vor äußeren Einflüssen zu schützen, befindet es sich auf einem TS150-Dämpfungstisch (TableStable LTD, Schweiz) in einer Geräuschabschirmung (Park Systems, Südkorea). Der Probenhalter wird mithilfe eines Magneten im AFM befestigt. Zur Maximierung der Signalstärke wird der Laser nun so ausgerichtet, dass möglichst viel von dem Cantilever auf die Photodiode reflektiert wird. Dann wird die Photodiode so ausgerichtet, dass der Laser sie mittig trifft. Für eine makroskopische Annäherung des Cantilevers an die Probe ist in das AFM ein Lichtmikroskop eingebaut, mit dessen Hilfe es möglich ist, den Cantilever bis auf wenige Mikrometer anzunähern. Die mikroskopische Annäherung erfolgt durch den Computer. Als Messmodus wird der *tapping*-Modus verwendet, um die Probe nicht zu stark zu beeinflussen. Die Software hat eine Funktion die automatisch die Resonanzfrequenz der Cantilever zu sucht. Die Messung erfolgt halbautomatisch, d.h. es müssen Parameter wie Scangeschwindigkeit, Scangröße, Abstand des Tips zur Probe und Schwingungsamplitude eingestellt werden. Es ist sinnvoll, sämtliche Bilder in gleicher Größe aufzunehmen, da so der Vergleich leichter fällt.

### 3.9 Datenanalyse

Die Auswertung erfolgt mit dem Programmpaket *Easyworm*. Zuerst werden alle zu analysierenden Stränge mit *Easyworm1* markiert und danach mit *Easyworm2* ausgewertet. Beim Markieren der DNA-Stränge muss darauf geachtet werden, die Struktur des Polymers möglichst genau zu markieren (Abb. 17), da sonst die Ergebnisse verfälscht werden.

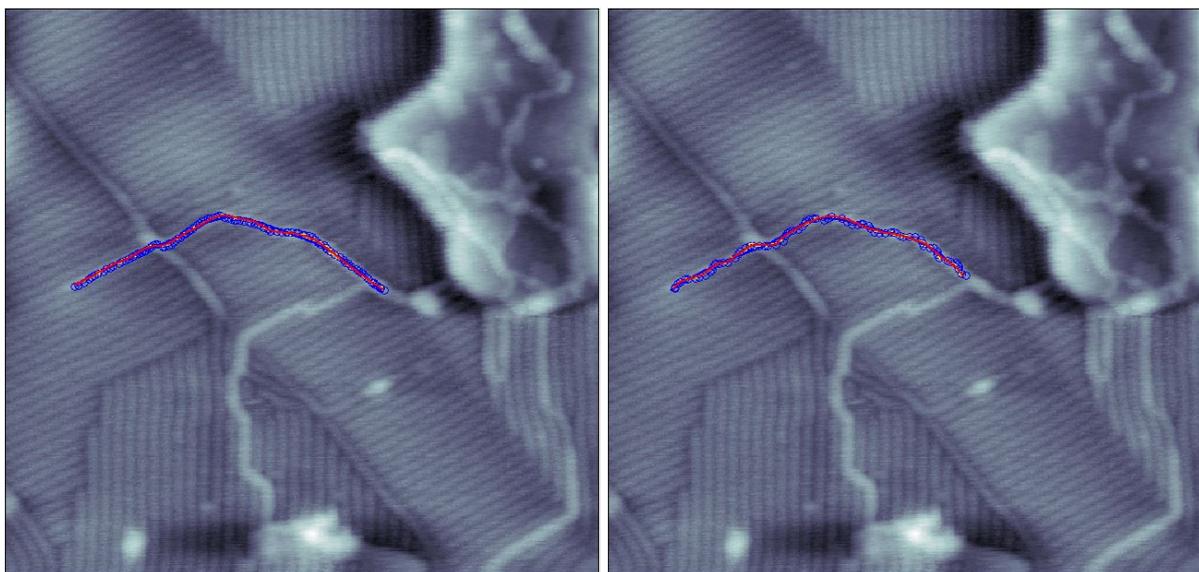


Abbildung 17: **Links:** gut markierter DNA-Strang **Rechts:** schlecht markierter DNA-Strang, zu erkennen an dem kurvigen Verlauf der Markierung, obwohl das Molekül eigentlich gestreckt ist (300nm x 300nm Scan)

Die Datenpunkte dürfen auch nicht zu nah beieinander liegen, da das Programm diese sonst nicht mehr erkennt und nicht auswerten kann. Die gesammelten Daten wurden mit *Easyworm2* ausgewertet, wobei die Parameter unverändert blieben und die Annahme getroffen wurde, dass sich die Stränge im 2D-equilibrium befinden. Die Annahme wird durch den Fakt gestützt, dass sich die Stränge auf dem Bild nicht als Knäuel vorliegen, sondern ausgestreckt sind (Abb. 21).

## 4 Ergebnisse

Wird versucht, eine Monolage ODA auf HOPG zu bringen, kann dies mit zwei verschiedenen Methoden gemacht werden und zwar mithilfe eines Langmuir Trogs oder indem man das HOPG mit einer geringen Menge ODA bedampft.

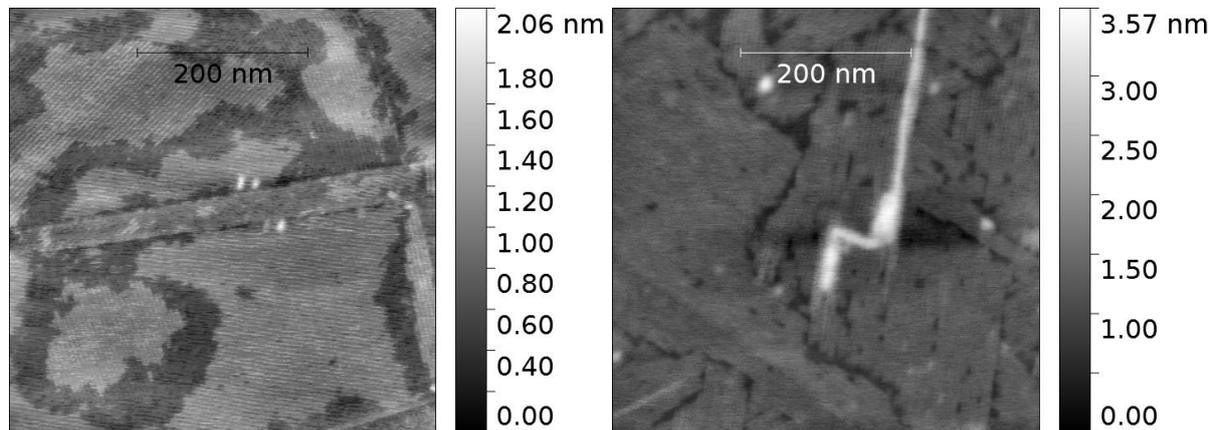


Abbildung 18: AFMscan zweier unterschiedlich präparierter HOPG Substrate. Beide Bilder zeigen Monoschichten von ODA auf HOPG **Links:** Bedampft **Rechts:** Übertrag mit dem Trog

Auf Abb. 18 ist zu erkennen, dass beide Methoden ein ähnliches Ergebnis liefern: eine Domänenstruktur aus ODA. Der Unterschied der Monolagen besteht darin, dass die Größe und Ausprägung der Domänen unterschiedlich ist. Wird das HOPG bedampft, so entstehen vorzugsweise große flächendeckende Domänen, während die mit dem Trog übertragene Monoschicht aus eher kleinen Domänen mit Lücken besteht. Ein Grund dafür könnte sein, dass der Oberflächendruck beim Übertragen zu gering gewählt wurde. Werden die Abstände der Lamellen genauer betrachtet wird ersichtlich, dass diese identisch sind. Die Lamellen haben unabhängig von der verwendeten Methode eine ähnliche Periode. Um diese für das ODA zu ermitteln, wurden mittels Gwyddion 2D-Höhenprofile (Abb. 19) erstellt und die Abstände der Maxima er- und gemittelt. Der Fehler wurde über die Standardabweichung ermittelt.

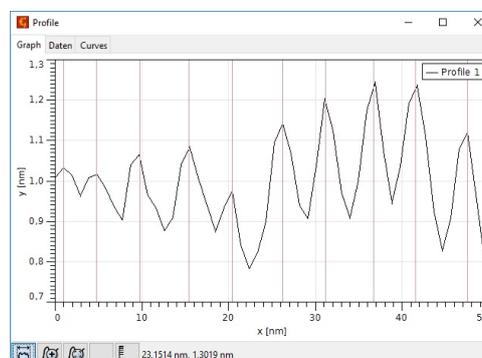


Abbildung 19: Beispiel Höhenprofil der Lamellenstruktur einer ODA Monolage

Die Periodizität der Lamellen ist ähnlich und liegt bei  $5.0 \pm 0.4 \text{ nm}$ . Dieser Wert stimmt gut mit dem Wert von Dubrovin et al[9] überein, der bei  $5.3 \pm 0.5 \text{ nm}$  liegt.

Wird ssDNA auf einem nicht modifiziertem Substrat, z.B. Mica, immobilisiert, so liegt diese als Knäuel vor (Abb. 20). Für Testzwecke wurden  $\lambda$ -DNA-Fragmente verwendet. Da diese normalerweise als Doppelstrang vorliegt, wurde sie für 10 Minuten auf  $80^\circ$  erhitzt um diesen zu denaturieren. Da auf Abb. 20 nicht alle Stränge vollständig dissoziiert sind, ist der Unterschied sofort zu erkennen (Abb. 20, grüner Pfeil).

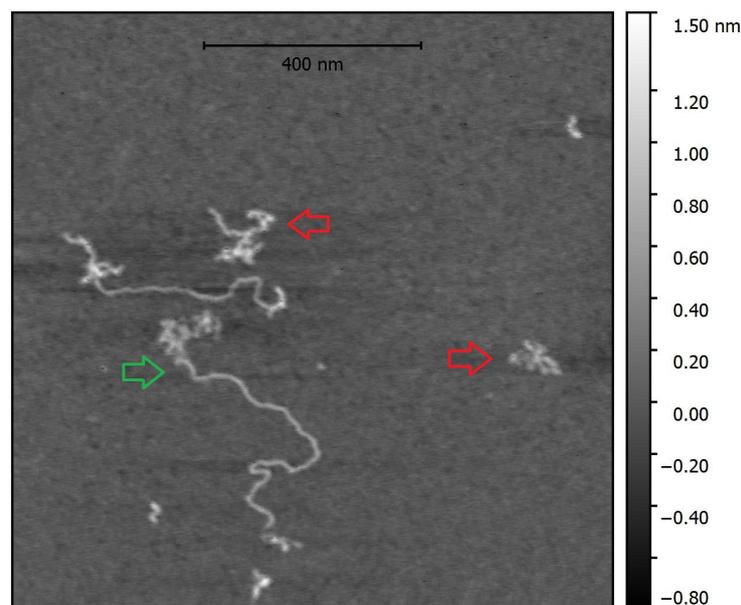


Abbildung 20: Mischung aus einzel- und doppelsträngiger  $\lambda$ -DNA, die Einzelstränge liegen in einem Knäuel vor

Die Einzelstränge (Abb. 20, rote Pfeile) sind verknäuel, weil komplementäre Basen innerhalb des Stranges gepaart sind, demzufolge ist der Verlauf des Polymers praktisch nicht nachzuvollziehen, daher ist es unmöglich die Stränge im Rahmen des WLC-Modells zu analysieren. Häufig sind nicht einmal beide Enden eines Stranges zu erkennen. Mit der Präparation auf modifiziertem ODA wird die DNA jedoch gestreckt und ist der Analyse zugänglich. Abb. 21 ist gut zu erkennen, wie die Stränge gestreckt sind. Die haben ein erkennbare Enden und überschneiden sich nicht. Die Stränge binden vorzugsweise an und entlang der Kopfgruppen der ODA-Moleküle und befinden sich, angedeutet durch die Streckung, im 2D-equilibrium (Kap. 3.6).

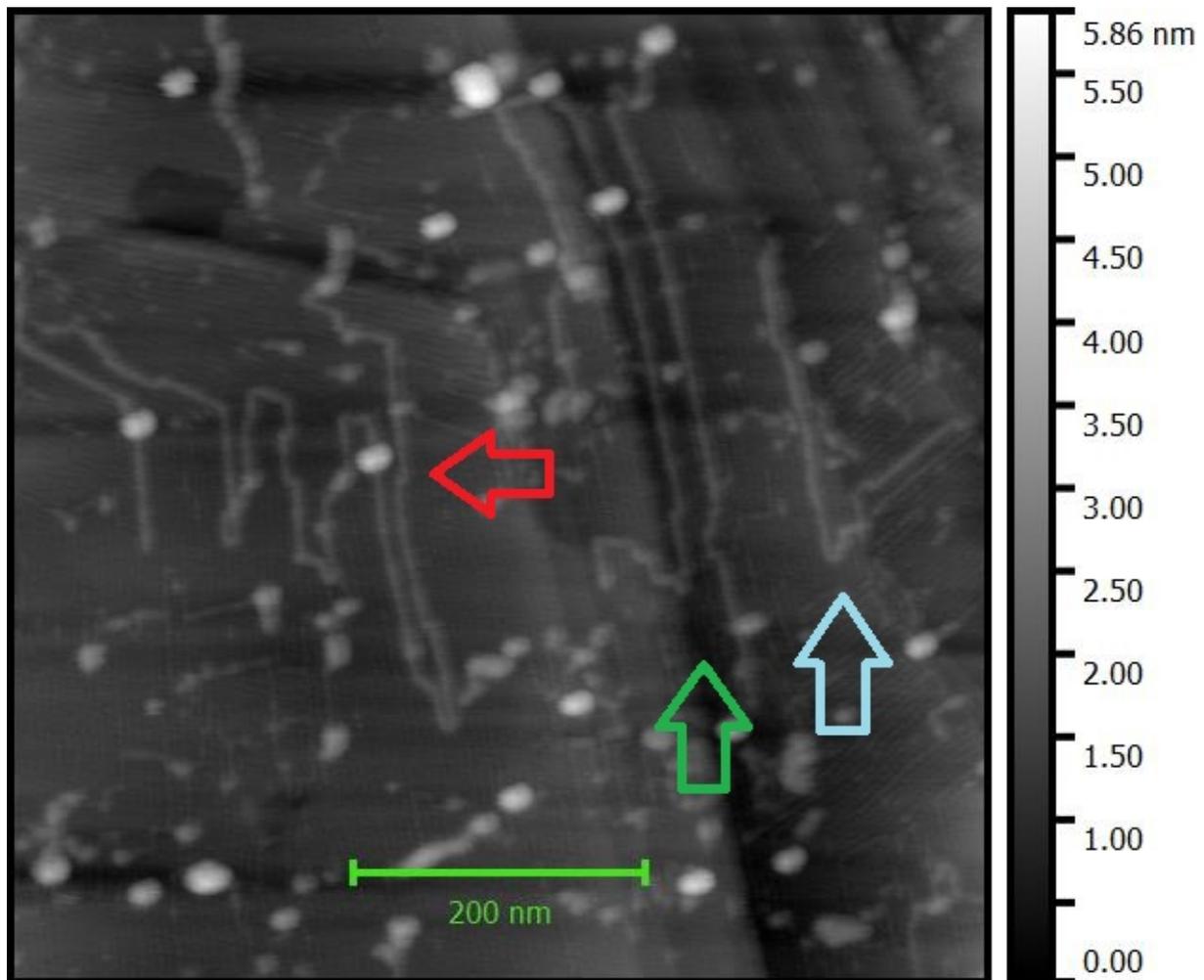


Abbildung 21: Beispielhafter AFMscar, welche zur Auswertung benutzt wurde. Auf der rechten Seite sind drei gestreckte Stränge zu erkennen und auf der linken Seite ein weniger gesteckter Strang.

Auf Abb. 21 sind insgesamt vier Stränge vollständig zu erkennen, auf der linken Seite ein langer gewundener Strang (roter Pfeil), dann zwei weniger gewundene Stränge (grüner Pfeil) und ganz rechts ein wahrscheinlich beschädigter Strang (blauer Pfeil). An den beiden weniger gewundenen Strängen ist gut zu erkennen, dass diese zwar gestreckt sind, aber am Ende einen scharfen Knick haben. Die weißen Punkte sind wahrscheinlich für die Monolage überschüssiges ODA, welches sich, als sich der Tropfen DNA-Lösung auf dem HOPG befand, zu eben diesen angeordnet hat. Die Anordnung findet aufgrund der hydrophoben Wechselwirkungen der Kohlenstoff-Schwänze der Moleküle statt [9]. Ausgewertet wurden 31 DNA-Stränge mit einer Gesamtlänge von  $14,3\mu\text{m}$ . Der Verteilungsspek der Konturlänge lag bei  $340 \pm 60\text{nm}$ , wobei der große Fehler durch ein paar Stränge zu erklären ist, die viel länger oder kürzer waren. Die extrem langen Stränge, können dadurch erklärt werden, dass sich zufällig zwei Stränge hintereinander gelegt haben und die kürzeren dadurch, dass eventuell Stränge beschädigt wurden. Die maximale Konturlänge beträgt  $1413\text{nm}$  (Abb. 22) was innerhalb der Fehlergrenzen

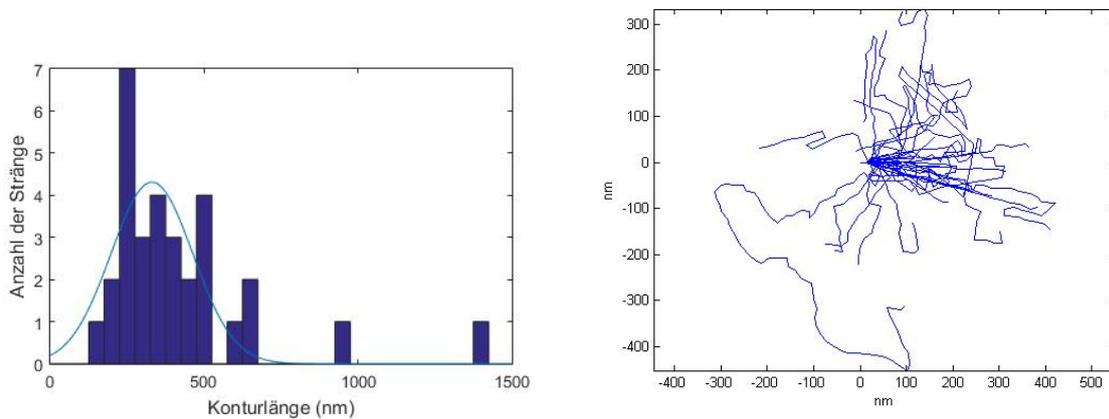


Abbildung 22: **Links:** Verteilung der Konturlängen der einzelnen Stränge **Rechts:** Alle markierten Stränge

für zwei hintereinander liegende Stränge liegt  $922 \pm 512 \text{ nm}$ . Für die Persistenzlänge ergaben sich  $46 \pm 6 \text{ nm}$ , was in etwa der Persistenzlänge doppelsträngiger DNA  $60 \pm 10 \text{ nm}$  (Abhängig von der Messmethode[12]) entspricht. Das bedeutet, dass die einzelsträngige DNA nicht mehr als Knäuel vorliegt und somit für andere Verwendungen wie das Manipulieren der Anordnung auf der Oberfläche, zur Verfügung steht. Wichtig ist, dass es sich dabei nicht um die tatsächliche Persistenzlänge ( $2.2 \text{ nm}$ )[5] der ssDNA handelt sondern um einen Wert der darstellen soll, dass diese ausgestreckt ist. Durch die 2D-equilibrium-Immobilisierung entspricht die ermittelte scheinbare Persistenzlänge nicht der Persistenzlänge in Lösung oder bei Immobilisierung mittels 3D-trapping.

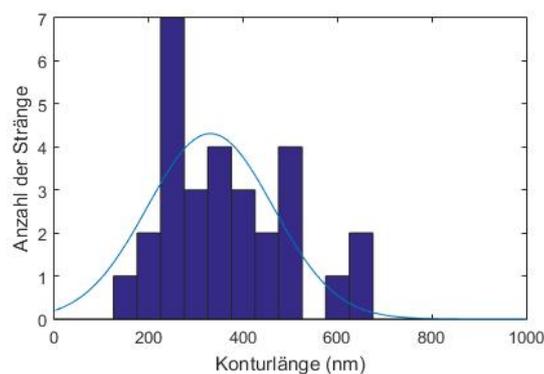


Abbildung 23: Verteilung der Konturlänge ohne die extrem langen Stränge

Eine Auswertung, ohne die extrem langen Stränge (Abb. 23), ergibt eine Gesamtlänge von  $10.7 \mu\text{m}$  mit einem Verteilungsspeak der Konturlänge von  $330 \pm 50 \text{ nm}$ , einem Maximum von  $675 \text{ nm}$  und einer Persistenzlänge von  $58 \pm 20 \text{ nm}$ . Durch das Aussortieren der langen Stränge, sind sowohl der absolute (von  $60 \text{ nm}$  auf  $40 \text{ nm}$ ) als auch die breite der Verteilung (von 17% auf 12%) geringer geworden. Die Länge des längsten Strangs ( $675 \text{ nm}$ ) stützt die Annahme, dass

die extrem langen Stränge zwei hintereinander Liegende sind, da diese ungefähr die doppelte Länge haben. Bei der Persistenzlänge haben sich Wert und Fehler jedoch vergrößert, liegen trotzdem näher am Literaturwert von  $60 \pm 10nm$  [12].

Werden beim Auswerten nur besonders grade Stränge beachtet, muss die Persistenzlänge nach oben korrigiert werden. Es ergeben sich  $356 \pm 110nm$ . Der Fehler ist hier prozentual und auch absolut größer, da einerseits weniger Stränge ausgewertet werden könnten, andererseits die Verteilung der Tangentenwinkel anders ist. Die meisten dieser Stränge haben ein oder zwei sehr scharfe Knicke, dadurch gibt es viele kleine und ein paar sehr große Winkel, die die Verteilung vergrößern. Der Grund dafür kann sein, dass es insgesamt weniger DNA-Stränge ausgewertet werden. Die hohe scheinbare Persistenzlänge zeigt, dass die ssDNA nicht mehr in ihrem nativen lokal aufgefaltetem Zustand befindet, sondern entlang der Struktur des ODA gestreckt wird. Nur die scharfen Knicke in den Polymeren lassen erahnen, dass native ssDNA eine sehr viel kleinere Persistenzlänge hat.

## 5 Fazit

In dieser Arbeit wurde eine Monoschicht ODA auf ein HOPG Substrat gebracht, auf der daraufhin ssDNA immobilisiert und mit dem AFM analysiert wurde. Der Versuch war erfolgreich, sowohl das aufdampfen/übertragen der Monoschicht ODA als auch das immobilisieren und analysieren der DNA. Die Herausforderung war, beim Bedampfen die passende Menge ODA abzuwiegen um eine Monoschicht herzustellen, da selbst bei  $10\mu\text{g}$  zu viel, die aufgedampfte Schicht keine Monolage mehr war. Die beiden beschriebenen Methoden zum modifizieren des HOPG mit ODA haben sowohl vor als auch Nachteile. Die Herstellung der Monoschicht mithilfe des Trogs ist zuverlässiger, dauert jedoch etwa zwei Stunden. Das Bedampfen hingegen dauert nur einige Sekunden, hängt vom Fehler beim abwiegen und der Bedampfungszeit ab. Die Qualität bei erfolgreicher Herstellung einer Monoschicht ist bei beiden Methoden ungefähr gleich. Das Verdünnen, Immobilisieren und analysieren der DNA stellte kein Problem dar. Das Immobilisieren von ssDNA auf einem Substrat eröffnet neue Möglichkeiten der Analyse, da sie gestreckt werden kann. Dadurch wäre es theoretisch möglich, Bindungen zwischen den Basen der DNA und anderen Molekülen zu untersuchen oder evtl. DNA-Origami zu entfalten. Denkbar wäre auch, Strukturen mithilfe von ssDNA auf eine modifizierte Oberfläche zu bringen.

## 6 Literatur

### Literatur

- [1] S. Alexander, L. Hellemans, O. Marti, J. Schneir, V. Elings, P. K. Hansma, Matt Longmire, and John Gurley. An atomic-resolution atomic-force microscope implemented using an optical lever. *Journal of Applied Physics*, 1989, 65, 1, 164, 1989.
- [2] Kannan Balasubramanian and Marko Burghard. Chemie des graphens. *Chemie in unserer Zeit*, 2011, 45, 4, 240, 2011.
- [3] Dawn A. [Hrsg.] Bonnell, editor. *Scanning probe microscopy and spectroscopy*. Wiley-VCH, New York, NY [u.a.], 2. ed. edition, 2001.
- [4] Rivetti C, Guthold M, and Bustamante C. Scanning force microscopy of dna deposited on-to mica: equilibration versus kinetic trapping studied by statistical polymer chain analysis. *Journal Of Molecular Biology*, 1996, 264, 5, 919, 1996.
- [5] Qingjia Chi, Guixue Wang, and Jiahuan Jiang. The persistence length and length per base of single-stranded dna obtained from fluorescence correlation spectroscopy measurements using mean field theory. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*, 2013, 392, 5, 1072, 2013.
- [6] DaMaRIS. n-octadecylamin, 2016.
- [7] Masao Doi and Sam F. Edwards. *The theory of polymer dynamics*, volume 73 of *The international series of monographs on physics ; 73*. Clarendon Pr., Oxford, reprint. edition, 2007.
- [8] EV Dubrovin, S Speller, and IV Yaminsky. Statistical analysis of molecular nanotemplate driven dna adsorption on graphite. *LANGMUIR*, 2014, 30, 51, 15423, 2014.
- [9] Evgeniy V. Dubrovin, Jan W. Gerritsen, Jelena Zivkovic, Igor V. Yaminsky, and Sylvia Speller. The effect of underlying octadecylamine monolayer on the dna conformation on the graphite surface. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2010, 76, 1, 63, 2010.
- [10] Binnig G, Quate CF, and Gerber C. Atomic force microscope. *Physical Review Letters*, 1986, 56, 9, 930, 1986.
- [11] Lamour G, Kirkegaard JB, Li H, Knowles TP, and Gsponer J. Easyworm: an open-source software tool to determine the mechanical properties of worm-like chains. *Source Code For Biology And Medicine*, 2014, 9, 16, 2014.

- [12] John B Hays, Magar E Magar, and Bruno H Zimm. Persistence length of dna. *Biopolymers*, 8(4):531–536, 1969.
- [13] J. N. Israelachvili and D. Tabor. The measurement of van der waals dispersion forces in the range 1.5 to 130 nm. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences*, 1972, 331, 1584, 19, 1972.
- [14] Wilfried Janning and Elisabeth Knust. *Genetik*. Thieme, Stuttgart [u.a.], 2., vollst. überarb. und erw. aufl. edition, 2008.
- [15] Benjamin Kick, Florian Praetorius, Hendrik Dietz, and Dirk Weuster-Botz. Efficient production of single-stranded phage dna as scaffolds for dna origami. 2015-06-01.
- [16] D Klinov, B Dwir, E Kapon, N Borovok, T Molotsky, and A Kotlyar. High-resolution atomic force microscopy of duplex and triplex dna molecules. *NANOTECHNOLOGY*, 2007, 18, 22, 2007.
- [17] M. D. Lechner. *Makromolekulare Chemie*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 5. aufl. 2014 edition, 2014.
- [18] S.N. Magonov. Surface characterization of materials at ambient conditions by scanning tunneling microscopy (stm) and atomic force microscopy (afm). *Applied spectroscopy reviews*, 1993, 28, 1-2, 1, 1993.
- [19] Rathgeber S. Chapter 3: Chain models, 2014.
- [20] UD SCHWARZ, H HAETKE, T JUNG, E MEYER, HJ GUNTHERODT, R STEIGER, and J BOHONEK. Atomic force microscopy study of tabular agbr microcrystals (t-grains) (journal of imaging science and technology, vol 36, pg 361, 1992). *JOURNAL OF IMAGING SCIENCE AND TECHNOLOGY*, 1992, 36, 6, R5, 1992.
- [21] M Severin, J Barner, AA Kalachev, and JP Rabe. Manipulation and overstretching of genes on solid substrates. *NANO LETTERS*, 2004, 4, 4, 577, 2004.

## 7 Danksagungen

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Personen bedanken, ohne die ich es nicht geschafft hätte diese Arbeit zu vollenden.

Als erstes möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Dario Anselmetti dafür bedanken, dass er mit die Arbeit in der Arbeitsgruppe ermöglicht hat und das Erstgutachten erstellt hat.

Herrn Dr. Volker Walhorn danke ich für die exzellente Betreuung, Einführung in die Bedienung eines Rasterkraftmikroskops und das Korrekturlesen meiner Arbeit.

Bei Herrn Dipl. Phys. Roland Hillmann bedanke ich mich für die Einführung und die Hilfestellung am Langmuir-Blodgett-Trog.

Herrn M.Sc Sören Grannemann danke ich für die Tipps und Hinweise zum anfertigen einer Arbeit.

Meinen Bürokollegen Herrn Dipl. Phys. Niklas Biere und Herrn M.Sc. Alexander Beel danke ich für die Hilfe bei Fragen und Unklarheiten.