

- Macromolecules* **1993**, *26*, 6536–6546; c) J. M. J. Fréchet, I. Gitsov, *Macromol. Symp.* **1995**, *98*, 441–465.
- [11] a) J. C. M. van Hest, D. A. P. Delnoye, M. W. P. L. Baars, M. H. P. van Genderen, E. W. Meijer, *Science* **1995**, *268*, 1592–1595; b) J. C. M. van Hest, M. W. P. L. Baars, R. C. Elissenroman, M. H. P. van Genderen, E. W. Meijer, *Macromolecules* **1995**, *28*, 6689–6691.
- [12] T. M. Chapman, G. L. Hillyer, E. J. Mahan, K. A. Shaffer, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 11195–11196.
- [13] C. J. Hawker, J. M. J. Fréchet, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 7638–7647.
- [14] S. C. Zimmerman, F. W. Zeng, D. E. C. Reichert, S. V. Kolotuchin, *Science* **1996**, *271*, 1095–1098.
- [15] a) V. S. K. Balagurusamy, G. Ungar, V. Percec, G. Johansson, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 1539–1555; b) S. D. Hudson, H.-T. Jung, V. Percec, W. D. Cho, G. Johansson, G. Ungar, V. S. K. Balagurusamy, *Science* **1997**, *278*, 449–452.
- [16] a) D. A. Tomalia, P. M. Kirchhoff, Dow Chemical Co., US-Patent 834993, **1987** [*Chem. Abstr.* **1988**, *108*, 56832]; b) R. Yin, Y. Zhu, D. A. Tomalia, H. Ibuki, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 2678–2679.
- [17] a) R. Freudenberger, W. Claussen, A. D. Schlüter, H. Wallmeier, *Polymer* **1994**, *35*, 4496–4501; b) B. Karakaya, W. Claussen, A. Schäfer, A. Lehmann, A. D. Schlüter, *Acta Polym.* **1996**, *47*, 79–84; c) B. Karakaya, W. Claussen, K. Gessler, W. Saenger, A. D. Schlüter, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 3296–3301.
- [18] C. J. Hawker, J. M. J. Fréchet, *Polymer* **1992**, *33*, 1507–1513.
- [19] *Chemistry and Industry of Macromonomers* (Hrsg.: Y. Yamashita), Hüthig & Wepf, Basel, **1993**.
- [20] a) G. Draheim, H. Ritter, *Macromol. Chem. Phys.* **1995**, *196*, 2211–2222; b) Y. M. Chen, C.-F. Chen, Y.-F. Liu, Y. F. Li, F. Xi, *Macromol. Rapid Commun.* **1996**, *17*, 401–407; c) I. Neubert, R. Klopsch, W. Claussen, A. D. Schlüter, *Acta Polym.* **1996**, *47*, 455–459.
- [21] V. Percec, C.-H. Ahn, B. Barboiu, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 12978–12979.
- [22] a) Y. Tsukahara, Y. Tsutsumi, Y. Yamashita, S. Shimada, *Macromolecules* **1990**, *23*, 5201–5208; b) M. Wintermantel, M. Gerle, K. Fischer, M. Schmidt, I. Wataoka, H. Urakawa, K. Kajiwara, Y. Tsukahara, *Macromolecules* **1996**, *29*, 978–983; c) S. S. Sheiko, M. Gerle, K. Fischer, M. Schmidt, M. Möller, *Langmuir* **1997**, *13*, 5368–5372; d) P. Dziezok, S. S. Sheiko, K. Fischer, M. Schmidt, M. Möller, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 2894–2897; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 2812–2815.
- [23] V. Percec, C.-H. Ahn, G. Ungar, D. J. P. Yeadley, M. Möller, S. S. Sheiko, *Nature* **1998**, *391*, 161–164.
- [24] S. A. Prokhorova, S. S. Sheiko, M. Möller, C.-H. Ahn, V. Percec, *Macromol. Rapid Commun.* **1998**, im Druck.
- [25] W. Stocker, B. L. Schürmann, J. P. Rabe, S. Förster, P. Lindner, I. Neubert, A. D. Schlüter, *Adv. Mater.* **1998**, im Druck.
- [26] V. Percec, Makromolekulares Kolloquium Freiburg, **1998**.
- [27] A. D. Schlüter, *Top. Curr. Chem.* **1998**, im Druck.

Strecken, Auseinanderreißen und Trennen einzelner DNA-Moleküle**

Bruno Samorì*

Früher brauchten Chemiker für ihre Experimente Mengen an Molekülen, die im Bereich der Avogadro-Zahl liegen; die gemessenen Eigenschaftenmittelten sie über die Gesamtheit dieser Moleküle und die ihnen zugänglichen Konformationen. Nun hat sich eine neue, aufregende Dimension aufgetan: Ein einzelnes Molekül kann gleichzeitig berührt und beobachtet werden. Durch anschließendes Zerteilen oder mechanische Manipulationen wird das Molekül dazu gebracht, neue Konformationen oder Zustände einzunehmen, die sonst nur schwer erreichbar sind.

Experimente mit großen Substanzmengen haben gezeigt, daß DNA von der nativen B-Form in die A- und Z-Formen übergehen kann. Das Repertoire der Strukturänderungen, welche die Doppelhelix vollziehen kann, ist aber viel umfangreicher. Zum Beispiel wird die DNA während der Rekombination durch das Protein RecA über ihre normale Konturlänge hinausgedehnt. Während der Transkription wird die DNA von der RNA-Polymerase lokal entwunden und die

Einzelstränge auseinandergezogen. Topoisomerasen entwinden die DNA und zwingen die DNA-Kette, sich unter Bildung einer Superhelix um sich selbst zu wickeln wie ein Telefonkabel, wenn man den Hörer verdreht. Durch eine beträchtliche Zahl an Experimenten, die in den letzten Jahren in verschiedenen Laboratorien durchgeführt wurden, konnten alle diese Strukturmodifikationen an Einzelmolekülen reproduziert und untersucht werden. Alle Untersuchungen folgten auf die Pionierarbeit von Bustamante und Mitarbeitern, die Kraft-Dehnungs-Messungen an DNA-Einzelmolekülen durchführten.^[1] Dabei wurde das DNA-Molekül an einem Ende auf einem Objektträger und am anderen Ende an einem Magnetkügelchen befestigt und die Kräfte gemessen, die zur Streckung der Polymerkette erforderlich waren. Um ein einzelnes DNA-Dimer des Bakteriophagen λ (97 kb) fast bis auf seine Konturlänge zu dehnen, waren Kräfte von 5 pN erforderlich. Dieses Experiment ist bis heute der genaueste Test für die Entropieelastizität eines Polymers und zeigt die Grenzen des Freely-jointed-chain(FJC)- im Vergleich zum Worm-like-chain(WLC)-Modell für ein Polymer wie DNA. Während das erste Modell die DNA als eine Kette aus über drehbare Gelenke miteinander verbundenen starren Stäben betrachtet, behandelt das zweite die DNA als einen einheitlichen elastischen Stab und beschreibt ihren Verlauf durch eine kontinuierliche Kurve.^[2]

Bei Folgeexperimenten, in denen an der DNA mit einer Kraft von mehr als 10 pN gezogen wurde, wurden optische Pinzetten (OP) und biegsame Mikronadeln (BM) als Kraft-

[*] Prof. Bruno Samorì
Dipartimento di Biochimica, Università di Bologna
via Irnerio 48, I-40126 Bologna (Italien)
Fax: (+39) 51-354387
E-mail: samori@alma.unibo.it

[**] Ich danke C. Bustamante, S. Smith, E. Evans, G. V. Shivashankar, G. Lee und K. Schulten sowie meinen Studenten I. Jacoboni und G. Zuccheri für hilfreiche Diskussionen und Anmerkungen zu diesem Manuskript. Für ihre finanzielle Unterstützung danke ich dem MURST (Programma Biologia Strutturale, 1997) und dem CNR (Comitato Biotec. e Biol. Mol., 5%).

sensoren verwendet. Diese werden aus Glasfasern hergestellt, die durch Ausziehen unter Erhitzen auf eine mikroskopische Größe gebracht werden können. Im Unterschied zur bei geringen Kräften vorherrschenden Entropieelastizität hat die bei mittleren Kräften auftretende intrinsische Elastizität ihren Ursprung in der Enthalpie, die mit dem Strecken des Moleküls und der damit verbundenen Spannung der kovalenten Bindungen und der graduellen Deformierung der Doppelhelix in Zusammenhang steht. Die Arbeitsgruppen von Bustamante und Caron fanden unabhängig voneinander, daß die DNA durch Anwendung von Kräften im Bereich von 20–50 pN auf eine Länge jenseits ihrer natürlichen Größe gestreckt werden kann. Überraschenderweise gab die DNA abrupt nach, wenn die Kraft auf über 70 pN anstieg, und ließ sich auf fast das Doppelte ihrer ursprünglichen Länge ausdehnen: Sie vollzog eine deutliche und reversible Umwandlung zu einer neuartigen Form von gestreckter DNA.^[3, 4]

Am Schluß ihrer Veröffentlichung über die Entropieelastizität der DNA^[1] weisen Smith et al. auf eine weitere Möglichkeit zur Manipulation der an ein Magnetkügelchen gebundenen DNA hin. Mit einem rotierenden Magnetfeld sollte es möglich sein, ein DNA-Molekül gleichzeitig zu verdrehen und zu dehnen. Durch das Drehen des Kügelchens wird das Molekül entweder stärker verdrillt oder entschraubt und so zur Bildung einer Superhelix gezwungen. Das Experiment wurde einige Jahre später von Strick et al. durchgeführt.^[5] Bei einer geringen Spannung (ca. 5 pN) konnte das Aufwinden der Kette verhindert werden, indem Defizite bei der Verwindungszahl (linking number) in Defizite bei der Zahl der Windungen der Watson-Crick-Helix (twisting number) umgewandelt werden und dadurch aufgeschmolzene Bereiche entstehen. Das ist ein für das Verständnis der Transkription sehr wichtiges Ergebnis. Während die RNA-Polymerase (RNAP) den DNA-Strang entlangläuft, überdreht sie die vor ihr liegende DNA und entspiralisiert die hinter ihr liegende DNA.^[6] Guptasarma hat vorgeschlagen, daß sich die Stränge der entspiralisierten DNA hinter der gebundenen RNAP trennen können und so neue Transkriptionsblasen gebildet werden.^[7] Zusammen mit den Befunden von Yin et al.,^[8] daß RNAP eine Kraft von bis zu 14 pN auf ein DNA-Molekül ausüben kann, zeigt das Experiment von Strick et al.,^[5] wie diese Blasen entstehen könnten.

Die jüngsten Kraft-Dehnungs-Messungen im Bereich der intrinsischen DNA-Elastizität und des Überdehnens wurden von Shivashankar und Libchaber mit der Kraftmikroskopie (scanning force microscopy, SFM) durchgeführt.^[9] Das eine Ende eines linearen λ -DNA-Moleküls wurde über einen Biotin-Streptavidin-Linker auf einem Glasplättchen, das andere Ende über denselben Linker an einem Latexkügelchen von 3.2 μm Durchmesser fixiert. Das mit der DNA verbundene Kügelchen wurde mit einer optischen Pinzette an einem SFM-Hebelarm angebracht. Indem man das Kügelchen vom Glasplättchen wegzog, wurde das DNA-Molekül gedehnt. Die Kräfte, die über die Auslenkung des Hebelarms gemessen wurden, stimmten grundsätzlich mit denen überein, die andere Forschungsgruppen unter Verwendung optischer Werkzeuge bestimmt hatten.^[3, 4] Diese Übereinstimmung könnte Zweifel an der Zuverlässigkeit solcher Messungen aufkommen lassen, da, wie wir noch sehen werden, die

Experimente bei Anwendung unterschiedlicher Manipulationsmethoden über unterschiedliche Energiepfade verlaufen sollten. Aber die Zweifel verschwinden, wenn wir die Daten in Bezug auf die zeitliche Kraftänderung analysieren (siehe unten und Lit.[17]).

Kürzlich wurde DNA einer viel größeren „Tortur“ ausgesetzt. Essevaz-Roulet et al. öffneten ein einzelnes λ -DNA-Molekül, indem sie die komplementären Strände auseinanderzogen wie die beiden Seiten eines Reißverschlusses.^[10] An einem Ende des doppelsträngigen DNA-Moleküls wurde ein Strang an einem Objekträger und der andere an einem Kügelchen befestigt. Das andere Ende des Moleküls wurde durch ein Oligonukleotid blockiert, das in einer Haarnadel-Konformation bindet (Abb. 1a), um die vollständige Tren-

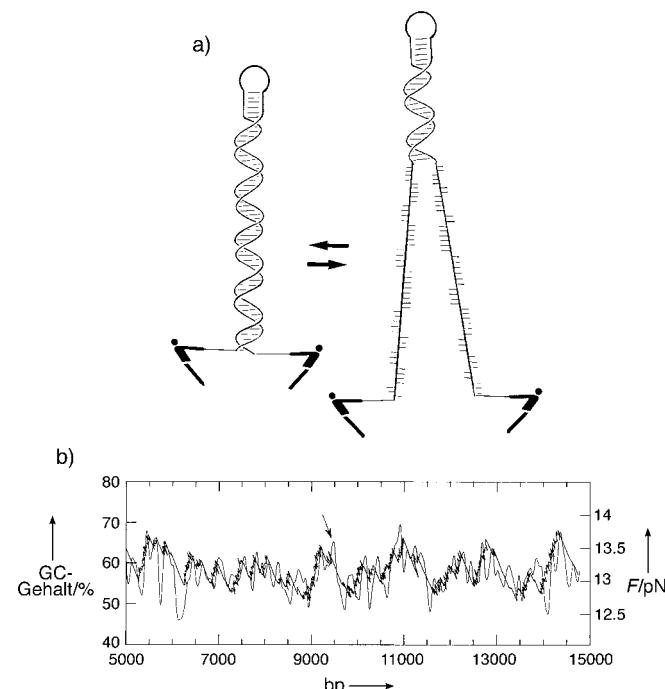


Abb. 1. a) Cartoon-Darstellung des Experiments von Essevaz-Roulet et al.,^[10] bei dem die beiden Strände eines einzelnen λ -DNA-Moleküls (48.5 kb) wie ein Reißverschluß auseinandergezogen werden. b) Vergleich zwischen dem durchschnittlichen GC-Gehalt [%] eines Segments im Abschnitt zwischen 5000 und 15000 bp der λ -DNA-Sequenz (glatte Kurve) und der Kraft F , die zum gerichteten Aufschmelzen dieses Segments erforderlich war („gezackte“ Kurve). Der GC-Gehalt wurde über Segmente von 100 Basen gemittelt. (Mit freundlicher Genehmigung übernommen aus Lit.[10], Copyright (1997) National Academy of Sciences, U.S.A.)

nung der beiden Strände zu verhindern, wenn der Öffnungsprozeß beendet ist. So kann ein Kreislauf aus Auf trennen und Zusammenlagern des Doppelstrangs in Gang gesetzt werden. Die mechanischen Kräfte, die zur Trennung der beiden Strände erforderlich waren, lagen im Bereich von 10 bis 15 pN pro Basenpaar. Abbildung 1b gibt die Schwankungen der Größe der Kräfte wieder, die zum gerichteten Aufschmelzen der Doppelhelix erforderlich waren, und zeigt, daß diese mit dem GC- und AT-Anteil der DNA zusammenhängen. Die Spitzenwerte entsprechen einem höheren GC-Anteil in der DNA-Sequenz, durch den die Strangtrennung vorübergehend blockiert wird, bis die Kraft einen Wert

erreicht, bei dem das Aufbrechen des folgenden Kettensegments schnell erfolgt. Während der gesamten Strangtrennung erfolgte ein solches Ereignis etwa alle 500 Basen. Diese Auflösung ist wahrscheinlich immer noch zu gering, um aus mechanischen Messungen grobe Sequenzinformationen über lange DNA-Stücke zu erhalten, die enzymatische Sequenzierungsmethoden ergänzen und unterstützen könnten, wie es von den Autoren vorgeschlagen wurde.

Eine viel höhere Sequenzauflösung wurde in einem ähnlichen Experiment erreicht, das von Lee et al. mit der SFM durchgeführt wurde.^[11] Sie verknüpften das eine Ende eines einzelsträngigen 20mer-Oligonucleotids mit einem Kugelchen, das an einem SFM-Hebelarm befestigt war. Das Kugelchen wurde mit einer Oberfläche in Kontakt gebracht, an der ein komplementäres einzelsträngiges Oligonucleotid befestigt war, so daß sich die beiden Einzelstränge zusammenlagern konnten. Durch Wegziehen des Kugelchens wurden die beiden 20mer-Stränge mit einem Mal voneinander getrennt: Die erforderliche Kraft lag in der Größenordnung von 1000 pN, also ungefähr 50 pN pro Basenpaar. Dieser Wert ist viel größer als die von Essevaz-Roulet für das Aufbrechen von Basenpaaren ermittelte Kraft.^[10] Der Unterschied könnte in der unterschiedlichen Anordnung der Ziehvorrichtungen liegen, es könnte aber auch andere Erklärungen dafür geben. Steve Smith hat den Vorschlag gemacht, daß das Molekül in Lees Experiment bei 70 pN in eine gestreckte Form übergeht^[3, 4] und dann von den Enden her aufschmilzt. Dieser Prozeß kann zu lange dauern, so daß eine größere Kraft aufgewendet werden muß (siehe unten). Dagegen wäre es auch möglich, daß der gemessene Wert der Kraft entspricht, die zum Aufbrechen doppelsträngiger DNA erforderlich ist. Bensimon et al. haben einen Wert von ungefähr 470 pN für diese Kraft geschätzt.^[12]

Die Kräfte zum Aufbrechen von Basenpaaren wurden in einem anderen SFM-Experiment von Boland et al. gemessen.^[13] Selbstaggregierende Monoschichten aus Purinen und Pyrimidinen wurden auf goldbeschichtete Oberflächen und goldbeschichtete SFM-Spitzen aufgebracht. Die Kräfte zum Aufbrechen der gerichteten Wasserstoffbrückenbindungen zwischen zwei einzelnen komplementären und nichtkomplementären Basen wurden gemessen. Für ein einzelnes AT-Basenpaar wurde eine Trennkraft von 54 pN ermittelt: Auch hier ist der mit der SFM-Methode erhaltene Wert viel größer als der mit der BM-Methode ermittelte.^[10] Man kann sich einen weiteren Grund für die höheren Werte vorstellen. Die SFM-Methode wurde zur Erstellung von Oberflächenprofilen mit einer sehr hohen vertikalen Auflösung entwickelt. Bei Manipulationsexperimenten ist daher die Ausdehnungsgenauigkeit sehr groß, wodurch viel kürzere DNA-Moleküle als mit dem OT- oder dem BM-Verfahren untersucht werden können. Das ist zwar ein großer Vorteil, aber gleichzeitig kann dabei der Abstand so klein werden, daß auch unspezifische Wechselwirkungen zwischen der SFM-Spitze und der Oberfläche, die das andere Ende des Moleküls festhält, auftreten. Solche Wechselwirkungen können dazu beitragen, daß die gemessenen Kräfte in den SFM-Experimenten größer sind.

Das allgemeine Prinzip von allen oben beschriebenen Experimenten besteht darin, nichtkovalente Wechselwirkun-

gen aufzubrechen. Durch äußere Kraftanwendung wird die Aktivierungsenergie so weit wie nötig erniedrigt, um ein im Zeitrahmen des Experiments sonst unwahrscheinliches Ereignis auszulösen.^[14-16] Auch bei diesen Experimenten wird die Energiebarriere vermutlich durch eine thermische Aktivierung überwunden. Dies kann unter den folgenden Voraussetzungen eintreten: 1) Die ausgeübte Kraft ist nicht groß genug, um die Aktivierungsbarriere zu überwinden; 2) das Auseinanderziehen erfolgt so langsam, daß das Molekül in einer für einen thermisch aktivierten Prozeß ausreichenden Zeit immer noch an der Energiebarriere thermisch fluktuieren kann. Das Ausmaß der thermischen Fluktuationen innerhalb des Potentialtopfs wird durch die „Steifheit“ des Werkzeugs bestimmt, mit dem die äußere Kraft ausgeübt wird. Die zeitliche Kraftänderung, wie sie von Evans und Ritchies definiert wurde,^[14] ist somit der sinnvollste dynamische Parameter für die Analyse der bei den Kraftmessungen erhaltenen Werte.^[17]

Diese über Kräfte gesteuerten Prozesse sind mit irreversibler Arbeit verbunden (viskose Reibungskraft), die zusätzlich zur Energie für das thermodynamische Potential verbraucht wird. Schultzen et al. demonstrierten, daß aufgrund dieser irreversiblen Anteile sowie der Überlagerung mit einem externen Potential die thermodynamischen Potentiale des untersuchten Prozesses nicht rekonstruiert werden können.^[15] Das ist eine Einschränkung bei Experimenten dieser Art, wenn man sie als Gleichgewichtsprozesse ausführen möchte. Andererseits bietet es vielversprechende Möglichkeiten der Feinabstimmung von Einzelmolekülmanipulationen für Untersuchungen von Nichtgleichgewichtsreaktionen. Durch Änderung der Steifheit des Werkzeugs und der Zuggeschwindigkeit können die Eigenschaften von Nichtgleichgewichts-„Energienlandschaften“^[15] entlang unterschiedlicher Pfade untersucht werden.

Die SFM-Methode bietet eine weitere Möglichkeit zur Mikromanipulation von Einzelmolekülen. Nachdem der Probenkopf ein einzelnes Molekül detektiert hat, kann er an der jeweiligen Position angehalten werden und dann als Skalpell benutzt werden. Die ersten Experimente dieser Art wurden an Luft von Vesenka et al.^[18] und Henderson^[19] durchgeführt.

Abbildung 2 zeigt ein ringförmiges DNA-Molekül, das in Lösung durch einen Bruch des Doppelstrangs, hervorgerufen durch den lokalen Druck der SFM-Probenkopfspitze, linearisiert wurde. Bei diesem in unserem Labor durchgeführten Versuch wurde also ein lineares DNA-Molekül *in situ* gebildet. Auch diese Einzelmolekülmanipulation führt zu einer Struktur, die vermutlich nur schwach populiert ist: Die Entfernung zwischen den beiden neugebildeten Enden des linearen Moleküls betrug fast Null. Da dieses Experiment in Lösung durchgeführt wurde, konnten wir das SFM nach dem Zerschneiden der DNA wieder auf den Detektionsmodus umschalten, so daß wir sehen konnten, wie sich die beiden Enden voneinander entfernten. In Echtzeit konnten wir die Konformationsumwandlungen beobachten, die zu einer Anordnung mit einem Abstand zwischen den beiden Enden des Moleküls führten, welche für ein Polymer dieser Länge aufgrund theoretischer Betrachtungen am häufigsten populiert sein sollte.

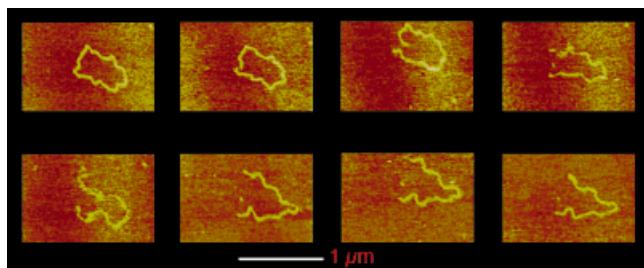


Abb. 2. SFM-Aufnahmen (Abtastmodus, unter entionisiertem Wasser) von pBR322-Plasmiden, die aus einer Pufferlösung (4 mM 2-[4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl]ethansulfinsäure (HEPES), 1 mM MgCl₂, pH 7.4) auf Mikanit (Glimmer) aufgebracht wurden. Im ersten Bild ist das relaxierte Plasmid gezeigt, das während der Aufnahme mit der SFM-Probenkopfspitze zerschnitten wurde. Das linearisierte Molekül beginnt, zwischen Konformationen zu wechseln, die einen größeren Abstand zwischen den beiden Molekülenden haben als den Anfangswert Null. Im vierten Bild hat die Form des Moleküls nicht mehr viel Ähnlichkeit mit der ursprünglichen Konformation. Die Adhäsion des Moleküls auf der Mikanitoberfläche kann durch Variation der Ionenstärke der Lösung moduliert werden. Das Einspritzen von Wasser (nach der sechsten Aufnahme) verbesserte die Auflösung durch die Verringerung der Molekülbewegung. – Dieses Experiment wurde von G. Zuccheri durchgeführt.^[21]

Aspekte der Chemie und Biologie von Polymeren können nun auf die Ebene von Einzelmolekülen übertragen werden. Unser Verständnis ist in vielen Punkten nur begrenzt, da die traditionellen Messungen an einer Vielzahl von Molekülen über molekulare Verteilungen gemittelt werden, die nicht bekannt und nicht notwendigerweise homogen sind. Experimente, die an einzelnen Molekülen durchgeführt werden, können diese Probleme von einer neuen Seite beleuchten. Weitere Fortschritte im theoretischen Verständnis sind sowohl für die Feinabstimmung der Experimente als auch für die Interpretation der Daten dringend erforderlich. Die Methoden entwickeln sich sehr schnell, und künftige Fortschritte werden stark von den technischen Verbesserungen bei der zeitlichen Auflösung der Messungen und der mechanischen sowie thermischen Stabilität der Manipulationswerkzeuge abhängen. Die Messung der Federkonstanten ist immer noch sehr aufwendig und wenig zuverlässig. Ein holländisches Sprichwort lautet: „Für alles gibt es eine eigene Wissenschaft, aber nicht für das Flöhefangen: Das ist eine Kunst.“ Auch das „Fangen“ einzelner Moleküle ist immer noch eine Kunst, aber es scheint keine grundsätzlichen Beschränkungen zu geben,

die verhindern würden, daß dies zu einem etablierten Werkzeug werden und damit dem Ideenreichtum von Chemikern und Biologen nützlich sein könnte.

Stichwörter: DNA-Strukturen • DNA-Spaltung • Einzelmolekül-Chemie • Kraftmikroskopie • Nanostrukturen

- [1] S. B. Smith, L. Finzi, C. Bustamante, *Science* **1992**, *258*, 1122–1126.
- [2] C. Bustamante, J. F. Marko, E. D. Siggia, S. B. Smith, *Science* **1994**, *265*, 1599–1600.
- [3] S. B. Smith, Y. Cui, C. Bustamante, *Science* **1996**, *271*, 795–798.
- [4] P. Cluzel, A. Lebrun, C. Heller, R. Lavery, J. Viovy, D. Chatenay, F. Caron, *Science* **1996**, *271*, 792–794.
- [5] T. R. Strick, J.-F. Allemand, D. Bensimon, A. Bensimon, V. Croquette, *Science* **1996**, *271*, 1835–1837.
- [6] L. F. Liu, J. C. Wang, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1987**, *84*, 7024–7027.
- [7] P. Guptasarma, *BioEssays* **1996**, *18*, 325–332.
- [8] H. Yin, M. D. Wang, K. Svoboda, R. Landick, S. M. Block, J. Gelles, *Science* **1995**, *270*, 1653–1657.
- [9] G. V. Shivashankar, A. Libchaber, *Appl. Phys. Lett.* **1997**, *25*, 3727–3729.
- [10] B. Essevaz-Roulet, U. Bockelmann, F. Heslot, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, *94*, 11935–11940.
- [11] G. U. Lee, L. A. Chrisey, R. J. Colton, *Science* **1994**, *266*, 771–773.
- [12] D. Bensimon, A. J. Simon, V. Croquette, A. Bensimon, *Phys. Rev. Lett.* **1995**, *74*, 4754–4757.
- [13] T. Boland, B. D. Ratner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*, 5297–5301.
- [14] E. Evans, K. Ritchie, *Biophys. J.* **1997**, *72*, 1541–1555.
- [15] S. Israilev, S. Stepaniants, M. Balsera, Y. Oono, K. Schultzen, *Biophys. J.* **1997**, *73*, 1568–1581.
- [16] M. Balsera, S. Stepaniants, S. Israilev, Y. Oono, K. Schultzen, *Biophys. J.* **1997**, *73*, 1281–1287.
- [17] Die zeitliche Kraftänderung R_F = Federkonstante \times Zuggeschwindigkeit, die in Lit. [10] verwendet wurde, betrug $0.0017 \text{ pN nm}^{-1} \times 40 \text{ nm s}^{-1} = 0.068 \text{ pNs}^{-1}$. Wir können annehmen, daß die R_F -Werte im SFM-Experiment von Lee et al.^[11] dagegen im Bereich von 4.8 – 1200 pNs^{-1} lagen, was darauf hindeutet, daß einige DNA-Stränge bei diesem Experiment länger waren als erwartet. Wir haben auf dieser Basis auch die Experimente aus Lit. [9] und [4] miteinander verglichen und festgestellt, daß trotz Verwendung unterschiedlicher Werkzeuge die R_F -Werte von der gleichen Größenordnung waren. Die Zuggeschwindigkeit betrug bei Shivashankar und Libchaber $10 \mu\text{m min}^{-1}$ (persönliche Mitteilung): Der resultierende R_F -Wert von 1600 pNs^{-1} ist von der gleichen Größenordnung wie die in Lit. [4] verwendeten Werte.
- [18] J. Vesenka, M. Guthold, C. L. Tang, D. Keller, C. Delain, C. Bustamante, *Ultramicroscopy* **1992**, *42*, 1243–1249.
- [19] E. Henderson, *Nucleic Acids Res.* **1992**, *20*, 445–447.
- [20] G. Zuccheri, R. T. Dame, M. Aquila, I. Muzzalupo, B. Samori, *Appl. Phys. A* **1998**, *66*, S585–S589.
- [21] G. Zuccheri, S. Gramentieri, B. Samori, unveröffentlichte Ergebnisse.