

Bindungstasche zurückgeführt werden, der nur die Bildung von Monoalkylorthocarbonaten primärer und nicht höherer Alkohole zulässt.

Weitere Experimente haben ergeben, dass die chemische Reaktivität des Cobalt(II)-Komplexes **11** (Tabelle 1) sehr der von **3** ähnelt. So konnten der Methyl- und der Ethylcarbonatkomplex **12** bzw. **13** durch Umsetzung des Monokations **11** mit dem entsprechenden Alkohol in Gegenwart von Luft oder durch Umesterung der Alkylcarbonatkomplexe erhalten werden [Gl. (8a,b)]. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass die chemische Reaktivität der Komplexe nicht auf eine spezifische Metall- d^n -Elektronenkonfiguration beschränkt ist, sondern auf der Lewis-Acidität basiert.

Vermutlich tragen auch hydrophobe Effekte zu der erhöhten chemischen Reaktivität von **2** und **3** bei. Der hydrophobe Charakter einer Bindungstasche kann durch ihre Tendenz bestimmt werden, unpolare Gäste stärker zu binden.^[9] Um dies zu untersuchen, wurden die relativen Stabilitätskonstanten (K_{rel}) der Formiato-, Acetato-, und Benzoatoverbrückten Zinkkomplexe **14a–c** (Tabelle 1) bestimmt. Die Stabilitätskonstanten nehmen in der Reihe **14a** < **14b** < **14c** zu und unterscheiden sich um zwei Größenordnungen ($K_{rel} = 0.1/1.0/5.0$). Je größer (unpolarer) also der organische Rest des Carboxylat-Ions $RCOO^-$ ist, desto stärker wird es gebunden. Der beobachtete Trend kann nur auf hydrophobe Effekte zwischen den Substituenten des Carboxylatliganden und der Ligandmatrix des Komplexes zurückgeführt werden.

Die Synthese von neuen Zweikernkomplexen mit hydrophoben Bindungstaschen wurde beschrieben. Die Komplexe weisen eine erhöhte chemische Reaktivität hinsichtlich der Aktivierung und Umsetzung von kleinen Molekülen wie CO_2 auf. Wir untersuchen zurzeit die Möglichkeit, ob die Lewis-Acidität der Zweikernkomplexe durch eine Veränderung der Metalloxidationsstufen erhöht werden kann und ob durch die Variation der Alkylsubstituenten Einfluss auf die Größe und Form der Bindungstasche genommen werden kann.

Eingegangen am 5. Juli 2001 [Z17426]

- [1] C. Wieser-Jeunesse, D. Matt, A. De Cian, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 3027–3030; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2861–2864.
 [2] a) M. T. Reetz, S. R. Waldvogel, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 870–873; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 865–867; b) T. Ooi, Y. Kondo, K. Maruoka, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 3213–3215; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 3039–3041.
 [3] S. Hecht, J. M. J. Fréchet, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 76–94; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 74–91.
 [4] a) M. Ruf, H. Vahrenkamp, *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 6571–6578; b) N. Kitajima, W. B. Tolman, *Prog. Inorg. Chem.* **1995**, *43*, 419–531; c) S. Blanchard, L. Le Clainche, M.-N. Rager, B. Chansou, J.-P. Tuchagues, A. F. Duprat, Y. Le Mest, O. Reinaud, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2861–2864; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2732–2735.
 [5] B. Kersting, G. Steinfeld, *Chem. Commun.* **2001**, 1376–1377.
 [6] Die kristallographischen Daten (ohne Strukturaktoren) der in dieser Veröffentlichung beschriebenen Strukturen wurden als „supplementary publication no.“ CCDC-166700 bis -166709 beim Cambridge Crystallographic Data Centre hinterlegt. Kopien der Daten können kostenlos bei folgender Adresse in Großbritannien angefordert werden: CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB21EZ (Fax: (+44)1223-336-033; E-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk) (siehe auch Hintergrundinformationen).

- [7] F. A. Cotton, G. Wilkinson, C. A. Murillo, M. Bochmann, *Advanced Inorganic Chemistry*, 6. Aufl., Wiley, New York, **1999**, S. 1225.
 [8] Die erfolgreiche Synthese des μ -Pyridazin(pydz)-Komplexes $[(L^{Me})_2Ni_2(\mu-pydz)]^{2+}$ zeigt, dass auch neutrale Substrate koordiniert werden können; B. Kersting, G. Steinfeld, unveröffentlichte Ergebnisse.
 [9] D. B. Smithrud, E. M. Sanford, I. Chao, S. B. Ferguson, D. R. Carcagnue, J. D. Evanseck, K. N. Houk, F. Diederich, *Pure. Appl. Chem.* **1990**, *62*, 2227–2236.

Funktionalisierte DNA: ein neues replizierbares Biopolymer**

Oliver Thum, Stefan Jäger und Michael Famulok*

Während der vergangenen zehn Jahre wurden verschiedenste Methoden entwickelt, welche die Isolierung von Biopolymeren mit maßgeschneiderten Eigenschaften aus hochgradig diversen Polypeptid- oder Nucleinsäurebibliotheken ermöglichen.^[1] Auf Polypeptiden basierende Bibliotheken benötigen Kodierungsstrategien, wie Phagen-,^[2] Ribosomen-^[3] oder mRNA-Display,^[4] welche eine eindeutige Verknüpfung des Phänotyps mit dem Genotyp gewährleisten. Nur dann ist man in der Lage, einige wenige Moleküle mit den gewünschten Eigenschaften aus Mischungen von bis zu 10^{14} individuellen Molekülen zu identifizieren.

Im Unterschied dazu haben funktionelle Nucleinsäuren wie Aptamere^[5] oder Ribozyme^[6] den Vorteil, dass sie die Informationen zu ihrer eigenen Replikation immer inhärent mitführen, wodurch spezielle Kodierungsstrategien zu ihrer Detektion und Optimierung überflüssig werden. Im Vergleich zu Polypeptiden haben sie jedoch den potentiellen Nachteil der geringen Diversität der chemischen Funktionalitäten, die von den vier natürlichen Nucleotiden zur Verfügung gestellt werden. Eine Erweiterung ihres Repertoires an funktionellen Gruppen sollte daher zu einer Steigerung ihrer katalytischen Eigenschaften und Bindungsmöglichkeiten führen.

Zur Zeit besteht daher ein großes Interesse an der Entwicklung von Methoden, die den Vorteil der direkten enzymatischen Amplifikation von Nucleinsäuren mit der chemischen Diversität von Polypeptiden verknüpfen, indem proteinähnliche Funktionalitäten an die Nucleobasen der DNA addiert werden. Beispielsweise wurden DNA-Moleküle, die funktionalisierte Reste enthalten, enzymatisch an natürlichen DNA-Templaten synthetisiert^[7] und zur In-vitro-Selektion genutzt.^[8] Über den Einbau von vier modifizierten Nucleotiden, die entweder Fluoreszenzfarbstoffe oder Alkinketten tragen, wurde zwar kürzlich berichtet,^[9] allerdings ist

[*] Prof. Dr. M. Famulok, Dipl.-Chem. O. Thum, Dipl.-Chem. S. Jäger
 Kekulé-Institut für Organische Chemie und Biochemie
 Universität Bonn
 Gerhard-Domagk-Straße 1, 53121 Bonn (Deutschland)
 Fax: (+49)228-735388
 E-mail: m.famulok@uni-bonn.de

[**] Wir danken Dr. Andreas Marx, Universität Bonn, für wertvolle Hinweise und Diskussionen. Diese Arbeit wurde unterstützt vom Fonds der Chemischen Industrie, der Karl-Ziegler-Stiftung und der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

das eigentliche Ziel, alle vier Nucleobasen eines Oligonucleotids durch unterschiedlich funktionalisierte Derivate zu ersetzen und das erhaltene Polymer als Templat für eine enzymatische Replikation zu nutzen, bis heute nicht erreicht. Nucleinsäuren, die in dieser Weise hochfunktionalisiert werden, stellen eine neue Klasse von enzymatisch replizierbaren Biopolymeren dar, die unter chemischen Gesichtspunkten betrachtet die Kluft zwischen Nucleinsäuren und Proteinen überbrücken und interessante neue Eigenschaften aufweisen sollten.^[10]

Wir beschreiben hier die erste enzymatische Synthese von Oligonucleotiden, die eine breite Palette zusätzlicher funktioneller Gruppen tragen, indem alle vier natürlichen Nucleobasen durch unterschiedliche synthetische Analoga ersetzt wurden, sowie die Bedingungen ihrer enzymatischen Replikation. Die Modifikationen wurden so gewählt, dass sie wichtige Aminosäureseitenketten wie Carbonsäuren, Alkylamine, Guanidin- und hydrophobe Gruppen abdecken. Das hochfunktionalisierte DNA-Templat^[11] ist dabei voll mit den enzymatischen Replikationsverfahren kompatibel, die üblicherweise bei In-vitro-Selektionsstrategien von Nucleinsäuren Verwendung finden.^[8a, 12]

Die Modifikation der Oligonucleotide erfolgte so, dass die Watson-Crick-Paarung der Nucleobasen möglichst wenig beeinflusst wurde. Vorangegangene Studien haben gezeigt, dass dies am besten durch Modifikation an Position C5 der Pyrimidine^[7, 13] und Position C7 der 7-Deazapurine erreicht wird.^[7d]

Die modifizierten Nucleosidtriphosphate **1–4**^[14] (Abbildung 1A) wurden synthetisiert und enzymatisch in einer templatgesteuerten Primerverlängerung mit kommerziell erhältlicher DNA-Polymerase aus *Thermus thermophilus* (*Tth*) zu einem hochfunktionalisierten Oligonucleotid polymerisiert (Abbildung 1B). Unter Verwendung eines Modelltemplats aus 79 Nucleotiden mit annähernd gleichmäßiger Basenverteilung optimierten wir zunächst die Bedingungen der Primerverlängerung hinsichtlich Nucleotid-, Enzym- und Templatkonzentration, Temperatur und Reaktionszeit. Wir stellten fest, dass die vollständige Verlängerung von 1 pmol Primer an 3 pmol Templat^[15] (Endkonzentration 50 nM, bzw. 150 nM) binnen 2 min bei 72 °C durch 0.5 U *Tth*-DNA-Polymerase unter Verwendung der modifizierten Nucleotide in einer Konzentration von jeweils 40 μ M erreicht werden kann. Unter diesen Bedingungen führte eine einzelne durch ein unmodifiziertes DNA-Templat dirigierte Primerverlängerungsreaktion zu einer effizienten Polymerisation der modifizierten Nucleotide (Abbildung 1B, Bahn 6). Als Negativ-

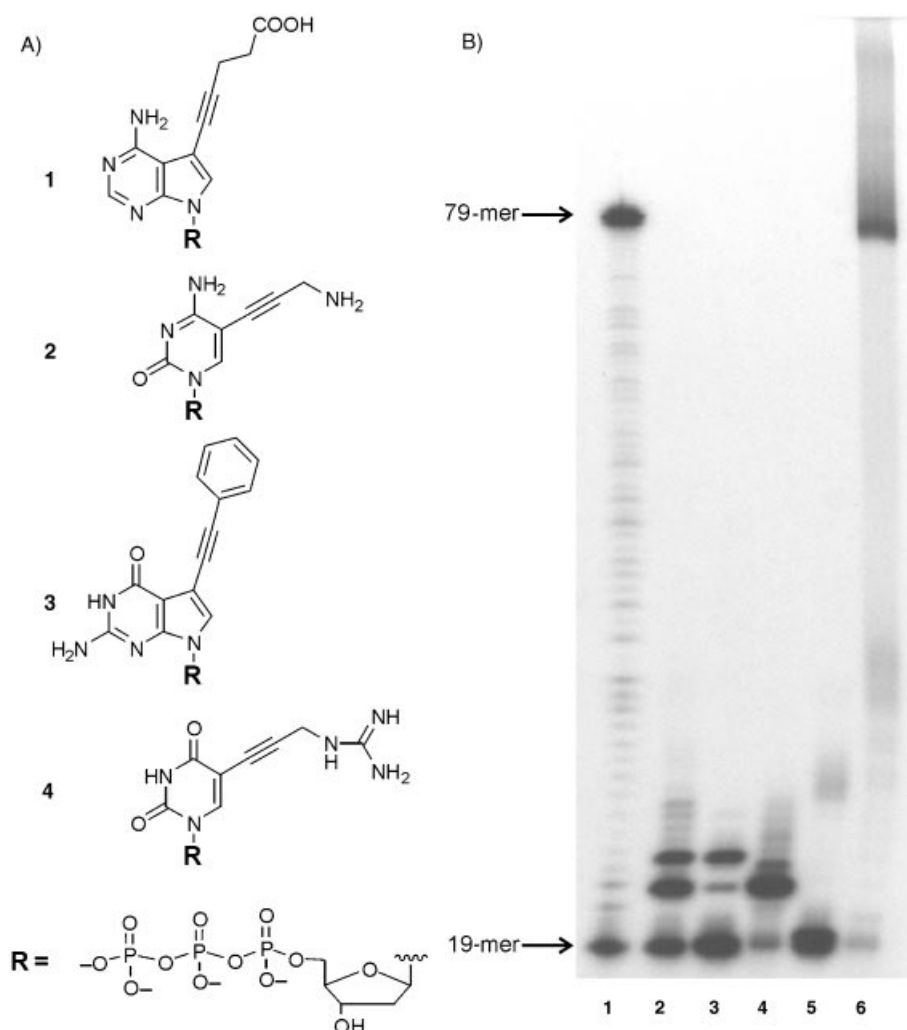


Abbildung 1. **A**) Strukturen der hier verwendeten modifizierten Desoxynucleosidtriphosphate (dNTPs) **1–4**.^[14] Die funktionellen Gruppen ähneln den Aminosäuren Asparat oder Glutamat (**1**), Lysin (**2**), Phenylalanin (**3**) und Arginin (**4**). **B**) Autoradiogramm eines 8-proz. denaturierenden Polyacrylamidgels der Primerverlängerungsprodukte. Bahn 1: 40 μ M der natürlichen dNTPs; Bahn 2: 40 μ M modifizierte dNTPs **2–4**; Bahn 3: 40 μ M modifizierte dNTPs **1, 3** und **4**; Bahn 4: 40 μ M modifizierte dNTPs **1, 2** und **4**; Bahn 5: 40 μ M modifizierte dNTPs **1–3**; Bahn 6: 40 μ M modifizierte dNTPs **1–4**.

kontrolle wurde das gleiche Experiment unter Verwendung von nur drei modifizierten Basen und Auslassen von Verbindung **1** (Bahn 2), **2** (Bahn 3), **3** (Bahn 4) oder **4** (Bahn 5) durchgeführt. Abbildung 1b zeigt, dass alle vier Nucleotide für den Erhalt des vollständig verlängerten Produkts nötig sind. Die dem vollständig verlängerten Primer entstehende Produktbande verschmiert in Richtung geringerer elektrophoretischer Mobilität (Bahn 6). Dies könnte auf verschiedene stabile Sekundärstrukturen oder höhere Aggregate zurückzuführen sein, die unter den Standardbedingungen der denaturierenden Polyacrylamid-Gelelektrophorese (PAGE) nicht aufgelöst werden können.

Zur Gewährleistung der Kompatibilität mit den Protokollen der In-vitro-Selektion, in denen die Sequenzinformation von Generation zu Generation zuverlässig weitergegeben wird, mussten wir nachweisen, dass die enzymatisch synthetisierte fDNA^[11] als Templat für eine Polymerasekettenreaktion (PCR) mit natürlichen dNTPs eingesetzt werden kann. Dazu wurde die fDNA an einem 5'-biotinylierten

Templat generiert und das entstandene fDNA/DNA-Hybrid an Streptavidin-Agarose immobilisiert. Durch Elution mit 0.1N NaOH erhielten wir freie fDNA, die wiederum als Templat für eine PCR in Gegenwart natürlicher dNTPs genutzt wurde. Unter Standard PCR-Bedingungen (Denaturierung bei 95 °C; *Tth*-DNA-Polymerase, *Tth*-Reaktionspuffer) konnte jedoch kein PCR-Produkt erhalten werden (Daten hier nicht gezeigt). Wir führen dieses Ergebnis auf unvollständiges Schmelzen des fDNA/DNA-Hybrids unter den angewendeten Bedingungen zurück, zumal kürzlich berichtet wurde, dass die Anwesenheit von modifizierten 7-Deazapurinen in doppelsträngiger DNA deren Schmelzpunkt erhöht.^[16]

Daher steigerten wir die Schmelztemperatur auf 100 °C, nutzten die extrem thermostabile DNA-Polymerase aus *Pyrococcus Woesei* (*Pwo*) und verwendeten „GC-rich solution“ (Roche Molecular Biochemicals), ein kommerziell erhältliches Additiv für verbesserte Amplifikation GC-reicher Sequenzen doppelsträngiger DNA. Tatsächlich führte diese Kombination zu erfolgreicher Amplifikation (Abbildung 2, Bahn 6), während in Reaktionen ohne „GC-rich solution“ kein PCR-Produkt erhalten werden konnte (Abbildung 2, Bahn 5). Die schwachen Produktbanden, die in den

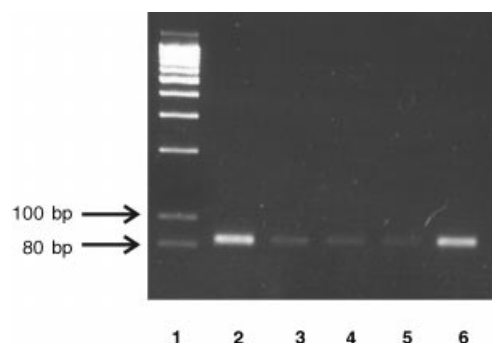


Abbildung 2. Ethidiumbromid-gefärbtes 2.5-proz. Agarosegel der PCR-Produkte. Bahn 1: DNA-Größenmarker; Bahn 2: Amplifikation unmodifizierter DNA; Bahn 3: Amplifikation des Eluats von immobilisiertem biotinyliertem Templat; Bahn 4: wie Bahn 3 unter Zugabe von „GC-rich solution“; Bahn 5: Amplifikation von fDNA; Bahn 6: Amplifikation von fDNA unter Zugabe von „GC-rich solution“.

Negativkontrollen (biotinyliertes Templat wurde im Reaktionspuffer an Streptavidin-Agarose gebunden, wie oben beschrieben gewaschen und das Eluat in einer PCR eingesetzt; Abbildung 2, Bahn 3 und 4) zu sehen sind, stammen von geringen Mengen des biotinylierten Templates, die durch die Behandlung mit 0.1N NaOH von der Agarosematrix abgelöst wurden. Somit können wir die Amplifikationsbedingungen definieren, die zur Generierung von DNA aus fDNA-Template angewandt werden müssen.

Um zu überprüfen, ob die Sequenz des Originaltemplates während des enzymatischen Einbaus der modifizierten dNTPs und der Retransformation in DNA erhalten bleibt, wurde die aus dem fDNA-Templat gewonnene DNA gereinigt und sequenziert. Als Positivkontrolle diente das PCR-Produkt des unmodifizierten DNA-Templates. Abbildung 3

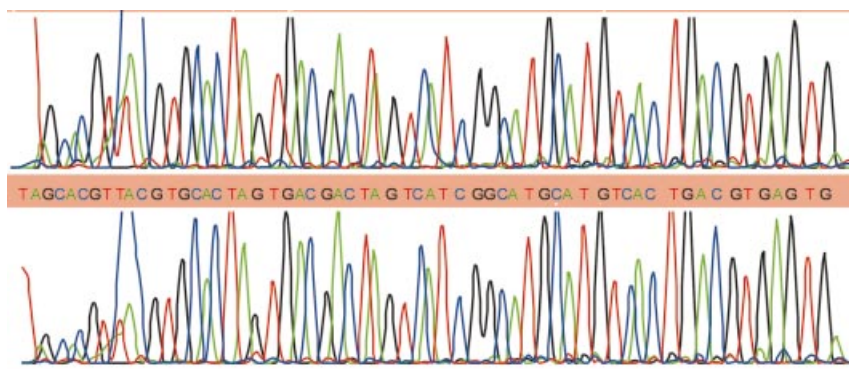


Abbildung 3. Cycle-Sequenzierung der PCR-Produkte ausgehend von Kontroll-DNA (oben) oder fDNA-Templat (unten). DNA-Sequenzierungen wurden von PHAMISS, dem DNA-Sequenzierservice der Universität Bonn, durchgeführt.

zeigt, dass beide PCR-Produkte die gleiche Sequenz haben und beweist, dass der Einbau der modifizierten Nucleotide sequenzspezifisch erfolgt und fDNA als Templat zur fehlerfreien DNA-Amplifikation dienen kann.

Wir präsentieren mit dieser Arbeit das erste Beispiel eines Oligonucleotids mit unterschiedlichen Modifikationen an jeder Basenposition, das enzymatisch repliziert werden kann. Die Eignung dieser modifizierten Nucleotide zur In-vitro-Selektion wurde demonstriert, indem ein kompletter Zyklus aus Primerverlängerung und PCR-Amplifikation durchgeführt wurde. Nucleotide, die aminosäureähnliche Reste tragen, können natürliche dNTPs in Primerverlängerungen ohne messbaren Verlust an Sequenzinformation ersetzen. Allgemein gesprochen stellt funktionalisierte DNA eine neue Klasse von Biopolymeren dar, die eine Brückenfunktion zwischen Proteinen und Nucleinsäuren einnimmt. Neben der potentiellen Anwendung von fDNAs in kombinatorischen In-vitro-Selektionsexperimenten sind interessante physikochemische Eigenschaften zu erwarten, die fDNAs für diagnostischen Zwecke oder die funktionale Genomforschung auf Micro-Arrays nützlich machen könnten.

Experimentelles

Für die Einbaustudien wurde das folgende synthetische, einzelsträngige 79-mer-DNA-Templat verwendet: 5'-CACTACGTCAGTGACATGCATGCCGATGACTAGTCGTCAGTGCACGTAACGTGCTAGT-CAGAAATTTGCGACCAC-3'.

Primerverlängerungen wurden unter den folgenden Bedingungen durchgeführt: Eine Hybridisierungslösung, bestehend aus 1 pmol 5'-[³²P]-markiertem Primer, 5'-GTGGTGCGAAATTTCTGAC-3', und 3 pmol Templat in 9.4 µL Reaktionspuffer (10 mM Tris-HCl, pH 8.9, 100 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 50 µg mL⁻¹ Rinderserumalbumin (BSA), 0.05 % Tween 20) wurde für 2 min auf 95 °C erhitzt und anschließend auf 25 °C abgekühlt. 0.1 µL *Tth*-DNA-Polymerase (Roche, 5 U µL⁻¹), 0.5 µL thermostabile anorganische Pyrophosphatase (New England Biolabs, 0.2 U µL⁻¹) und 10 µL einer Reaktionslösung, welche die entsprechenden natürlichen oder modifizierten dNTPs in einer Konzentration von 80 µM im gleichen Puffer enthält, wurden zugegeben, die Mischung für 2 min bei 72 °C inkubiert und auf 4 °C abgekühlt. Die Reaktionen wurden durch Zugabe von 60 µL einer 20 mM EDTA (Ethyldiamintetraacetat)-Lösung in Formamid und Wasser (4:1) beendet, gefolgt von 10 min Hitzedenaturierung bei 95 °C und sofortigem Abkühlen auf 0 °C. Aliquote von 5 µL jeder Reaktion wurden mit 8-proz. denaturierender PAGE (8M Harnstoff) analysiert. Mit den auf Filterpapier übertragenen und getrockneten Gelen wurde zur Analyse ein Röntgenfilm belichtet.

Um die fdNA von dem fDNA/DNA-Hybrid zu trennen, wurde eine Hybridisierungslösung aus 8 pmol Primer und 24 pmol biotinyltem Templat vorbereitet. Die Reaktionen wurden wie oben beschrieben unter Verwendung von 0.2 μL *Tth*-DNA-Polymerase ($5 \text{ U } \mu\text{L}^{-1}$) und 1 μL thermostabiler anorganischer Pyrophosphatase ($0.2 \text{ U } \mu\text{L}^{-1}$) in einem Gesamtvolumen von 40 μL durchgeführt. Als Negativkontrolle diente biotinyltes Templat in Reaktionspuffer ohne Primer und Nucleotide. Jeder Ansatz wurde für 10 min bei 72°C inkubiert und anschließend auf 4°C abgekühlt. Alle Reaktionslösungen wurden mit 10 μL Puffer (750 mM NaCl, 0.5 mM EDTA, 250 mM HEPES (2-[4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl]ethansulfonsäure), pH 7.0) versetzt und bei 4°C an 50 μL Streptavidin-Agarose, die vorher mit fünf Säulenvolumina Waschpuffer (150 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, 50 mM HEPES, pH 7.0) äquilibriert worden war, immobilisiert und mit 15 Säulenvolumina Waschpuffer bei 25°C gewaschen. Die gewünschten Oligonucleotide wurden zweimal mit 40 μL Elutionspuffer (0.1 M NaOH, 150 mM NaCl) eluiert und mit 6 μL 5-proz. Essigsäure neutralisiert. Aliquote von 10 μL dienten als Templat für die PCR.

Die PCR (100°C –1 min, 50°C –1 min, 72°C –2 min, 8 Zyklen) wurde in 50 μL Reaktionsvolumen mit 200 μM dNTPs, 40 pmol der Primer 5'-GTG GTG CGA AAT TTC TGA C-3' und 5'-Biotin-CAC TCA CGT CAG TGA CAT GC-3' und 0.5 μL *Pwo*-DNA-Polymerase (Roche Molecular Biochemicals, $5 \text{ U } \mu\text{L}^{-1}$) durchgeführt und durch Ethidiumbromidfärbung auf einem 2.5-proz. Agarosegel analysiert. Die PCR-Produkte wurden auf einem präparativen Agarosegel gereinigt, auf einer G-25 Ionenaustauschersäule entsalzt und zur Sequenzierung verwendet.

Eingegangen am 28. Mai 2001 [Z17184]

- [1] M. Famulok, C.-H. Wong, E.-L. Winnacker, *Combinatorial Chemistry in Biology*, Springer, Berlin, 1999.
- [2] S. S. Sidhu, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2000**, *11*, 610–616.
- [3] a) J. Hanes, L. Jermutus, A. Plückthun, *Methods Enzymol.* **2000**, *328*, 404–430; b) U. Hoffmüller, J. Schneider-Mergener, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 3431–3434; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 3241–3243.
- [4] a) R. W. Roberts, J. W. Szostak, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, *94*, 12297–12302; b) R. H. Liu, J. E. Barrick, J. W. Szostak, R. W. Roberts, *Methods Enzymol.* **2000**, *318*, 268–293; c) D. S. Wilson, A. D. Keefe, J. W. Szostak, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 3750–3755; d) A. D. Keefe, J. W. Szostak, *Nature* **2001**, *410*, 715–718.
- [5] a) M. Famulok, G. Mayer, *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **1999**, *243*, 123–136; b) M. Famulok, G. Mayer, M. Blind, *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 591–599; c) M. Famulok, M. Blind, G. Mayer, *Chem. Biol.* **2001**, *8*, 931–939.
- [6] M. Famulok, A. Jenne, *Top. Curr. Chem.* **1999**, *202*, 101–131.
- [7] a) K. Sakthivel, C. F. Barbas III, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2998–3002; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2872–2875; b) D. M. Perrin, T. Garestier, C. Hélène, *Nucleosides Nucleotides* **1999**, *18*, 377–391; c) S. Brakmann, S. Löbermann, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 1473–1476; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 1427–1429; d) T. Grolain, A. Sidorov, N. Mignet, S. J. Thorpe, S. E. Lee, J. A. Grasby, D. M. Williams, *Nucleic Acids Res.* **2001**, *29*, 1989–1905.
- [8] a) S. W. Santoro, G. F. Joyce, K. Sakthivel, S. Gramatikova, C. F. Barbas III, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2433–2439; b) D. M. Perrin, T. Garestier, C. Hélène, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1556–1563.
- [9] M. A. Augustin, W. Ankenbauer, B. Angerer, *J. Biotechnol.* **2001**, *86*, 289–301.
- [10] a) C. A. Stein, J. S. Cohen, *Cancer Res.* **1988**, *48*, 2659–2668; b) B. N. Trawick, A. T. Daniher, J. K. Bashkin, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 939–960.
- [11] Wir verwenden „fdNA“ als Abkürzung für den Ausdruck „funktionalisierte DNA“.
- [12] S. W. Santoro, G. F. Joyce, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, *94*, 4262–4266.
- [13] S. E. Lee, A. Sidorov, T. Grolain, N. Mignet, S. J. Thorpe, J. A. Brazier, M. J. Dickman, D. F. Hornby, J. A. Grasby, D. M. Williams, *Nucleic Acids Res.* **2001**, *29*, 1565–1573.
- [14] Die Synthese der Verbindungen **1–4** wird demnächst an anderer Stelle veröffentlicht.
- [15] Wir setzten einen Überschuss an Templat ein, um möglichst quantitative Hybridisierung des Primers zu gewährleisten.
- [16] a) F. Seela, M. Zulauf, *Helv. Chim. Acta* **1999**, *82*, 1878–1898; b) N. Ramzaeva, C. Mittelbach, F. Seela, *Nucleosides Nucleotides* **1999**, *18*, 1439–1440.

Photofixierung von Stickstoff an nanostrukturierten Eisentitanatfilmen**

Olga Rusina, Anna Eremenko, Gerhard Frank, Horst P. Strunk und Horst Kisch*

Professor Günter Hauska zum 60. Geburtstag gewidmet

Neben der Photosynthese ist die Stickstoff-Fixierung der zweitwichtigste chemische Prozess der Biosphäre. Die milden Bedingungen der enzymatischen Reaktion im Vergleich zu denen der Haber-Bosch-Synthese regten viele Untersuchungen zur Bildung und Reaktivität von N_2 -Übergangsmetallkomplexen unter thermischen Bedingungen an. Vergleichsweise wenige Arbeiten gibt es dagegen zur Photofixierung, insbesondere im Hinblick auf eine Sonnenlicht-induzierte nichtenzymatische Stickstoff-Fixierung an einem einfachen anorganischen Katalysator.

Schrauzer und Guth haben erstmalig berichtet, dass die durch Lichtabsorption eines Halbleiterpulvers gebildeten Elektron-Loch-Paare elementaren Stickstoff zu Ammoniak reduzieren können. Als Reduktionsmittel diente Wasserdampf, der dabei zu Sauerstoff oxidiert wurde. Die Photoreduktion gelang nur, wenn rutilhaltiges Titandioxidpulver mit 0.2% Fe_2O_3 dotiert war und mit gasförmigem Stickstoff in Kontakt stand. Wurde Stickstoff in eine wässrige Suspension des Pulvers eingeleitet, entstand kein Ammoniak. Größere Eisengehalte gaben inaktive Materialien.^[1] Nachfolgende Arbeiten bestätigten diese Ergebnisse, allerdings war die Natur des Reduktionsmittels meist unbekannt, da Sauerstoff nur in den seltensten Fällen nachgewiesen wurde.^[2–14] Die Konzentrationen an Ammoniak lagen im Bereich von 1 bis $10 \mu\text{mol L}^{-1}$, und in der Regel war der Einsatz von UV-Licht nötig. Vor kurzem wurde berichtet, dass die auf einer Titanplatte durch elektrochemische Oxidation erzeugte Titandioxidschicht auch ohne Eisendotierung aktiv ist.^[15] Diese sich teilweise widersprechenden Befunde wurden kontrovers diskutiert, insbesondere von Edwards et al., welche zu dem Schluss kamen, dass alle bis dahin publizierten Werte auf Spuren von ubiquitärem Ammoniak zurückzuführen sind.^[16] Da allerdings bekannt ist, dass die photokatalytischen Eigenschaften von Halbleitern durch Verunreinigungen stark beeinflusst werden, könnten die widersprüchlichen Ergebnisse auf Schwierigkeiten bei der Katalysatorherstellung beruhen.

[*] Prof. Dr. H. Kisch, Dipl.-Chem. O. Rusina
Institut für Anorganische Chemie der Universität Erlangen-Nürnberg
91058 Erlangen (Deutschland)
Fax: (+49) 9131-8527363
E-mail: kisch@chemie.uni-erlangen.de
Prof. Dr. A. Eremenko
Institute of Surface Chemistry
National Ukrainian Academy of Sciences
Prospect Nauki 31, 252022 Kiev (Ukraine)
Dr. G. Frank, Prof. Dr. H. P. Strunk
Institut für Werkstoffwissenschaften der Universität
Erlangen-Nürnberg
Cauerstraße 6, 91058 Erlangen (Deutschland)

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Wir danken Herrn Dipl.-Chem. Harald Weiß für experimentelle Hilfe.