

Die Welt der Nanopartikel trifft auf die Biomoleküle

Nanopartikel, Proteine und Nucleinsäuren: Die Biotechnologie begegnet den Materialwissenschaften

Christof M. Niemeyer*

Auf der Basis der klassischen Chemie haben sich die Materialwissenschaften und die Biotechnologie im Laufe der letzten drei Jahrzehnte zu leistungsfähigen Disziplinen entwickelt, die heutzutage hochkomplexe technische Elemente und Wirkstoffe für pharmazeutische und biomedizinische Anwendungen im industriellen Maßstab produzieren. Dieser Aufsatz beleuchtet aktuelle Forschungsaktivitäten im Grenzgebiet zwischen der Materialforschung, den Nanowissenschaften und der molekularen Biotechnologie. Die-

ses neue interdisziplinäre Gebiet der Chemie ist einerseits eng verknüpft mit den physikalischen und chemischen Eigenschaften von organischen und anorganischen Nanopartikeln und betrifft andererseits die verschiedenen Aspekte molekularer Klonierung, rekombinanter DNA- und Proteintechnologie und der Immunologie. Evolutionär optimierte Biomoleküle, z. B. Nucleinsäuren, Proteine und supramolekulare Komplexe aus diesen Komponenten, werden für den Aufbau nanostrukturierter und mesoskopipi-

scher Architekturen aus organischen und anorganischen Materialien genutzt. Die hochentwickelten Instrumente und Verfahren der modernen Materialforschung können eingesetzt werden, um fundamentale biologische Prozesse zu untersuchen.

Stichwörter: Analytische Methoden · Biotechnologie · Materialforschung · Nanostrukturen · Supramolekulare Chemie

1. Einleitung

The essence of chemical science finds its full expression in the words of that epitome of the artist-scientist Leonardo da Vinci: „Where Nature finishes producing its own species, man begins, using natural things and with the help of this nature, to create an infinity of species“. Mit diesem Zitat gibt der Nobelpreisträger Jean-Marie Lehn einen Ausblick auf die Perspektiven der supramolekularen Chemie.^[1] Ausgehend von den Pionierarbeiten von Pedersen, Cram und Lehn über supramolekulare Aggregate, die durch schwache, nichtkovalente Wechselwirkungen zusammengehalten werden, hat sich die supramolekulare Chemie innerhalb der letzten 30 Jahre in einem interdisziplinären Ansatz zu einer modernen und wohl etablierten Disziplin entwickelt. Sie beschäftigt sich einerseits mit den grundlegenden Prinzipien nach denen die Natur ihre faszinierend komplexen und hochfunktionellen Molekülensembles erzeugt. Andererseits besteht ein wichtiges Ziel der supramolekularen Chemie darin, diese natürlichen Prinzipien zu nutzen, um neuartige Funktionseinheiten und

Materialien herzustellen, die in der Sensorik, der Katalyse, dem Transport und anderen Bereichen der Ingenieurwissenschaften und der biomedizinischen Forschung einsetzbar sind.^[1-3] Ein weiteres Beispiel moderner technischer Errungenschaften betrifft die Entwicklung „funktionaler“ oder sogar „intelligenter“ Materialien, die oft auch als „Advanced Materials“ bezeichnet werden, und die in hochintegrierten optischen und elektronischen Bauteilen, Sensoren oder Katalysatoren Verwendung finden. Der enorme bislang erzielte Fortschritt wird deutlich, wenn man Materialien elektrischer Teile des beginnenden letzten Jahrhunderts – z. B. Millimeter-breite Kupferdrähte – mit den modernen (sub)mikrometer-dimensionierten optischen und elektronischen Bauteilen aus leitfähigen und elektrolumineszenten organischen Polymeren vergleicht, die im gerade beginnenden Jahrhundert eingesetzt werden.^[4]

Ähnlich drastische Fortschritte wurden auch in den Biowissenschaften erzielt. Die natürliche Evolution hat hochfunktionale Molekülverbände aus Proteinen, Nucleinsäuren und anderen (Makro)Molekülen hervorgebracht, die derart komplexe Funktionen ausführen, dass ein umfassendes Verständnis oder gar eine Nachahmung für uns bislang aussichtslos erscheint. Ein eindrucksvolles Beispiel für die enorme Leistungsfähigkeit biologisch „programmierter“ molekularer Erkennung ist das Ribosom. Diese etwa 20 nm großen bioorganischen Partikel bilden sich aus mehr als 50 einzelnen

[*] Priv.-Doz. Dr. C. M. Niemeyer
Biotechnologie und Molekulare Genetik
Universität Bremen, FB2 – UFT
Leobener Strasse, 28359 Bremen (Deutschland)
Fax: (+49) 421-218-7578
E-mail: cmn@uni-bremen.de

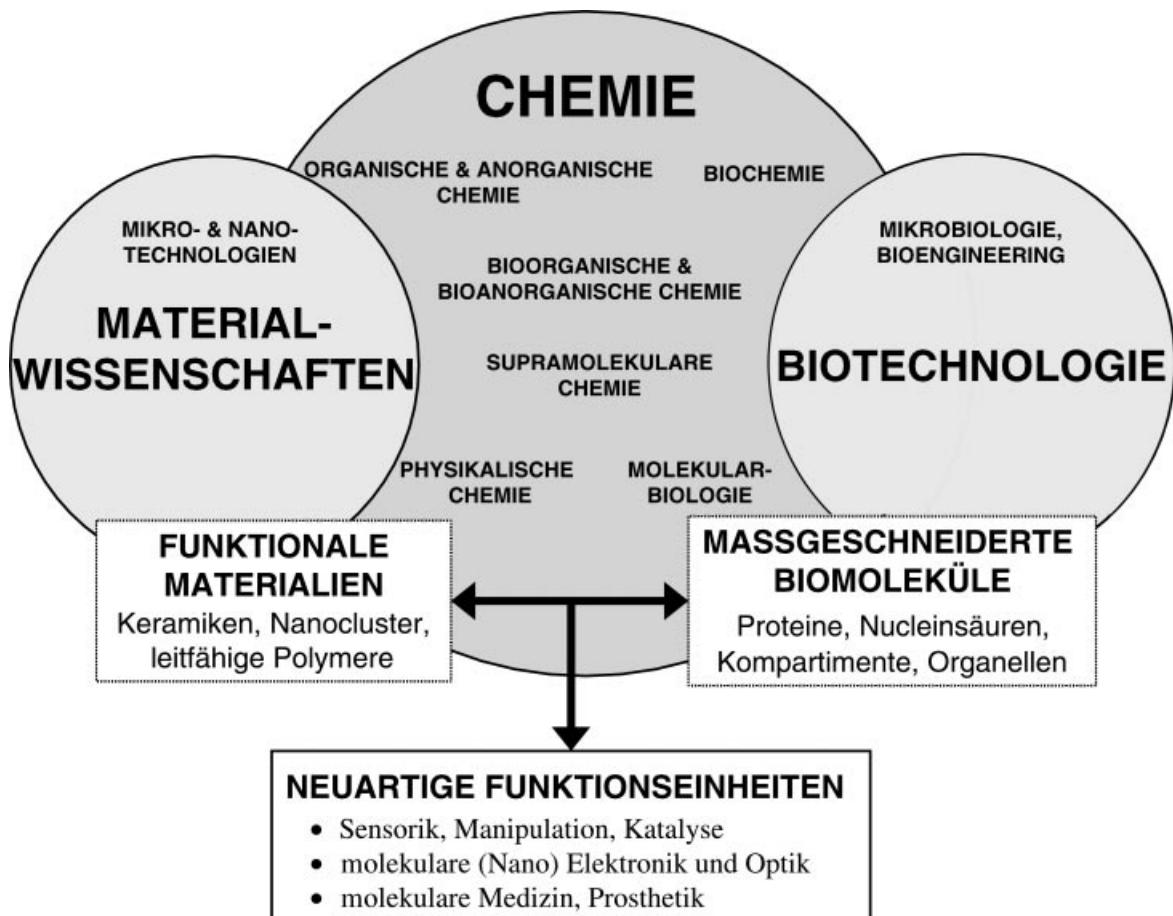
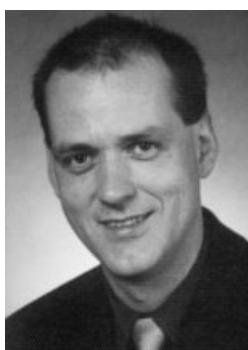


Abbildung 1. Die Chemie ist die zentrale Wissenschaft für die Entwicklung anwendungsbezogener Disziplinen wie Materialforschung und Biotechnologie. Basierend auf den klassisch-chemischen Forschungsgebieten und den Ingenieurwissenschaften hat die Materialforschung beeindruckende Ergebnisse bei der Herstellung moderner, funktionaler Materialien erzielt.

Protein- und Nucleinsäurebausteine durch spontane Selbstorganisation.^[5] Beginnend mit der Entdeckung der DNA-Doppelhelix, hat sich die Biologie von einer rein beschreibenden und phänomenologischen Disziplin zu einer molekularen Wissenschaft gewandelt. Die DNA-Rekombinations-Technologie hat nicht nur grundsätzliche Einblicke in viele biochemische Prozesse ermöglicht, sie hat auch das Tor zur modernen Biotechnologie weit aufgestoßen. Heute ist die

genetische Manipulation relativ einfacher Bakterienzellen durch Standardverfahren möglich, und wir befinden uns bereits auf dem Weg, komplexe Organismen maßgeschneidert herzustellen. In Anbetracht dieser revolutionären Entwicklungen besteht gegenwärtig eine große Herausforderung darin, die Biotechnologie mit den Materialwissenschaften zu verknüpfen (Abbildung 1). Die Verschmelzung dieser Disziplinen auf Basis der ihnen zugrundeliegenden Chemie erlaubt



Christof M. Niemeyer hat an der Philipps Universität in Marburg Chemie studiert und 1989 in der Gruppe von Professor M.T. Reetz, Marburg, seine Diplomarbeit über enantioselektive Aldolreaktionen mit chiralen Bor-Reagenzien angefertigt. Während seiner Doktorarbeit, die er 1992 bei Prof. Reetz am Max-Planck-Institut für Kohlenforschung in Mülheim an der Ruhr fertiggestellt hat, beschäftigte er sich mit der Entwicklung von Organometall-Rezeptoren und deren supramolekularen Wirt-Gast-Komplexen. Anschließend war er mit einem Stipendium der Studienstiftung des deutschen Volkes Postdoktorand in der Arbeitsgruppe von Prof. Charles R. Cantor am Center for Advanced Biotechnology in Boston und hat dort seinen Forschungsschwerpunkt auf biomolekulare Erkennungssysteme verlagert. Seit Mitte 1994 ist er in der Arbeitsgruppe 'Biotechnologie und Molekulare Genetik' von Prof. Dietmar Blohm an der Universität Bremen tätig, im November 2000 hat er sich im Fachgebiet Organische Chemie habilitiert. Er erhielt 1999 von der DECHEMA den Hochschullehrer-Nachwuchspreis für Biotechnologie. Seine Forschungsinteressen sind die Synthese und Charakterisierung semisynthetischer DNA-Protein- und Nanopartikel-Konjugate und deren Anwendungen in der molekularen Biotechnologie.

es, evolutionär optimierte biologische Komponenten zur Herstellung von neuartigen Materialien einzusetzen, und im Gegenzug, heute bereits verfügbare Materialien und physikalisch-chemische Verfahren der Materialforschung einzusetzen, um biologische Fragestellungen zu lösen.

Biotechnologie und Materialwissenschaften begegnen sich auf der selben Längenskala (Abbildung 2). So liegen die Dimensionen biomolekularer Komponenten typischerweise im Bereich von etwa 3 bis 200 nm. Um die Prinzipien natürlicher nanodimensionierter Systeme aufzuklären und technisch zu nutzen, ist deshalb die Entwicklung einer „Nanochemie“ unerlässlich.^[6] Die Erforschung nanodimensionierter Systeme wird darüber hinaus durch starke kommerzielle Interessen voran getrieben, die auf die Herstellung miniaturisierter mikroelektronischer und optischer Bauteile abzielen. Die Strukturabmessungen heutiger Mikroprozessoren liegen in der Größenordnung von etwa 200 nm. Diese Abmessungen sind gerade noch mit konventionellen „Top-down“-Verfahren (Verkleinerungsverfahren) wie der Photolithographie erreichbar. In absehbarer Zeit werden diese Verfahren es vermutlich allerdings nicht gestatten, große Stückzahlen von Elementen mit Abmessungen von deutlich unter 100 Nanometern kostengünstig zu produzieren. „*There is plenty of room at the bottom*“, betonte bereits vor mehr als 40 Jahren der Physiknobelpreisträger Richard Feynman.^[7] Deshalb wundert es nicht, dass sich die derzeitige Nanotechnologieforschung intensiv mit der Entwicklung so genannter „Bottom-up“-Strategien (Vergrößerungsstrategien) beschäftigt, bei denen sich (makro)molekulare und kolloidale Komponenten zu größeren funktionalen Einheiten durch Selbstorganisation zusammenfügen.^[8] Die in solchen Organisationsprozessen eingesetzten Bausteine müssen verschiedene grundlegende Anforderungen erfüllen. Zum ersten müssen sie eine intrinsische Funktionalität haben, z.B. sterische, optische, elektronische oder katalytische Eigenschaften, die zur Realisierung der angestrebten Anwendungen erforderlich sind. Zum zweiten sollen die modularen Komponenten hinsichtlich ihrer Konstitution, Konfiguration und dynami-

schen Eigenschaften einstellbar sein, um spezifische Erkennungseigenschaften für den Selbstorganisationsprozess programmieren zu können. Drittens müssen die Bausteine eine geeignete Größe aufweisen, um die gegenwärtig existierende Lücke zu schließen, die zwischen den durch Top-down-Verfahren erreichbaren Submikrometerstrukturen und den durch klassische chemische Synthese und konventionelle supramolekulare Selbstorganisation herstellbaren Strukturgrößen existiert (Abbildung 2).

Anorganische Nanopartikel sind als Bausteine für die Erzeugung größerer funktionaler Überstrukturen sehr attraktiv.^[9–16] Solche Nanopartikel können aus verschiedenen Materialien durch relativ einfache Methoden in großen Mengen hergestellt werden. Die Dimensionen der Nanopartikel lassen sich im Bereich von etwa einem bis zu mehreren hundert Nanometern kontrolliert einstellen, wobei eine enge Größenverteilung erzielt werden kann. Häufig sind solche Partikel aus Metallen, Metalloxiden und Halbleitermaterialien, z.B. Ag_2S , CdS , CdSe oder TiO_2 , aufgebaut. Die Nanopartikel haben interessante optische, elektronische und teilweise katalytische Eigenschaften, die erheblich von denen des entsprechenden makroskopischen Festkörpers abweichen und die häufig eine starke, wohldefinierte und vorhersagbare Abhängigkeit von der Partikelgröße aufweisen. Bekannte Beispiele hierfür sind die großenabhängige Emissionswellenlänge des Lichtes von Halbleiter-Nanokristallen, die für Markierungen von Biomolekülen^[17, 18] oder in Lasern^[19] nutzbar ist, oder die Größenabhängigkeit der Umschaltung magnetischer Nanoteilchen durch externe magnetische Felder, die maßgeblichen Einfluss auf magnetotaktische Bakterien^[20] hat und für die Entwicklung neuer Festplatten genutzt werden kann.^[21] Bestimmte Arten von Nanopartikeln werden als „künstliche Atome“^[22] betrachtet, da sie als perfekte Nanokristalle hergestellt und als Bausteine für die Selbstorganisation größerer zweidimensionaler Architekturen verwendet werden können.^[23]

Über das rasch wachsende Gebiet der grundlegenden und angewandten Forschung an Nanopartikeln sind bereits mehrere hervorragende Monographien und Übersichtsartikel veröffentlicht worden.^[9–15] Dieser Aufsatz geht über die rein materialwissenschaftlichen Fragestellungen hinaus und schildert aktuelle Ansätze, die auf der nanochemischen Schnittstelle zwischen den Materialwissenschaften und der molekularen Biotechnologie bearbeitet werden.^[24–26] Dieses neue Forschungsfeld ist eng verknüpft mit der Oberflächenchemie und den physikalischen Eigenschaften anorganischer Nanopartikel, berührt typische Fragestellungen der bioanorganischen und bioorganischen Chemie und umfasst die molekularbiologischen Aspekte der DNA-Synthese- und rekombinanter DNA-Technologie, der Expression rekombinanter Proteine und der Immunologie. Dieser Aufsatz beschreibt, wie z.B. Nucleinsäuren und Proteine als programmierbare Erkennungs-

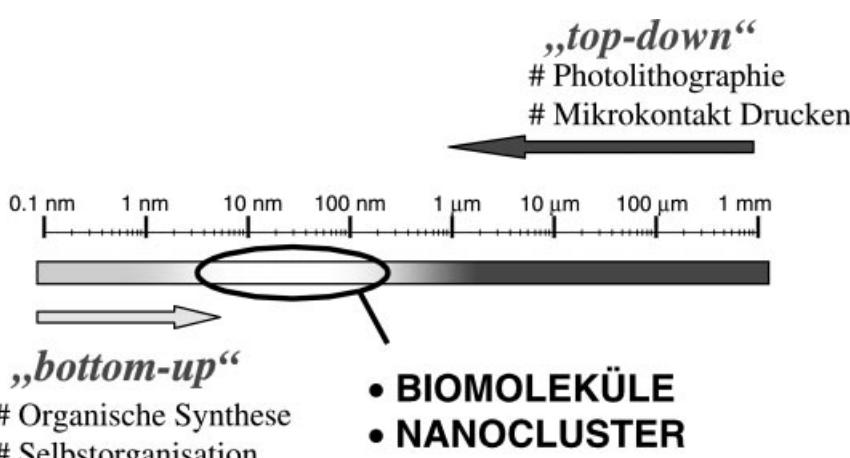


Abbildung 2. Mit konventionellen Top-down-Prozessen sind Strukturgrößen von weniger als ca. 100–200 nm nur unter großem Aufwand herstellbar, dagegen liegen die Grenzen herkömmlicher Bottom-up-Prozesse im Bereich von ca. 2–5 nm. Wegen ihrer Dimensionen sind zwei Arten von Bausteinen geeignet, um die Lücke zwischen 5 und 200 nm zu schließen: biomolekulare Komponenten wie Proteine und Nucleinsäuren und kolloidale Nanopartikel aus Metall oder Halbleitermaterialien.

gruppen genutzt werden können, um die Selbstorganisations-eigenschaften von Nanopartikeln zu verbessern, sodass damit nanostrukturierte und mesoskopische, supramolekulare Hybridarchitekturen zugänglich werden. Darüber hinaus werden aktuelle Ansätze vorgestellt, in denen Nanopartikel als Werkzeuge für die Untersuchung biomolekularer Wechselwirkungen eingesetzt werden.

2. Kupplung von Nanopartikeln und Biomolekülen

Die bioorganische und die bioanorganische Chemie bilden als interdisziplinäre Forschungsfelder die Basis für eine Zusammenführung von Biotechnologie und Materialwissenschaften. Beispielsweise werden seit vielen Jahren bioorganische Modellsysteme ausgearbeitet, um mechanistische Studien zum Verständnis biologischer Prozesse durchzuführen, oder um chemische Methoden für die Handhabung und Manipulation biologischer Komponenten zu erproben.^[27, 28] In Analogie zu den Wechselwirkungen, die häufig zwischen Aminosäureseitengruppen und Metallatomen in den Reaktionszentren von Enzymen auftreten, bieten auch die Wechselwirkungen zwischen organischen Liganden und der Oberfläche eines Metall- oder Halbleiter-Nanopartikels einen Ansatz, biomolekulare Erkennungseinheiten mit dem Partikel zu verknüpfen und damit neue Materialien aufzubauen. Obwohl anorganische Nanopartikel aus verschiedensten Materialien über eine Vielzahl von Methoden herstellbar sind,^[9, 10, 13–15] wurden bislang zu deren Kupplung und Funktionalisierung mit biologischen Komponenten nur wenige chemische Methoden eingesetzt. Beispiele sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Typischerweise wird die nasschemische Synthese von Nanopartikeln in Gegenwart stabilisierender Agenzien durchgeführt, z. B. Citrat, Phosphane oder Thiole, die an die Oberflächenatome der Nanopartikel koordinieren. Dieses so

genannte „Capping“ bewirkt eine Passivierung und verhindert das unkontrollierte Wachstum und die Aggregation der Partikel. Im Falle labiler Passivierungsgruppen, z. B. Citrat, können Austauschreaktionen mit stärker bindenden Liganden genutzt werden, um Biomoleküle direkt mit den Partikeln zu verknüpfen (Abbildung 3). Dieser Weg wird normalerweise genutzt, um kolloidales Gold mit Thiol-haltigen Proteinen zu beschichten, z. B. Immunglobuline (IgG) oder Serumalbumine mit freien Cystein-Resten, die für die heterogene Interphasenkupplung zugänglich sind. Wenn solche Aminosäurereste im nativen Protein nicht verfügbar sind, können Thiolreste mit Traut-Reagens, 2-Iminothiol^[29] oder durch genetische Veränderungen eingeführt werden. DNA-Moleküle mit Alkylthiolresten am 3'- oder 5'-Ende sind synthetisch zugänglich, indem entsprechende Phosphoramidit-Vorläufer in der Festphasensynthese eingesetzt werden. So wurde *n*-alkylthiolierte DNA bereits vielfältig verwendet, um DNA-funktionalisierte Gold- und Halbleiter-Nanopartikel herzustellen (Tabelle 1). Als interessante Alternative wurden DNA-Oligomere eingesetzt, die endständig mehrere Adenosyl-Phosphothioatgruppen enthielten und somit direkt mit der Metalloberfläche von Nanopartikeln interagieren.^[30, 31] Bei Verwendung cyclischer Disulfidlinker, z. B. **1**^[32] und **2**^[33] in Abbildung 3, werden modifizierte Nanopartikel gebildet. Diese weisen eine größere Stabilität gegenüber Ligandenaustauschreaktionen auf als vergleichbare mit konventionellen Reagentien hergestellte Konjugate, die nur eine einzelne Thiolgruppe oder acyclische Disulfideinheiten enthalten. Die verbesserte Stabilität dürfte auf der Verankerung der Liganden mit den Nanopartikeln durch zwei Schwefelatome beruhen.^[33]

Bei einer Stabilisierung der Nanopartikel mit anionischen Liganden, z. B. Citrat oder Liponsäure **1**, erfolgt die Kupplung der Biomoleküle häufig über nichtkovalente elektrostatische Wechselwirkungen. So lassen sich nach der Citrat-Methode hergestellte Gold- oder Silbernanopartikel mit IgG-Molekülen funktionalisieren, indem die Adsorption bei pH-Werten

Tabelle 1. Kupplung anorganischer Nanopartikel mit Biomolekülen.

Partikel	Linker	FG	Biomolekül	Literatur
Au	-	HS-Cys	Immunglobuline; Serumalbumine;	[34, 152]
Au	Citrat	H ₂ N-Lys ^[a]	Proteine	[156, 217]
Au	Streptavidin	Biotin-(CH ₂) ₆ -	Immunglobuline; Serumalbumine;	[218]
Au	3		Immunglobuline; Streptavidin	[42]
Au	Streptavidin	Biotin-(CH ₂) ₆ -	DNA	[148e, 219]
Au	-	HS-(CH ₂) ₆ -	DNA	[77, 82]
Au	-	(HS-PO ₃ R ₂) ₅ -	DNA	[30, 31]
Au	2		DNA	[33]
Au	4	HOOC-Glu	Proteine	[43]
Au	5	HS-Cys	Proteine	[158]
Ag	Citrat	H ₂ N-Lys ¹⁾	Häm-Proteine, Immunglobuline	[35, 36, 166]
ZnS		HS-Cys	Gluthathion	[47]
CdS		HS-Cys	Peptide	[46]
CdS	Cd ²⁺ ; HS-(CH ₂) ₂ -OH ^[a]		DNA	[39, 41]
CdSe/ZnS ^[b]		HS-(CH ₂) ₆ -	DNA	[79]
CdSe/CdS/SiO ₂ ^[b]	6	NHS-Biotin	Streptavidin;	[17]
CdSe/ZnS ^[b]	HS-(CH ₂)-COOH	H ₂ N-Lys	Immunglobulin; Transferrin	[18]
CdSe/ZnS ^[b]	1	H ₂ N-Lys ^[a]	Leucin-Reißverschluss-Fusions-Proteine	[32]
SnO ₂ , TiO ₂	HOOC-(CH ₂) _n -NH ₂	HOOC-Glu	Proteine ^[c]	
GaAs, InP	Phosphoranide-NH ₂	HOOC-Glu	Proteine ^[c]	[220]

Beispiele für chemische Wechselwirkungssysteme, die zur Kupplung von biologischen Komponenten und Nanopartikeln genutzt wurden (FG = funktionale Kupplungsgruppe, siehe Abbildung 3). [a] Adsorption durch Coulomb-Wechselwirkungen. [b] Kern/Schale-Nanopartikel. [c] Vorhersagbar aus Studien zur Bindung von Nanopartikeln an analog-modifizierte Substrate.

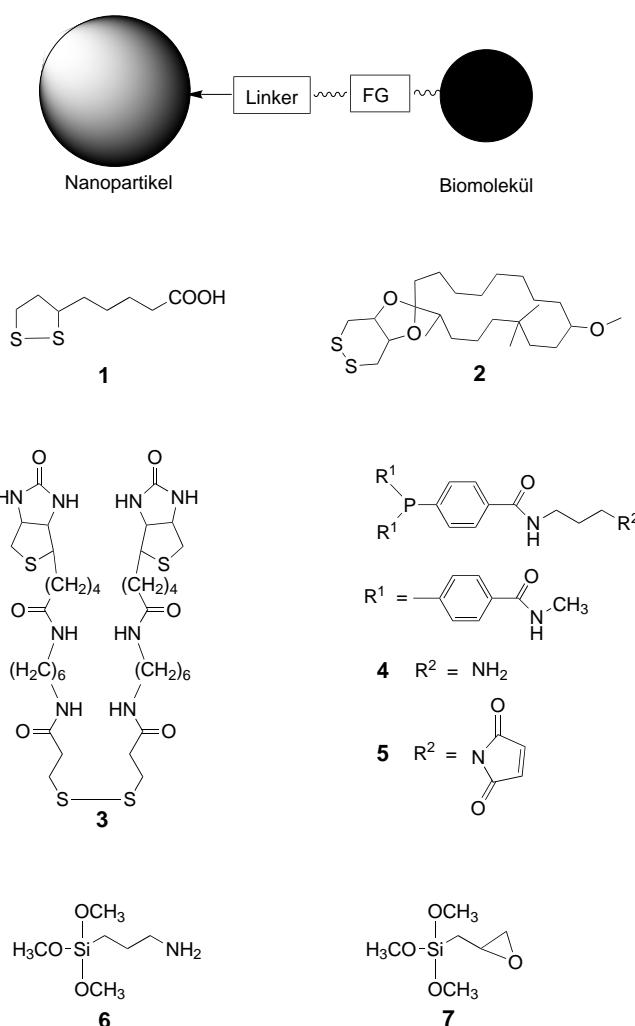


Abbildung 3. Allgemeine schematisierte Darstellung von Methoden mit denen anorganische Nanopartikel und Biomoleküle verknüpft werden können (FG = funktionale Kupplungsgruppe). Repräsentative Strukturen typischer Linker sind darunter aufgeführt (siehe auch Tabelle 1).

oberhalb des isoelektrischen Punktes der Citratgruppen durchgeführt wird.^[34] Dieses Vorgehen bewirkt eine effiziente Bindung des Proteins über positiv geladene Aminosäureseitenketten an die Kolloide. Das optimale Kupplungsverhältnis von Protein zu Kolloid kann mit einem Flockulationsassay bestimmt werden. Die Zugabe von Elektrolyten zu Gold- oder Silbernanopartikeln bewirkt eine Konglomeration der Partikel, da die Ladungsdoppelschicht abgeschirmt wird, die normalerweise die Partikel stabilisiert. Diese Konglomeration kann in einfacher Weise über die Abnahme und/oder die Rotverschiebung der Plasmonen-Absorptionsbande bei ca. 520 nm photometrisch verfolgt werden.^[35] Die Adsorption von Proteinen stabilisiert die Metallpartikel und verhindert deren Konglomeration durch sterische Abstoßung. Die Menge an stabilisierendem Protein, die zur Vermeidung der Konglomeration benötigt wird, lässt sich bestimmen, indem Proben des Kolloids, die mit unterschiedlichen Mengen Protein beschichtet wurden, einer erhöhten Elektrolytkonzentration ausgesetzt werden. Häufig korreliert die benötigte Menge mit einer einzelnen Monolage des Proteins auf der Oberfläche der Nanopartikel. Weitere Beispiele für die

Modifikation von Kolloiden durch elektrostatische Wechselwirkungen sind die gerichtete Adsorption Häm-haltiger Redoxenzyme an Citrat-stabilisierte Silbernanopartikel^[36-38] sowie die Bindung basischer Leucin-Reißverschluss-Proteine an Halbleiter-Nanoteilchen, die mit **1** stabilisiert sind.^[32] Auch die Adsorption von DNA-Molekülen an mit positiven oder neutralen Liganden stabilisierte CdS-Nanopartikel wurde detailliert untersucht.^[39-41] Ein grundsätzlich anderer Ansatz, der auf einer Kombination verschiedenartiger nichtkovalenter Wechselwirkungen beruht, nutzt spezifische Rezeptor-Ligand-Erkennungssysteme zur Kupplung von Nanopartikeln und Biomolekülen. So führt die Chemisorption von **3** (Abbildung 3) an kolloidales Gold zur Anknüpfung von Biotin-Gruppen, die durch komplementäre Rezeptoren wie (Strept)Avidin oder Antikörper gegen Biotin spezifisch erkannt und gebunden werden.^[42]

Weitere Methoden nutzen Thiole, Disulfide oder Phosphane wie **1**, **4** und **5** in Abbildung 3, die über terminale Carboxyl-, Amino- oder Maleinsäureimidgruppen verfügen. Die Kupplung der biologischen Komponenten erfolgt durch Carbodiimid-vermittelte Veresterung oder Amidierung bzw. durch Reaktion mit Thiolgruppen. Diese Strategie wird typischerweise in histologischen Verfahren eingesetzt, um Proteine mit den wohldefinierten 0.8 nm großen Undecagoldnanoclustern zu kuppeln, die mit Arylphosphanen und dem Ligand **5** passiviert sind (Abbildung 4).^[43] Darüber hinaus wurden diese mono-Maleinsäureimid-funktionalisierten Goldcluster mit thiolierter DNA gekuppelt, um Sonden für den Nucleinsäurenachweis^[44] oder um nanokristalline Moleküle herzustellen (Abschnitt 3.2.2).^[45]

Zahlreiche Beispiele beschreiben die Synthese von Halbleiter-Nanopartikeln in Gegenwart von Thiolliganden,^[9-16] und in einigen speziellen Fällen wurde über die Biosynthese von Cystein- oder Gluthathion-stabilisierten CdS- und ZnS-Kolloiden^[46, 47] oder über die effiziente Kolloidsynthese von Gramm-Mengen wasserlöslicher, nanokristalliner ZnS-Pulver berichtet.^[48] Mercaptoessigsäure-passivierte^[*] CdTe-Nanoteilchen wurden mit Streptavidin über dessen ε-Aminogruppen durch kovalente Amidbindungen verknüpft.^[49] Die Oberfläche von Cd/Chalkogen-Nanoteilchen kann auch mit SiO₂ beschichtet werden, sodass die Hydroxygruppen der SiO₂-Oberfläche für die kovalente Anbindung von Biomolekülen zur Verfügung stehen. Hierzu werden die Partikel zunächst mit kommerziell erhältlichen Silanen behandelt, z. B. **6** und **7** in Abbildung 3. Diese häufig für die Biofunktionalisierung größerer SiO₂-Mikropartikel eingesetzte Vorgehensweise wurde z. B. gewählt, um SiO₂-beschichtete Kern(CdSe)-Schale(CdS)-Partikel mit Biomolekülen zu kuppeln.^[17] Wenn die anorganischen Nanoteilchen mit einer bioorganischen Hülle umgeben sind, wie dem Polypeptidgerüst von remineralisiertem Ferritin (Abschnitt 4.3), lässt sich das gesamte Spektrum der chemischen Methoden zur Proteinmodifikation anwenden, um weitere Funktionalisierungen und Kupplungen durchzuführen.

Diese Beispiele zeigen, dass bereits einige chemische Verfahren ausgearbeitet wurden, um anorganische und bio-

[*] In diesem Beitrag wird das allgemein gebräuchliche Präfix Mercapto- dem nach IUPAC-Regeln korrekten Präfix Sulfanyl- vorgezogen.

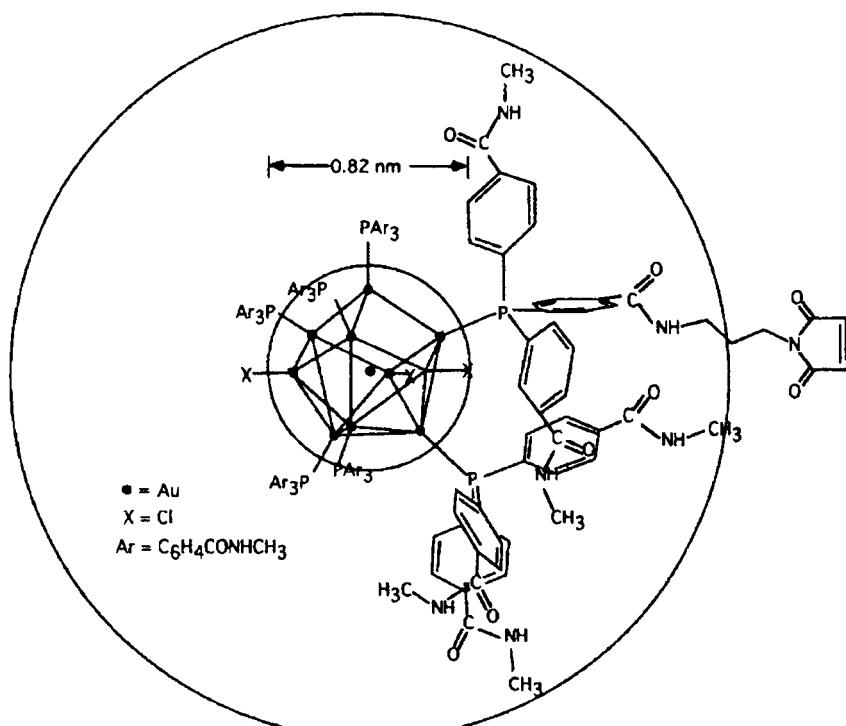


Abbildung 4. Molekulare Struktur eines Undecagoldclusters, der mit Phosphanliganden passiviert ist. Eine einzelne Maleinsäureimidgruppe pro Goldcluster gestattet die chemische Kupplung mit thiolierten Verbindungen. Reproduziert von der Internet-Webseite <http://www.nanoprobe.com>.

logische Komponenten zu verknüpfen. Trotzdem besteht ein großer Bedarf nach neuen, alternativen Methoden, um die typischen Probleme zu lösen, die bei der Biofunktionalisierung anorganischer Nanopartikel auftreten, insbesondere die Vermeidung aggressiver Reaktionsbedingungen, die häufig zur raschen Inaktivierung der empfindlichen Biomoleküle führen. Auch müssen Ligandenaustauschprozesse an der Kolloidoberfläche unterdrückt werden, um stabile Biokonjugate herzustellen. Darüber hinaus stellt die Synthese stöchiometrisch exakt definierter Nanopartikel-Biomolekül-Addukte die wohl größte Herausforderung dar, um den Aufbau wohldefinierter Nanoarchitekturen realisieren zu können.

3. Biomolekulare Organisation von Nanopartikeln

Vielfältige Ansätze wurden beschrieben, um zwei- und dreidimensionale Anordnungen von Metall- und Halbleiter-Nanopartikeln herzustellen,^[11–13, 15] z. B. indem ein Einschluss der Teilchen in Gele oder glasartige Matrices, die Abscheidung der Teilchen auf strukturierten Oberflächen oder die chemische Kupplung durch divalente Crosslinker erfolgte. So wurden z. B. Alkyldithiole eingesetzt, um Goldkolloide zu makroskopischen Netzwerken zu verknüpfen.^[50] In analoger Weise können auch Biomoleküle als Crosslinker eingesetzt werden (Abbildung 5). Hierzu werden die Nanopartikel zunächst in zwei unterschiedlichen Ansätzen mit individuellen Erkennungsgruppen funktionalisiert, die entweder zueinander komplementär oder aber komplementär zu einem Linker sind (Abbildung 5A bzw. B). Beim Zusammenführen der Partikelcharge bildet sich, durch die spezifische Affinität

der beiden Biomoleküle, ein ausgedehntes Netzwerk, das in vielen Fällen bis hin zu makroskopischen Materialien anwachsen kann. Die Motivation zur Untersuchung solcher unkonventionellen Kupplungssysteme liegt hierbei vor allem in den einzigartigen Eigenschaften biomolekularer Linker, die neuartige Anwendungen wie die Herstellung feinabstimmbarer und/oder schaltbarer Materialien ermöglichen sollten. Insbesondere die hochspezifischen Erkennungseigenschaften von Biomolekülen und die Möglichkeiten, biologische Komponenten mit bioorganischen, biochemischen und biologischen Reagentien und Verfahren spezifisch zu manipulieren und zu detektieren, könnten gänzlich neue Wege eröffnen, funktionale Materialien nach rationalen Kriterien herzustellen.

3.1. Protein-basierte Erkennungssysteme

Die in Abbildung 5 dargestellten Ansätze zur Verknüpfung von Nanopartikeln können mit Erkennungssystemen auf Proteinbasis realisiert werden. In einem der ersten

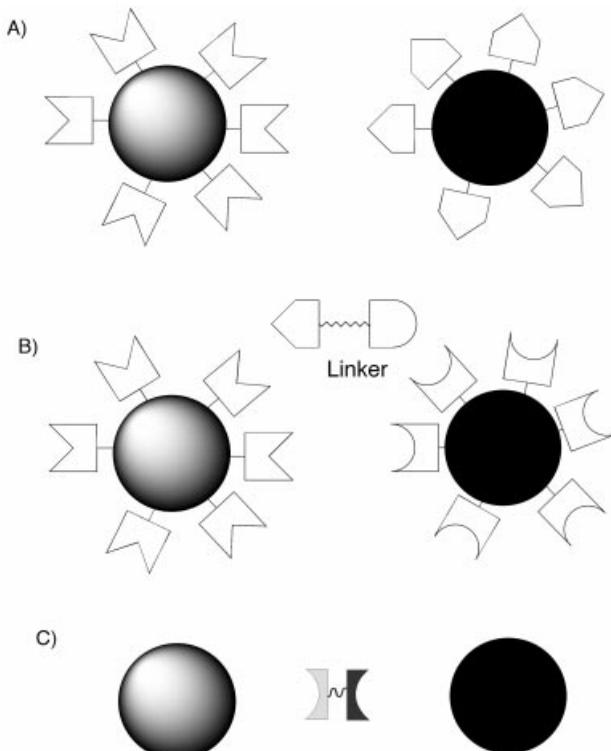


Abbildung 5. Kupplung von Nanopartikeln mit biomolekularen Erkennungsgruppen. A) Zwei Sätze von Nanopartikeln werden in getrennten Ansätzen mit Erkennungsgruppen functionalisiert, die zueinander komplementär sind. B) Die Erkennungsgruppen sind nicht zueinander komplementär, können aber durch einen spezifischen Linker verbrückt werden. C) Für die Aggregation wird ein divalenter Linker verwendet, der die Oberflächen der Nanopartikel spezifisch erkennt.

Beispiele hierfür wurde die spezifische Wechselwirkung zwischen Antikörpern und niedermolekularen organischen Verbindungen, so genannte Haptene, genutzt,^[34] um Nanopartikel zu vernetzen, die zuvor mit Antikörpern gegen das Hapten beschichtet worden waren (Abbildung 6). Shenton et al. funktionalisierten hierzu Gold- und Silbernanopartikel mit Immunglobulinen der Klasse G und E (IgG bzw. IgE), die

eine spezifische Bindungsfähigkeit für d-Biotin oder die Dinitrophenyl(DNP)-Gruppe aufwiesen.^[34] Um die Vernetzung der IgG-modifizierten Nanoteilchen zu erreichen, wurden divalente Linker synthetisiert, die endständig über zwei Haptengruppen verfügten. So wurde der zwei DNP-Gruppen enthaltende monospezifische Linker **8** (Abbildung 6) oder der dispezifische Linker **9** eingesetzt, um die gerichtete Organisation von homooligomeren bzw. von heterodimeren Aggregaten zu induzieren. Die hierbei entstandenen Niederschläge wurden durch Transmissions-Elektronen-Mikroskopie (TEM) charakterisiert, wobei ausgedehnte Aggregate der Nanopartikel beobachtet wurden. Im Falle der dimetallischen Ag-Au-Netzwerke war das Ausmaß der Organisation jedoch nicht so hoch, wie für einen Oligomerisierungsprozess auf der Basis hochspezifischer biomolekularer Erkennung zu erwarten gewesen wäre. Dies legt nahe, dass weitere Verbesserungen dieses Ansatzes einem ausgereifteren Design der Antikörper-Antigen-Verbindung bedürfen.^[34]

In weiteren Ansätzen zur Organisation von Nanopartikeln mit Protein-basierten Erkennungssystemen wurde die einzigartige Wechselwirkung zwischen dem Biotin-Bindungsprotein Streptavidin (STV) und seinem niedermolekularen Liganden d-Biotin genutzt.^[42, 51] Die außerordentlich hohe Affinitätskonstante von $10^{14} \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1}$ bei der Bindung des wasserlöslichen Biotins (Vitamin H) an das homotetramere STV kennzeichnet die stärkste Rezeptor-Ligand-Wechselwirkung, die gegenwärtig bekannt ist.^[52] Ein weiterer Vorteil des STV ist dessen extreme chemische und thermische Stabilität. Da biotinylierte Komponenten häufig kommerziell erhältlich oder durch eine Vielzahl milder Biotinylierungsverfahren zugänglich sind, bilden STV-Biotin-Konjugate die Basis zahlreicher diagnostischer und analytischer Tests.^[53]

Connolly und Fitzmaurice nutzten die Biotin-STV-Wechselwirkung, um Goldkolloide zu organisieren, die durch chemisorptive Kupplung mit **3** funktionalisiert worden waren.^[42] Dem in Abbildung 5B verallgemeinerten Prinzip folgend wurde die anschließende Vernetzung durch die Zugabe von STV als Linker erreicht. Der unmittelbare Farbumschlag der kolloidalen Suspension von rot nach blau zeigte die Bildung oligomerer Netzwerke an. Dieser Prozess wurde auch durch dynamische Lichtstreuung (DLS = dynamic light scattering) untersucht, eine Methode mit der der durchschnittliche hydrodynamische Radius aller in einer Lösung vorhandenen Partikel bestimmbar ist. DLS-Messungen zeigten, dass der hydrodynamische Radius der Partikel im Zuge der STV-induzierten Organisation rasch anstieg (Abbildung 7A). Darüber hinaus zeigten TEM-Aufnahmen, dass Netzwerke ausgebildet wurden, die im Durchschnitt ca. 20 verknüpfte Partikel enthielten, deren Abstand gemäß dem Durchmesser des STV-Moleküls etwa 5 nm betrug. Röntgenkleinwinkelstreuungsexperimente (SAXS = small angle X-ray scattering) wurden durchgeführt, um auszuschließen, dass die Struk-

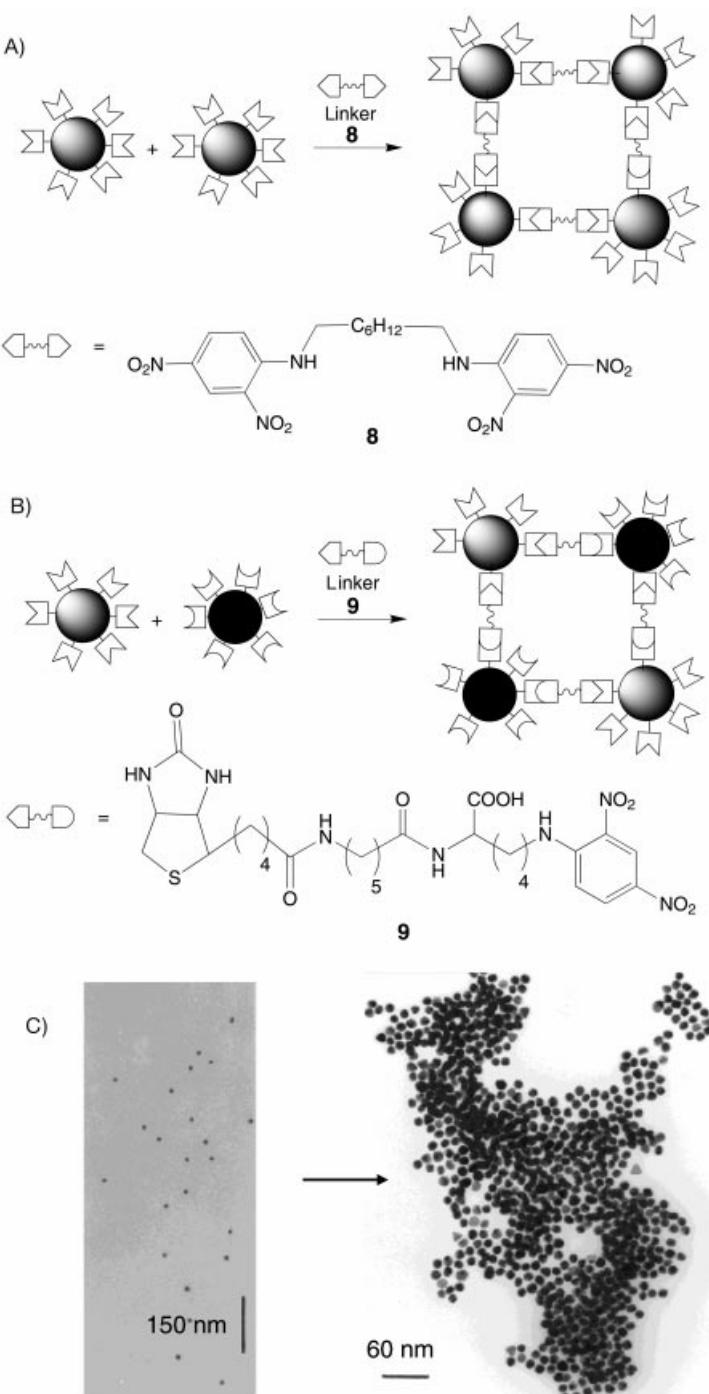


Abbildung 6. Verknüpfung von Gold- und Silbernanopartikeln, die mit IgG-Molekülen funktionalisiert sind. Divalente Linker mit zwei terminalen Haptengruppen, monospezifisches **8** oder dispezifisches **9** ermöglichen die Selbstorganisation von homooligomeren (A) bzw. heterodimeren (B) Partikelaggregaten. Die TEM-Aufnahmen (C) wurden von Antikörper-funktionalisierten Goldkolloiden vor (links) und nach (rechts) der Zugabe von **8** erhalten (Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [34]).

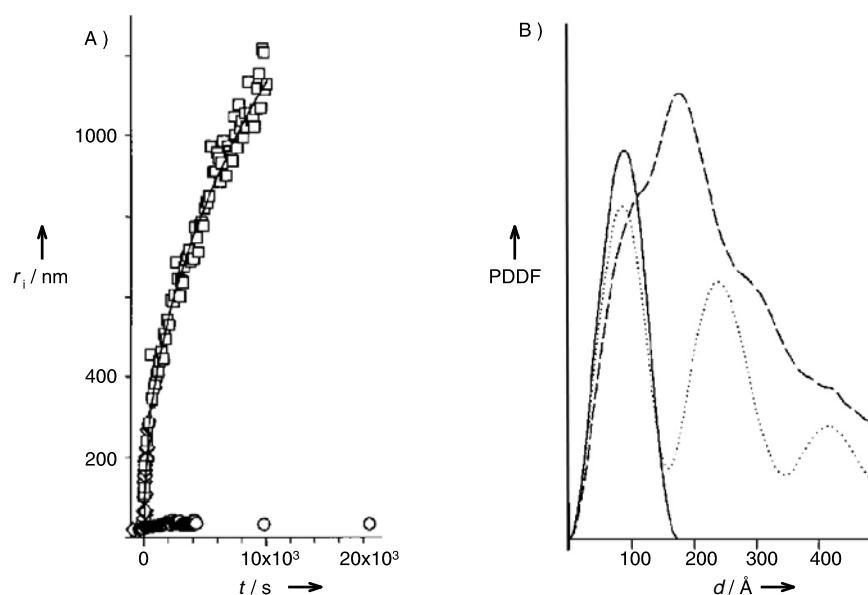


Abbildung 7. Charakterisierung der STV-vermittelten Vernetzung von mit **3** modifizierten Goldnanopartikeln. A) DLS-Messung zur Bestimmung des durchschnittlichen hydrodynamischen Radius (r_i) aller Partikel in Lösung. Das rasche Größenwachstum nach der Zugabe von STV zeigt die Aggregation der mit **3** modifizierten Partikel (Quadratzeichen). Die Kontrollreaktion mit unmodifizierten Partikeln (Kreise) bestätigt, dass die Zunahme von r_i wegen der spezifischen Biotin-STV-Interaktion erfolgt. B) Das SAXS-Experiment zeigt die PDDF, die unter drei verschiedenen Bedingungen erhalten wurden. Dispergierte Goldkolloide (durchgezogene Linie) zeigen ein einzelnes Maximum, während für STV-verknüpfte Aggregate (gepunktete Linie) Maxima beobachtet werden, die eine Au-Teilchengröße von 16 nm und einen Partikelabstand von 4 nm anzeigen. Die Aggregation durch hohe Salzkonzentrationen (gestrichelte Linie) ergibt Maxima, die sich berührende, sphärische Partikel anzeigen (Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [42]).

tur der Kolloidaggregate durch die Adsorption der Partikel an die für TEM-Messungen verwendeten Graphitsubstrate beeinflusst wurde (Abbildung 7B). SAXS-Messungen erlauben Aussagen über die Struktur der Partikel-Netzwerke in Lösung, da die Winkelabhängigkeit der Intensität der gestreuten Röntgenstrahlung quantitativ von der Größe und der Form der Aggregate abhängt. Dies gestattet, Paar-Abstands-Verteilungsfunktionen (PDDF = pair-distance distribution function) zu berechnen, die die Anzahl der Streuzentrenpaare als Funktion ihres Abstandes beschreiben. SAXS-Messungen von nicht aggregierten Proben zeigten erwartungsgemäß ein einzelnes Maximum in der PDDF, welches das Vorliegen dispergierter Partikel anzeigt. Im Falle der STV-verknüpften Nanopartikel wurden zum größten Teil Trimere der Goldpartikel mit etwa 16 nm Durchmesser beobachtet, die einen Minimalabstand von 4 nm aufwiesen.^[42]

Im Einklang mit früheren Arbeiten^[51] zeigen diese Ergebnisse, dass das Biotin-STV-System ein sehr nützliches und allgemein einsetzbares Kupplungssystem ist, um neue Strategien zur Selbstorganisation von Nanoteilchen in Lösung oder an Substraten zu entwickeln. Die Anwendbarkeit des Biotin-STV-Systems zum Aufbau supramolekularer Aggregate wird durch die Verfügbarkeit vieler verschiedener Biotin-Analoga^[54, 55] und rekombinanter STV-Mutanten^[56–61] noch verbessert. Hierdurch kann ein weiter Bereich von Geschwindigkeits- und Gleichgewichtskonstanten bei der Aggregation eingestellt werden, um eine Feinabstimmung der dynamischen und strukturochemischen Eigenschaften kolloidaler Hybridmaterialien zu erreichen. Es wurde vermutet, dass

die intensive Nutzung von Protein-basierter Selbstorganisation zu einer Art „Fabrik der Zukunft“ führen könnte, in der die Nanofabrikation von räumlich definierten Partikelaggregaten durch Bottom-up-Synthese mit verschiedenen spezifischen biomolekularen Erkennungsgruppen durchgeführt wird.^[62] Falls solch ein Szenario tatsächlich realisiert werden sollte, könnte es drastisch von den Fortschritten der modernen Biotechnologie profitieren, mit der neuartige Proteinkomponenten durch gezielte Evolution maßgeschneidert werden können. Die DNA-Rekombinations-Technologie hat bereits zur Entwicklung artifizieller hochaffinier Linkersysteme geführt, z.B. Antikörper mit einer Spezifität gegen Digoxigenin- und Fluorescein-Haptene^[63, 64] oder gegen kurze Peptide wie die 9-mer-FLAG-Sequenz.^[65, 66] Die Anwendbarkeit dieser Kupplungssysteme wurde bereits in zahlreichen diagnostischen Assays gezeigt, und es ist naheliegend, dass sie auch zum Aufbau von Netzwerken anorganischer Nanopartikel erfolgreich eingesetzt werden können.

Die Leistungsfähigkeit der modernen biotechnischen Methoden wurde kürzlich unter Beweis gestellt, indem Proteinlinker de novo erzeugt wurden, die definierte Oberflächen von Halbleitermaterialien spezifisch erkennen. Bei Verwendung solcher Linker entfällt die vorherige chemische Funktionalisierung von Partikeln (Abbildung 5C). Belcher et al. nutzten Phagen-Display, um 12-mer-Peptide zu selektionieren, die spezifisch an bestimmte Halbleiteroberflächen binden.^[67] Hierzu wurde eine kombinatorische Bibliothek aus etwa 10^9 12-mer-Peptiden durchmustert, um Phagen-Klone zu finden, die eine Bindungsspezifität für einen von fünf Einkristall-Halbleitern, GaAs(100), GaAs(111)A, GaAs(111)B, InP(100), und Si(100), aufwiesen. Diese Substrate waren ausgewählt worden, um eine systematische Untersuchung von Peptid-Substrat-Wechselwirkungen zu ermöglichen. So wurde eine spezifische Bindung von Peptiden beobachtet, die selektiv für die Kristallzusammensetzung (z.B. Bindung an GaAs, aber nicht an Si) oder für die Kristallform ist (z.B. Bindung an GaAs(100), aber nicht an GaAs(111)B). Abbildung 8 zeigt, dass Klon G12-3 spezifisch an ein GaAs-Muster bindet, dabei jedoch keine Bindung an die SiO_2 -Bereiche stattfindet, die sich auf dem selben Substrat befinden. Mit diesem Klon konnte sogar zwischen den zwei Zinkblende-Kristallformen GaAs und AlAs unterschieden werden, die beinahe identische Gitterkonstanten von 5.66 Å bzw. 5.65 Å haben. Die Bindung von G12-3 erfolgte spezifisch am GaAs-Substrat.

Ob die Grundlage für eine solche Selektivität auf chemischen, strukturellen oder elektronischen Ursachen beruht, wird noch untersucht. Die Substrate weisen unterschiedliche Reaktivitäten auf, und somit ist die beobachtete Selektivität

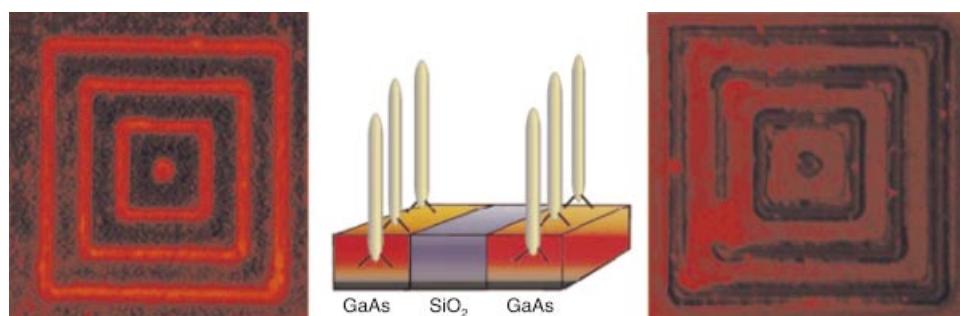


Abbildung 8. Erkennung anorganischer Halbleiteroberflächen durch Bakteriophagen, die durch Phagen-Display aus einer kombinatorischen Bibliothek von Polypeptiden isoliert wurden. Das Schema in der Mitte skizziert die spezifische Bindung der Phagen an die 1 μm breiten Linien aus GaAs, die durch 4 μm breite SiO_2 -Regionen abgetrennt sind. In der linken Abbildung wird die Bindung des Phagen durch einen Fluorophor-markierten Antikörper sichtbar gemacht, der die fluoreszente Hervorhebung des GaAs Linien bewirkt. In der rechten Abbildung ist die Kontrolle dargestellt, in der die Anfärbsungsreaktionen ohne vorherige Behandlung mit den Phagen durchgeführt wurden (Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [67]).

der Peptid-tragenden Phagen nicht sonderlich überraschend. Sogar im Falle verschiedener GaAs-Oberflächen sollte sich die Zusammensetzung der Oberflächenoxide deutlich von einander unterscheiden, sodass daraus auch unterschiedliche Wechselwirkungen mit dem Peptid resultieren. Die Sequenzanalyse der verschiedenen Klone ergab, dass im Durchschnitt etwa 40 % polare und etwa 50 % Lewis-basische funktionelle Gruppen in den Peptiden auftreten. Die statistische Häufigkeit der Lewis-basischen Aminosäuren beträgt lediglich 34 %. Dies legt nahe, dass die Wechselwirkung zwischen peptidischen Lewis-Basen und Lewis-sauren Plätzen des Substrates eine wichtige Rolle für die spezifische Erkennung spielt.^[68] Derartig selektierte Peptide könnten für die Entwicklung dispezifischer Linker genutzt werden, die die Bindungsfähigkeit für zwei verschiedene Halbleiter- oder Metalloberflächen haben (Abbildung 5C). Hiermit könnten neuartige Bottom-up-Ansätze realisiert werden, um komplexe Heterostrukturen aus Nanopartikeln aufzubauen.^[67] Darüber hinaus trägt diese Arbeit auch zum grundlegenden Verständnis der Biomineralisation bei, da in diesem Prozess die Bildung keramischer Materialien durch Proteine beeinflusst wird, die spezifisch mit den wachsenden Kristalliten interagieren (Abschnitt 5.4.2).

Mechanische Hybridelemente aus nanostrukturierten anorganischen Komponenten und biomolekularen Funktionseinheiten wurden aus DNA^[69] und kürzlich auch aus Motorproteinen aufgebaut.^[70] Zur Herstellung letzterer wurde ein rekombinantes F₁-ATPase-Motorprotein auf 80 nm breiten Ni-Säulen immobilisiert und anschließend mit einem ca. 1000 nm langen Nanopropeller gekuppelt. Das ATPase-Molekül, das durch Hydrolyse von ATP ein Drehmoment von ca. 100 pN nm erzeugt,^[71] lässt den Propeller mit etwa 5 Umdrehungen pro Sekunde rotieren.

3.2. DNA-Basierte Nanopartikel-Aggregate

Die Verwendung von Biomolekülen für die Entwicklung nanotechnischer Funktionseinheiten ist von visionären Forschern bereits früh vorgeschlagen worden.^[72–74] DNA ist besonders geeignet, um als Konstruktionsmaterial in den

Nanowissenschaften eingesetzt zu werden.^[75, 76] Wegen ihrer Einfachheit und enormen Spezifität ermöglicht die Watson-Crick-Basenpaarung zwischen Adenin und Thymin (A–T) und Guanin und Cytosin (G–C), dass künstliche DNA-Rezeptoren in einfacher Weise programmiert werden können. Der Einsatz von DNA als molekulares Werkzeug ist besonders interessant, da jede beliebige DNA-Sequenz mit automatischen Methoden synthetisiert werden kann. Mit der Polymerasekettenreaktion (PCR) ist es außerdem möglich, einzelne Nucleinsäuremoleküle bis hin zu makroskopischen Mengen zu amplifizieren. Weitere interessante Eigenschaften von DNA sind ihre hohe physikalisch-chemische Stabilität und die große Starrheit kurzer Doppelhelices, sodass ein DNA-Fragment als Spacer und effektives starres Rückrad zwischen zwei an den Enden angebrachten, funktionellen Einheiten dienen kann. Zudem wird von der Natur ein kompletter „Werkzeugkasten“ hochspezifischer biomolekularer Reagenzien in Form von Ligasen, Nucleasen und anderen DNA-modifizierenden Enzymen zur Verfügung gestellt, mit dem das DNA-Molekül für den Aufbau funktionaler Nanostrukturen atomgenau verarbeitbar ist. Kein anderer (polymerer) Werkstoff bietet diese Eigenschaften, die ideal sind für molekulare Konstruktionsarbeiten im Bereich von etwa 5 nm bis hin zu einigen Mikrometern. Dieser Abschnitt (3.2.1) beschreibt Ansätze, DNA als Konstruktionsmaterial für nanopartikuläre Selbstorganisationen zu verwenden.

3.2.1. DNA-vermittelte Oligomerisierung von Nanopartikeln

Mirkin et al. haben die spezifische Hybridisierung komplementärer DNA-Moleküle genutzt, um repetitive Nanoclustermaterialien herzustellen (Abbildung 9). Dem in Abbildung 5B verallgemeinerten Schema folgend wurden in zwei separaten Reaktionsansätzen 13 nm große Goldkolloide durch Thiol-Adsorption mit Oligonucleotiden gekuppelt, die nicht zueinander komplementär sind.^[77] Als Linker wurde ein DNA-Duplex verwendet, der aus einer doppelhelicalen Region mit zwei kohäsiven Enden bestand, die komplementär zur Partikel-gebundenen DNA waren. Die Zugabe des Linkers zu den zwei DNA-modifizierten Goldkolloiden bewirkte die Aggregation und langsame Ausfällung eines makroskopischen DNA-Hybridmaterials. Die Reversibilität dieses Prozesses konnte durch temperaturabhängige UV/Vis-Spektroskopie nachgewiesen werden. TEM-Analysen machten deutlich, dass die oligomerisierten Aggregate dreidimensional verknüpft waren, da die einzelnen Kolloide viele DNA-Moleküle enthielten. TEM-Aufnahmen von Einzelschichten zeigten darüber hinaus, dass in den dicht gepackten Aggregaten der Kolloide sehr einheitliche Partikelabstände von ca.

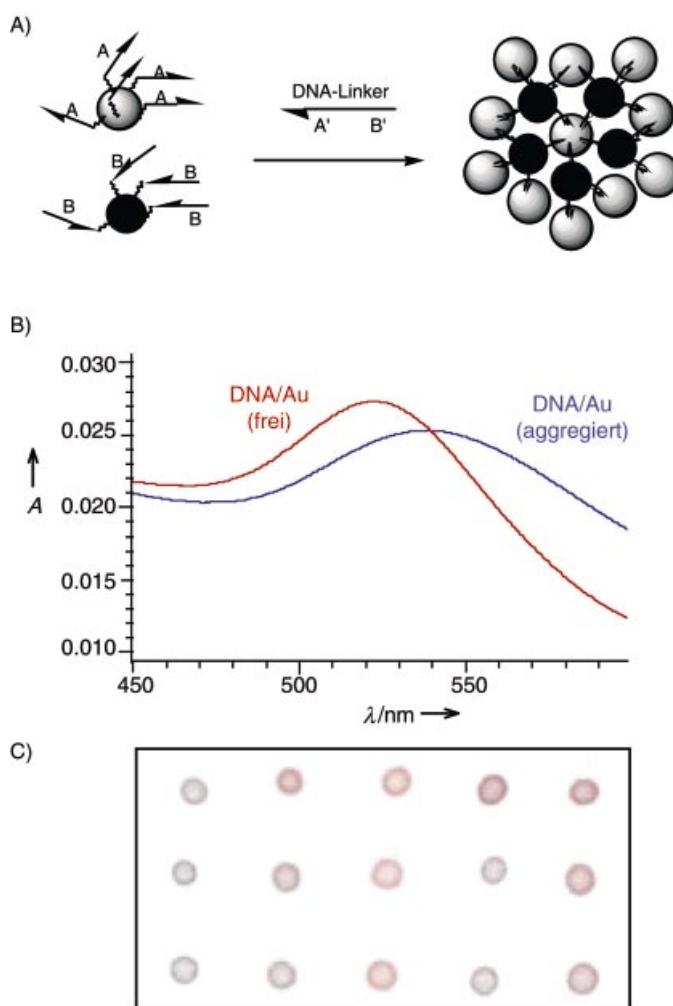


Abbildung 9. Selbstorganisation von Goldkolloiden durch DNA-Hybridisierung. A) Zwei Arten von Goldkolloiden werden mit Oligonukleotiden über deren 5'- oder 3'-Thiolgruppen modifiziert, die zueinander nicht komplementär sind. Die Zugabe einzelsträngiger Nukleinsäure als Linker führt zur Vernetzung der Nanopartikel. Die Vernetzung von Goldkolloiden führt zu einer charakteristischen Änderung in der Plasmonen-Absorption (B). Diese Farbänderung kann genutzt werden, um makroskopisch eine Hybridisierung von Nukleinsäuren nachzuweisen. Hierzu werden DNA-Au-Konjugate und eine Probe, die die nachzuweisende DNA enthält, auf einer hydrophoben Membran aufgetragen. Rote Flecken erscheinen wenn keine komplementäre DNA vorhanden ist, während blaue Flecken die Gegenwart komplementärer Ziel-DNA anzeigen. (C; Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [89]. Copyright 1999 American Chemical Society.)

6 nm auftraten. Dieser Abstand korreliert mit der Länge des DNA-Linkers.^[77]

Neuere Arbeiten von Mirkin et al. beschäftigten sich mit der Herstellung binärer Netzwerke. Beispielsweise wurden zwei Arten von Goldkolloiden mit einem Durchmesser von 40 nm oder 5 nm jeweils mit individuellen 12-mer-Oligonukleotiden gekuppelt und anschließend mit einem komplementären 24-mer-Oligonukleotid-Linker oligomerisiert.^[78] Wegen der Spezifität der Watson-Crick-Basenpaarung entstehen hierbei ausschließlich heterodimere „A–B“-Komposite, in denen die unterschiedlichen Partikel alternierend angeordnet sind (Abbildung 9). Wird jedoch ein Überschuss einer Partikelart eingesetzt, können auch Aggregate in Form von Satellitenstrukturen erhalten werden, wie durch

TEM-Messungen gezeigt wurde. Nach der gleichen Methode wurden auch Oligonukleotid-funktionalisierte CdSe/ZnS-Quantenpunkte und Goldkolloide zu einem binären Netzwerk verknüpft.^[79] Die TEM-Analyse der Produkte zeigte, dass die hybriden Metall/Halbleiter-Aggregate die erwartete A–B-Struktur aufwiesen. Fluoreszenz- und Elektronenabsorptionsspektroskopie gaben Hinweise auf kooperative optische und elektronische Phänomene in diesen DNA-vernetzten Materialien. Eine Oligomerisierung DNA-modifizierter Goldkolloide nach dem in Abbildung 9 illustrierten Prinzip kann auch durch Konjugate aus Oligonukleotiden und dem Protein STV erreicht werden. Interessanterweise werden hierbei die Oligomere als thermodynamisch stabilere Form erst dann gebildet, wenn die kinetisch bevorzugten Initialkomplexe erhitzt werden.^[80]

Grundlegende Untersuchungen an DNA-verknüpften Goldkolloiden haben sich mit dem Einfluss der Länge des DNA-Spacers auf die optischen^[81] und elektronischen^[82] Eigenschaften der Netzwerke beschäftigt. Diese Experimente legen nahe, dass die Linkerlänge kinetisch die Größe der Aggregate kontrolliert und die optischen Eigenschaften der Nanopartikel-Aggregate durch die Ausmaße dieser Netzwerke bestimmt werden.^[81] Im Unterschied dazu wurde beobachtet, dass die elektrischen Eigenschaften getrockneter DNA-Nanopartikel-Aggregate nicht durch die Linkerlänge beeinflusst werden. Zwar zeigen SAXS-Messungen deutlich, dass in wässriger Lösung der Teilchenabstand mit der Länge des Linkers korreliert, aber im Zuge der Trocknung kollabieren die Netzwerke und bilden ein Bulkmaterial aus Nanopartikeln, die von einer isolierenden Schicht DNA umgeben sind. Diese Materialien zeigen Halbleitereigenschaften die nicht von der Länge des DNA-Linkers beeinflusst sind.^[82]

Trotz dieser Fortschritte ist noch immer wenig über die Möglichkeiten bekannt, solche Netzwerke von DNA-verknüpften Nanopartikeln zu manipulieren und modifizieren, also z.B. Methoden zu entwickeln, um die Struktur und Topographie der DNA-Nanopartikel im Anschluss an ihre Selbstorganisation zu beeinflussen. Im Zusammenhang mit solchen grundlegenden Untersuchungen können oligomere Aggregate, die aus bis-biotinylierter DNA und bioorganischen STV-Partikeln erhältlich sind, als Modell herangezogen werden, um Einblicke in die Eigenschaften komplexer Netzwerke zu erhalten (Abbildung 10). Das STV kann als 5 nm großes Modellpartikel betrachtet werden, das nur eine eingeschränkte Anzahl von Verknüpfungen zu benachbarten Teilchen im Netzwerk eingehen kann. Entweder eins, zwei, drei oder vier biotinylierte DNA-Fragmente können am STV durch die hochaffine STV-Biotin-Wechselwirkung gebunden sein. Dies vereinfacht die Komplexität der supramolekularen Netzwerke und ermöglicht somit eine einfachere Analyse von Effekten, die z.B. durch veränderte Parameter bei der Immobilisierung der Netzwerke auftreten. Darüber hinaus kann die Länge der doppelsträngigen DNA-Linker so gewählt werden, dass sie mit etwa 30 bis 170 nm eine direkte Abbildung durch die Rasterkraftmikroskopie (SFM = scanning force microscopy) ermöglicht (Abbildung 10).^[83–86] Die SFM-Analytik von solchen Proben ist für beide beteiligten Disziplinen vorteilhaft: Einerseits ermöglicht die SFM Ein-

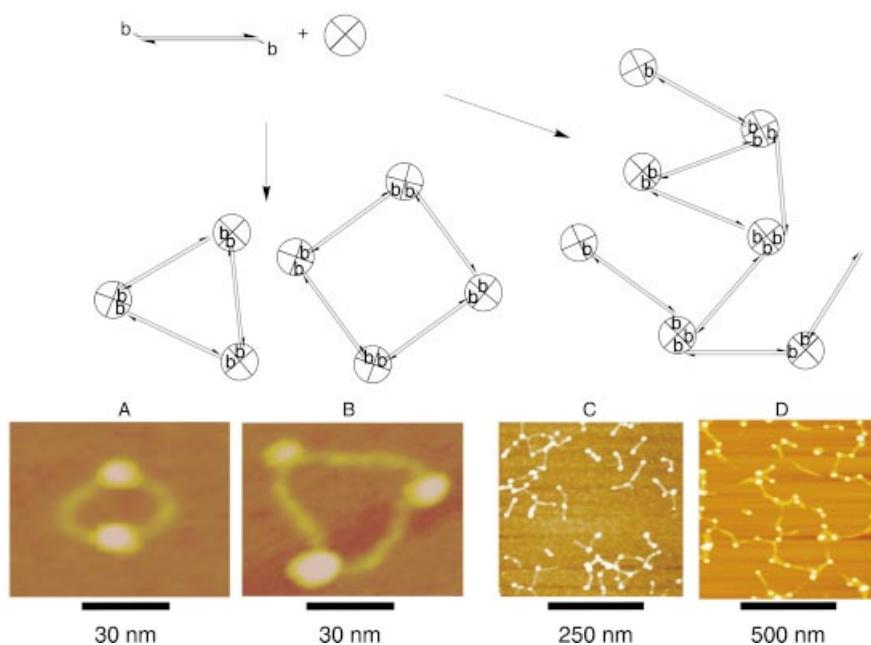


Abbildung 10. Herstellung von Nanopartikelnetzwerken unter Verwendung von dsDNA als Spacer. Die dsDNA-Fragmente enthalten zwei Bindungstellen (b), die jeweils am 5'-Ende mit dem Doppelstrang verknüpft sind. Diese Bindungstellen sind entweder Biotingruppen, die für eine Verknüpfung mit STV als Modellpartikel genutzt werden können (A-C), oder Thiolgruppen (D) mit denen z.B. 5 nm große Goldkolloide chemisorptiv vernetzt werden können (Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [86]).

blicke in die biomolekulare Struktur und die Dynamik der Selbstorganisation und dient damit der Klärung chemisch-biologischer Fragestellungen. Andererseits können die wohldefinierten und strukturochemisch charakteristischen DNA-STV-Nanostrukturen als Standard und Kalibrierungsreagenzien für „Soft-Materials“ eingesetzt werden, um die detaillierte Untersuchung von Spaltenverbreiterungseffekten und des Einflusses von Messparametern in der SFM-Analytik vorzunehmen.^[87, 88]

3.2.2. Definierte Aggregate aus nanoskaligen Partikeln

Die oben beschriebenen Arbeiten von Mirkin et al. zeigen nicht nur Wege auf, neue Hybridmaterialien mit interessanten optischen und elektronischen Eigenschaften für Anwendungen im Bereich der Materialwissenschaften herzustellen,^[24, 89, 90] die Arbeiten sind auch sehr wichtig für diagnostische Anwendungen, insbesonders für die DNA-Mikroarray-basierte Nucleinsäureanalytik (Abschnitt 5.2.2). Wegen des enormen Potentials dieser neuartigen Verbindungen ist es wichtig, die Limitierungen, die sich aus der bislang ungenügenden Kontrolle der Stöchiometrie während der Selbstorganisation ergeben, zu überwinden. Um die Architektur von Nanomaterialien genau kontrollieren zu können, sind räumlich wohldefinierte Arrangements aus molekularen Einheiten erforderlich. So müssen für den Aufbau elektronischer Nanoelemente aus Metall- und/oder Halbleiter-Nanokristallen die einzelnen Komponenten in räumlich und stöchiometrisch definierter Weise angeordnet werden, wie dies exemplarisch anhand des linearen Aggregates in Abbildung 11 A dargestellt ist. Wie ursprünglich mit Proteinbausteinen gezeigt,^[91] kann dies erreicht werden, indem Goldnanoteilchen,

die jeweils ein einzelnes Nucleinsäure-fragment enthalten, an einem komplementären Nucleinsäurestrang angeordnet werden (Abbildung 11 B).

Um nach diesem Schema die Stöchiometrie und Architektur von Nanomaterialien zu kontrollieren, synthetisierten Alivisatos et al. definierte Monoaddukte aus thiolierten 18-mer-Oligonucleotiden und kommerziell erhältlichen 1.4 nm großen Goldclustern, die eine einzelne reaktive Maleinsäureimidgruppe enthielten.^[45, 92] Nach der Reinigung wurden diese Konjugate durch DNA-vermittelte Selbstorganisation an einen Einzelstrang gebunden, der komplementäre Sequenzabschnitte enthielt. Hierdurch konnten räumlich- und stöchiometrisch definierte „nanokristalline Moleküle“ aufgebaut werden (Abbildung 11 B). Je nach Basensequenz des Templates entstanden DNA-Nanocluster-Konjugate, die laut TEM-Analyse eine Kopf-Kopf **10a** oder Kopf-Schwanz **10b** Anordnung der homodimeren Zielmoleküle in etwa 70% Reinheit aufwiesen. Im Einklang mit Modellrechnungen betragen die Teilchenabstände in den zwei Isomeren etwa 3–10 nm (**10a**) und 2–6 nm (**10b**). Auch die trimeren Komplexe (**10c**) zeigten in TEM-Aufnahmen die erwarteten Strukturen. In einer

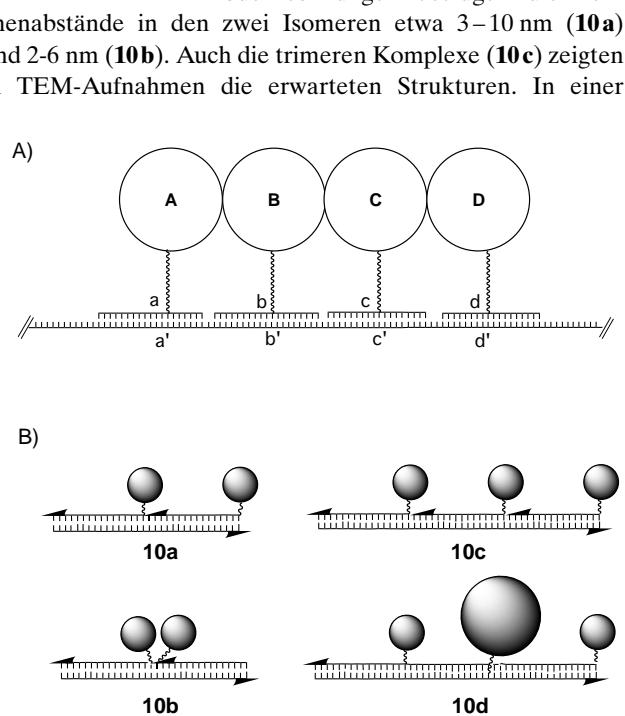


Abbildung 11. A) DNA-vermittelte Selbstorganisation eines räumlich und stöchiometrisch definierten supramolekularen Aggregates aus vier verschiedenen Nanobausteinen. B) Selbstorganisation nanokristalliner Moleküle durch DNA-Hybridisierung.^[45] Aus Goldpartikelkonjugaten (schatulierte Kugeln) und 3'- oder 5'-thiolierten Oligonucleotiden wurden Kopf-Kopf- (**10a**) oder Kopf-Schwanz- (**10b**) Homodimere hergestellt. Die Verwendung eines Templaats, das die komplementäre Sequenz in dreifacher Wiederholung enthält, gestattet den Aufbau des homotrimeren Aggregats **10c**. Das in A) skizzierte Konzept wurde ebenfalls zur DNA-vermittelten Organisation von Proteinen,^[91] β -Galaktose-Einheiten^[215] und metallorganischen Komponenten^[216] eingesetzt.

neueren Arbeit wurden weitere Nanokristall-Aggregate hergestellt, die bis zu drei Nanocluster unterschiedlicher Größe in verschiedenen Anordnungen enthielten.^[92] Diese Aggregate wurden nach elektrophoretischer Reinigung mit TEM charakterisiert. Hierbei zeigte sich, dass die nanokristallinen Moleküle eine hohe Flexibilität aufweisen, insbesondere wenn das DNA-Rückgrat eine Lücke enthält (z.B. **10c**). Dahingegen zeigen Aggregate in denen das DNA-Rückgrat nicht unterbrochen ist (z.B. **10d**) eine deutlich verringerte Flexibilität. UV/Vis-Untersuchungen der Aggregate legten nahe, dass die supramolekulare Organisation zu spezifischen Änderungen der spektralen Eigenschaften der Nanopartikel führt.^[92]

Das Konzept, DNA als Gerüst für die räumliche Anordnung (makro)molekularer Komponenten zu nutzen, wurde ursprünglich mit den kovalenten Konjugaten **11** realisiert, die aus einzelsträngigen DNA-Oligomeren und STV synthetisiert worden waren.^[91] Die DNA-STV-Konjugate **11** wurden auch als Modellsysteme verwendet, um eine Reihe grundlegender Untersuchungen zur DNA-vermittelten Selbstorganisation makromolekularer Komponenten durchzuführen.^[85] Über ihren Modellcharakter hinaus, lassen sich die Konjugate **11** aber auch als vielseitig einsetzbare molekulare Adapter für den Aufbau nanodimensionierter supramolekularer Aggregate verwenden. Die kovalent am Protein gebundene Oligonucleotideinheit erweitert die native Bindungskapazität des STV für vier Moleküle Biotin um eine spezifische Erkennungsdomäne für komplementäre Nucleinsäuren. Diese Di-spezifität ermöglicht, dass die DNA-STV-Konjugate **11** als Adapter verwendet werden können, um nahezu beliebige biotinylierte Komponenten an Nucleinsäure-Templaten zu organisieren.^[85] Beispielsweise wurde die hochaffine Biotin-STV-Wechselwirkung und die spezifische Hybridisierungsfähigkeit von **11** genutzt, um Goldnanocluster anzurichten (Abbildung 12).^[51] Hierzu wurden 1.4 nm große Goldcluster, die einen einzelnen Aminosubstituenten enthielten, mit einer Biotingruppe verknüpft. Der Biotinsubstituent wurde dann verwendet, um die Nanocluster in einer pseudotetraedrischen Überstruktur anzurichten, die durch die Geometrie der Biotin-Bindungstellen im STV vorgegeben ist. Die Nanocluster-beladenen Konjugate **11** lassen sich dann durch spezifische Nucleinsäure-Hybridisierung an komplementären Einzelstrang-Templaten zu neuartigen Nanostrukturen (siehe **12** in Abbildung 12) organisieren. Da die DNA-STV-Konjugate **11** im Sinne eines molekularen Baukastens einsetzbar sind, kann der Ansatz auch zur Herstellung funktionaler Bio-Metall-Aggregate genutzt werden, in denen, wie in **13** (Abbildung 12), anorganische und biologische Komponenten vereint sind. **13** wurde aus Goldkolloid-beladenen STV-Konjugaten **11a–11e** sowie einem Konjugat aus **11f** und biotinyliertem Antikörper hergestellt, die zuvor in getrennten Ansätzen gekuppelt worden waren. Die Funktionalität des Antikörpers in diesem Aggregat erlaubt, die biomimetische Nanostruktur selektiv an Gewebe, Substrate oder Oberflächen zu kuppeln, die durch das IgG-Molekül erkannt werden. Dieser Ansatz zeigt, dass spezifische Protein-Ligand-Wechselwirkungen und die Hybridisierung komplementärer Nucleinsäuren für die Konstruktion neuartiger anorganisch/bioorganischer Nanohybridsysteme einsetzbar sind.^[51]

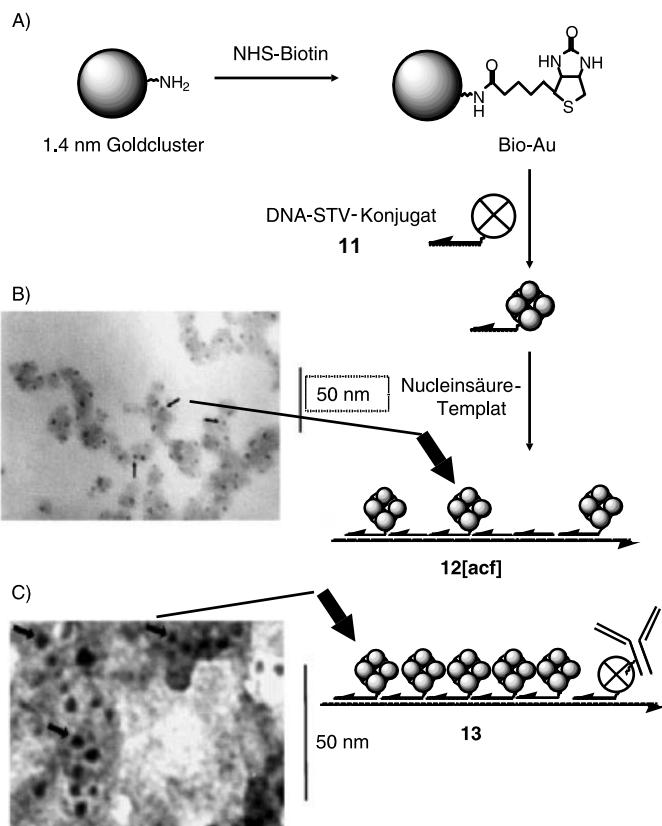


Abbildung 12. A) DNA-vermittelte Selbstorganisation von biotinylierten Goldnanoclustern (Bio-Au) mit DNA-STV-Konjugaten **11** als molekularen Adapters. Spezifische Nucleinsäure-Hybridisierung führt zu den Aggregaten **12**. B) TEM-Aufnahmen der Biometallaggregate **12[acf]** (die Buchstaben geben die Templat gebundenen Proteinkomponenten an) sowie (C) des Immunglobulin-Konstrukt **13** (Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung aus Lit.[51]).

3.3. Biomimetische Systeme

In Analogie zu der in Abbildung 5 schematisch gezeigten Oligomerisierung von Nanopartikeln lassen sich auch abiotische reversible Erkennungssysteme für die supramolekulare Organisation solcher Partikel einsetzen. Beispielsweise haben Fitzmaurice et al. über die „heterosupramolekulare“ Selbstorganisation anorganischer Materialien berichtet.^[93] Hierbei wurden 22 nm große TiO₂-Halbleiterpartikel mit einem modifizierten Pyridinrest stabilisiert, der spezifisch an mit dem Elektronenacceptor Viologen kovalent verknüpftes Uracil-derivat binden kann. Die Wasserstoffbrückenbindung des Uracil-Viologen-Konjugates an die Nanopartikel führt zur Bildung eines heterosupramolekularen anorganisch/organischen Hybrids. In diesem kann durch Bandlückenanregung des selbstorganisierten Donor-Acceptor-Systems ein Elektronentransfer vom Donor (TiO₂-Nanopartikel) zum Acceptor (Viologen) induziert werden.^[93] In aktuellen Arbeiten wurden Gold-^[94] und Silbernanopartikel^[95], die mit einer Monolage aus ω -Undecylthiol und **14** stabilisiert sind, durch Pseudo-rotaxanbildung oligomerisiert. Hierzu wurde **15** als Linker verwendet (Abbildung 13). NMR- und DLS-Untersuchungen zeigten, dass das Ausmaß der Nanokristall-Aggregation durch

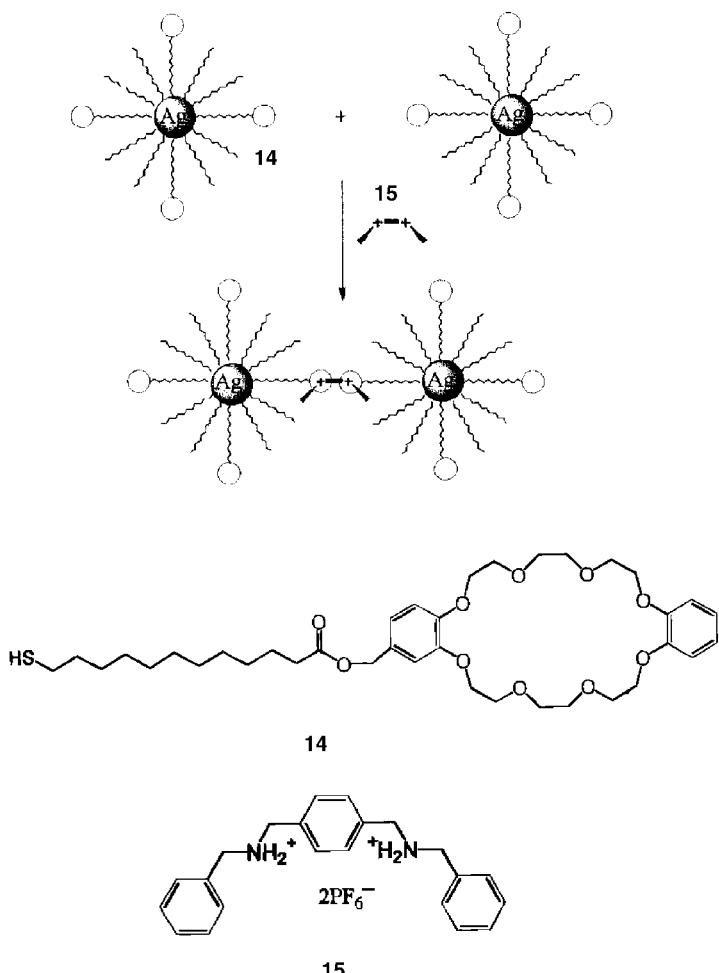


Abbildung 13. Silbernanokristalle, die mit einer Monolage eines Alkylthiols und mit **14** stabilisiert sind, aggregieren in Gegenwart von **15**, das als Linker die Bildung von Pseudorotaxanen induziert (Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [95]. Copyright 2000 American Chemical Society).

den Anteil von **15** oder durch die Zugabe von Inhibitoren wie Dibenzo-[18]Krone-6 kontrollierbar ist.^[95]

Derartige mit selbstorganisierten Monoschichten (SAM = self-assembled monolayer) funktionalisierte Kolloide (SAM-Kolloide)^[96] bieten eine neue, leistungsfähige Plattform, um multivalente Rezeptoren zu erzeugen. So lässt sich in SAM-Kolloiden die Anzahl der Liganden bereits während der Partikelbildung oder aber durch Austauschreaktionen^[96b] einstellen. Die Mobilität der Thiolliganden auf der Kolloidoberfläche kann genutzt werden, um Systeme aufzubauen, die auf externe Stimuli der Umgebung reagieren.^[96d] Hierzu wurden Goldnanopartikel mit einer Monolage aus Mercapto-octanol beschichtet, in die zwei Rezeptorgruppen, die Diacyldiaminopyridingruppe **16** und die Pyrengruppe **17**, statistisch eingebaut waren (Abbildung 14). **16** kann als Wasserstoffbrücken- und **17** als aromatischer Stacking-Rezeptor fungieren. Die Zugabe von Flavin **18** zu den doppelt modifizierten Kolloiden bewirkt, dass dieser Gast als Templat die Umordnung der zwei Rezeptorgruppen auf der Kolloidoberfläche induziert. Hierdurch rücken die zwei Rezeptorgruppen in enge Nachbarschaft, sodass eine divalente Bindungstasche für **18** gebildet wird. Wenngleich die molekul-

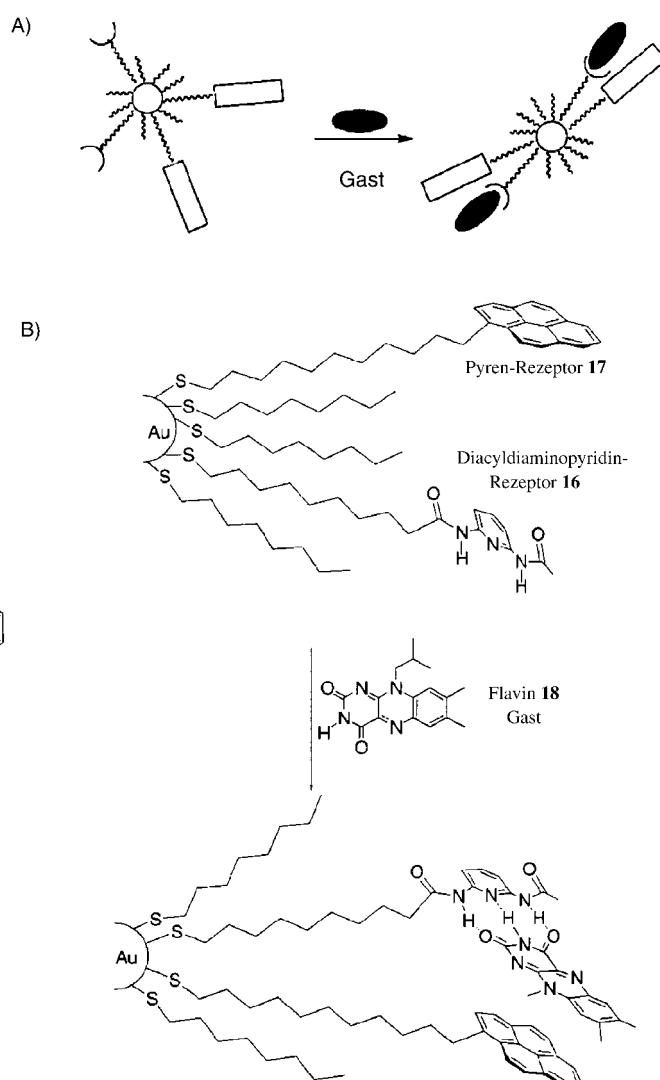


Abbildung 14. Supramolekulare Bildung einer polyvalenten Bindungsstelle auf SAM-stabilisierten Goldkolloiden, die über die zwei Rezeptorgruppen **16** und **17** verfügen (Wiedergabe von Teilen der Abbildung mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [96d]. Copyright 2000 American Chemical Society).

geprägte Bildung von Bindungsstellen an zweidimensionalen, planaren Goldoberflächen bereits zuvor beschrieben wurde,^[97] eröffnet die Übertragung dieses Konzeptes auf Nanopartikel-gebundene Rezeptoren neue Wege, um diffusionsfähige Sonden für die Erkennung und Analyse von biomolekularen Protein- und Zelloberflächen herzustellen.^[96d] Darüber hinaus sollte sich dieser Ansatz auf katalytisch und optisch aktive chemische Gruppen^[98] sowie auf SAM-gebundene Biomoleküle erweitern lassen, z. B. indem mit Enzymen, Antikörpern oder Rezeptoren neuartige kolloidale Reagenzien hergestellt werden,^[99] die in Immunoassays, Biosensoren oder zur Untersuchung der Membrandiffusion einsetzbar sind.

4. Templantsynthesen mit Biomolekülen

Die elektrostatischen und topographischen Eigenschaften biologischer Makromoleküle und der aus ihnen aufgebauten

supramolekularen Komplexe lassen sich für die Synthese und die Selbstorganisation organischer und anorganischer Komponenten nutzen. In solchen Templatssynthesen wurden bereits reguläre zweidimensionale Gitterstrukturen aus bakteriellen Zelloberflächenproteinen, Nano- und Mikrometer-dimensionierte Nucleinsäurestrukturen oder auch hohle biomolekulare Kompartimente wie Virushüllen eingesetzt, um Nanopartikel und supramolekulare Architekturen aufzubauen.

4.1. Bakterielle Zelloberflächenschichten

Kristalline Zelloberflächenschichten, „S-Schichten“, sind die am häufigsten auftretenden Strukturen in prokaryonten Organismen. S-Schichten sind aus vielen identischen Kopien einzelner Polypeptide zusammengesetzt, die sich spontan zu hochgradig geordneten, nanoporösen Überstrukturen unterschiedlicher Geometrie organisieren (Abbildung 15). Wegen

Anordnungen von Nanopartikeln zu erzeugen. Shenton et al. beschrieben die Synthese von CdS-Überstrukturen unter Verwendung rekristallisierter S-Schichten aus *Bacillus stearothermophilus*, die auf Elektronenmikroskop-Objektträgern immobilisiert waren.^[101] Die S-Schichten wurden hierfür zunächst mit CdCl₂-Lösung und anschließend mit H₂S behandelt. Wie TEM-Aufnahmen zeigten, führte dies zur Bildung von monodispersen ca. 5 nm großen CdS-Nanokristallen, die in einer regulären Anordnung innerhalb der Nanoporen der Proteinmatrix organisiert waren.

Dieluweit et al. konnten ein tetragonales Übergitter aus einheitlich dimensionierten 4–5 nm großen Goldpartikeln mit einem Wiederholungsabstand von ca. 13 nm herstellen, indem eine S-Schicht aus *Bacillus sphaericus* verwendet wurde, deren Proteinbausteine chemisch mit Thiolgruppen modifiziert worden waren.^[102] Hierzu wurde mit einer Lösung von Tetrachlorogoldsäure zunächst ein dünner Goldfilm auf der S-Schicht erzeugt. Die Elektronenbestrahlung im Zuge der TEM-Analyse führte zur Bildung von ca. 5 nm Goldpartikeln (Abbildung 15). Mertig et al. präparierten eine hochgeordnete Überstruktur aus 2 nm großen Platinclustern unter Verwendung einer S-Schicht aus *Sporosarcina ureae*.^[103] Im Unterschied zu den oben beschriebenen Ansätzen wurde die Anordnung der Cluster in homogener Lösung erzeugt, indem eine Suspension der S-Schicht mit einer K₂PtCl₆-Lösung behandelt und anschließend mit NaN₃ reduziert wurde. Die TEM-Analyse zeigte deutlich, dass die Platincluster metallischen Charakter aufweisen und die laterale p4-Symmetrie des Übergitters durch den darunter liegenden Proteinkristall vorgegeben wurde.^[103]

Hall et al. haben kürzlich über die Immobilisierung von Goldkolloiden an hexagonal-gepackten, Intermediatschichten (HPI = hexagonally packed intermediate) aus *D. radiourans* berichtet.^[104] Die HPI-Schicht hat eine periodische Struktur aus hexameren Einheiten, die jeweils eine hohle, konusförmige Erhöhung mit einem positiv geladenen Innenraum von ca. 2 nm Durchmesser bilden. Die Behandlung einer Substrat-adsorbierten HPI-Schicht mit einer wässrigen Lösung Citrat-stabilisierter 5 nm oder 10 nm großer Goldkolloide führte zur Bildung Mikrometer-dimensionierter, hexagonaler Übergitter, in denen die Kolloide im selben Muster wie die unterliegende HPI-Schicht angeordnet waren. Die Partikelabstände betrugen einheitlich etwa 18 nm. In Experimenten mit einer 1:1 Mischung aus den 5 nm und den 10 nm großen Partikeln zeigte die HPI-Schicht eine bevorzugte Bindung der 5 nm Kolloide. In Bindungsexperimenten mit den 10 nm Partikeln wurden an der HPI-Schicht vorzugsweise Teilchen mit einem Durchmesser von 8.0 ± 1.3 nm gebunden. Dieser Wert ist signifikant geringer als der durchschnittliche Partikeldurchmesser von 9.7 ± 2.2 nm. Keine Überstrukturbildung wurde hingegen bei der Adsorption von 20 nm großen Kolloiden oder von positiv geladenen 5 nm großen Partikeln beobachtet. Somit zeigen diese Experimente, dass die Form und die elektrostatischen Eigenschaften eines biologischen Templates genutzt werden können, um die räumliche Anordnung Mikrometer-dimensionierter Überstrukturen anorganischer Nanopartikel zu kontrollieren. Zukünftige Entwicklungen dieses Ansatzes sind besonders viel versprechend, da lediglich ein einzelnes Gen verändert

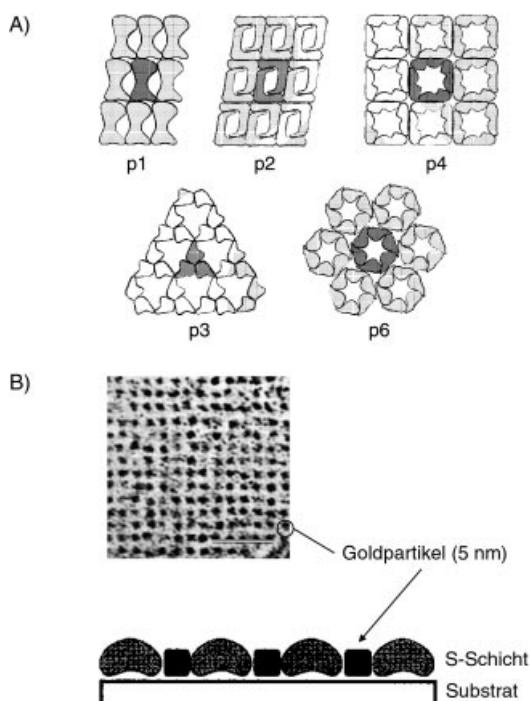


Abbildung 15. Bakterielle Oberflächenschichten (S-Schichten): A) Verschiedene Arten von S-Schichten mit einer diagonalen (p1, p2), tetagonalen (p4) oder hexagonalen (p3, p6) Symmetrie. B) TEM-Aufnahme eines Übergitters aus Goldpartikeln, das mit einer Oberflächen-fixierten tetagonalen S-Schicht hergestellt wurde (Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [100]).

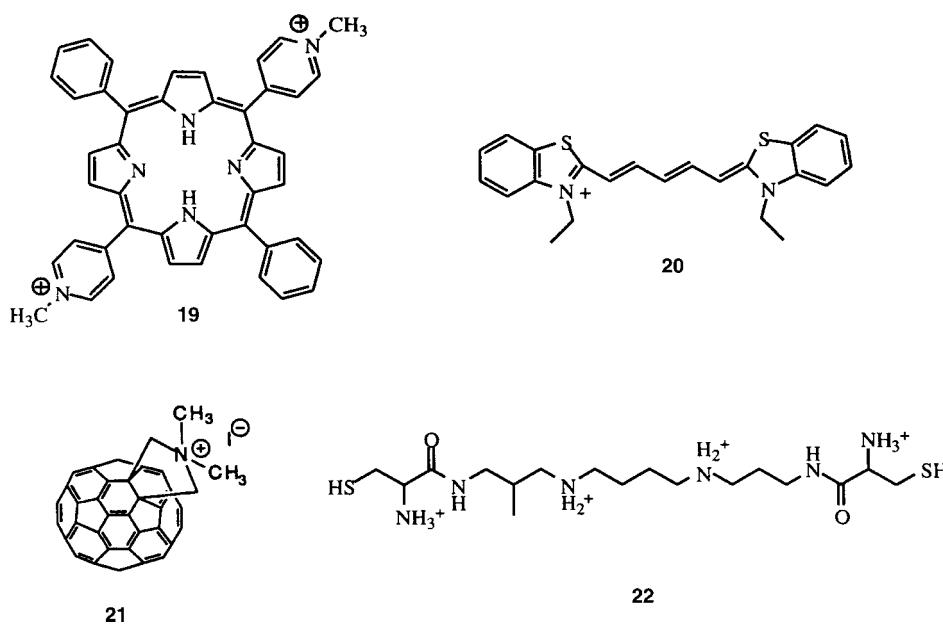
ihrer außerordentlich hohen Ordnung sind S-Schichten einzigartige Systeme, um die Genetik, Struktur und Dynamik der Selbstorganisation biologischer Komponenten zu untersuchen. Außerdem bieten isolierte native, chemisch oder genetisch modifizierte S-Schichten eine Vielzahl möglicher biotechnischer Anwendungen, die von der Diagnostik und Vaccinforschung bis hin zur molekularen Nanotechnologie reichen.^[100] Die reguläre Anordnung der Poren innerhalb der zweidimensionalen Proteinkristalle wurde auch genutzt, um

werden muss, um die topographischen und chemischen Eigenschaften der S-Schichten für die jeweils gewünschte Anwendung anzupassen.^[105]

4.2. Selbstorganisation mittels DNA-Templaten

Auch die elektrostatischen und topographischen Eigenschaften von DNA-Molekülen können in Templatsynthesen genutzt werden, um supramolekulare Aggregate aus organischen und anorganischen Komponenten aufzubauen. In einem frühen Beispiel berichteten Gibbs et al., dass Porphyrinderivate mit kationischen Seitengruppen wie **19** ausgedehnte Überstrukturen in der Gegenwart von DNA-Templaten bilden.^[106] Diese supramolekularen Porphyrinkomplexe, die die gleiche Helicität wie das Nucleinsäuretemplat zeigen, wurden in weiterführenden Arbeiten hinsichtlich ihrer Kinetik und Thermodynamik charakterisiert.^[107, 108] Der kationische Cyaninfarbstoff **20** bildet in Gegenwart von DNA spontan supramolekulare Komplexe aus.^[109, 110] So zeigten Armitage et al., dass **20** in Gegenwart von doppelsträngiger DNA (dsDNA) mit alternierenden A/T-Basenpaaren dimerisiert. Interessanterweise ist die Bindung des Dimers hochgradig kooperativ. Die Bindung des ersten Dimers beschleunigt also die nachfolgende Bindung des zweiten Dimers, sodass im Falle von längeren DNA-Molekülen als Nanotemplat rasch ausgedehnte helicale Aggregate des Cyaninfarbstoffes entstehen. Die DNA-Struktur bestimmt also die räumlichen Dimensionen des supramolekularen Aggregates.

Tour et al. nutzten DNA, um makromolekulare Fullerene anzuordnen, die mit einem *N,N*-Dimethylpyrrolidiniumiodid-Substituenten verknüpft waren (**21**).^[111] Die elektrostatische Bindung von **21** am Phosphorsäureester-Rückgrat konnte direkt durch TEM nachgewiesen werden, ohne dass eine Schattierung mit Schwermetallen oder andere Anfärbemethoden erforderlich waren. Aus TEM-Analysen ging hervor, dass die DNA in den Hybridmaterialien eine signifikant andere Struktur als native DNA aufweist. Im Falle eines



circulären DNA-Plasmids als Templat ist der Durchmesser der Hybridkomplexe etwa fünfmal geringer als der des nativen Plasmids. Der Durchmesser der DNA-Doppelhelix betrug dafür aber 15–30 nm anstelle der üblichen 2 nm. Diese Kondensation (Verdickung und Kürzung) der dsDNA könnte auf umfassende hydrophobe Wechselwirkungen zwischen den DNA-gebundenen Fullereneinheiten zurückzuführen sein. Ähnliche Kondensationseffekte werden auch mit Polyaminen wie Spermin oder Spermidin erzielt, die eine signifikante Packung der DNA induzieren können. Die Dynamik solcher DNA-Kondensationsprozesse in der Fest/flüssig-Interphase wurde kürzlich durch SFM untersucht.^[112] Die Spermin-vermittelte Packung von DNA zu einheitlichen, Nanometer-großen bioorganischen Partikeln wurde von Blessing et al. beschrieben.^[113] Hierzu wurde das polymerisierbare Kation **22** genutzt, das spezifisch in der kleinen Furche von B-DNA bindet. So bewirkt die luftinduzierte Thiol/Disulfid-Oligomerisierung von **22** in Gegenwart einer Plasmid-DNA, dass diese zu Nanopartikeln mit einem Durchmesser von 50 ± 15 nm zusammenfallen. Solche nanoskopischen monomolekularen DNA-Partikel könnten als Reagenzien für den Gen-Transfer eingesetzt werden.^[114]

Pionierarbeiten zur Herstellung von Metall- und Halbleiter-Nanopartikeln mit DNA-Templaten wurden von Coffer et al. durchgeführt.^[115-118] Sie nutzten die negative Ladung des Phosphat-Rückgrats der DNA-Doppelhelix, um Cd²⁺-Ionen anzureichern, die anschließend durch Umsetzung der Komplexe mit Na₂S in CdS-Nanopartikel überführt wurden. Hierzu wurden zunächst wässrige Lösungen von Kalbsthymus-DNA und Cd²⁺ gemischt und die Mischung dann mit äquimolaren Mengen Na₂S versetzt. Wie TEM-Analysen zeigten, bildeten sich hierdurch monodisperse CdS-Partikel mit einem Durchmesser von etwa 5.6 nm.^[115] Da die tatsächliche Rolle der DNA in diesem Prozess unklar blieb, wurde in nachfolgenden Experimenten untersucht, ob die Sequenz des DNA-Templats möglicherweise einen Effekt auf die Partikelbildung ausübt.^[116] Tatsächlich wurde beobachtet, dass insbesondere der Gehalt an Adenin-Nucleotiden die Größe der

Nanopartikel beeinflusst. Dies kann als indirekter Nachweis des vorgeschlagenen Templateffektes interpretiert werden. Weitere Arbeiten beschäftigten sich mit der Synthese Oberflächen-gebundener, mesoskopischer Nanopartikel-Aggregate.^[117, 118] So wurde die 3455 Basenpaar lange, circuläre Plasmid-DNA pUCLeu4 als Templat verwendet, die einen Ring von etwa 375 nm Durchmesser aufspannt. Das Plasmid wurde in Lösung mit Cd²⁺-Ionen gemischt, und die Cd²⁺-beladene DNA wurde an aminomodifizierten Glassubstraten adsorbiert. CdS-Nanoteilchen wurden durch Behandlung mit H₂S generiert.^[117] Die TEM-Analyse ergab, dass sich CdS-Partikel von etwa 5 nm

Durchmesser gebildet hatten, die eng am circulären DNA-Templat angelagert waren. Messungen des Plasmid-Umfanges zeigten, dass einige der DNA-Moleküle die intakte Ringstruktur beibehalten hatten. Allerdings wurden auch viele andere Aggregate mit ungewöhnlicher Form beobachtet.

Über die Verwendung als Nanotemplat hinaus, kann das DNA-Molekül auch genutzt werden, um Mikrometer-dimensionierte Elemente herzustellen, die z.B. für elektronische Anwendungen verwendet werden könnten. Ein Beispiel hierzu wurde von Braun et al. beschrieben (Abbildung 16).^[119] Sie verwendeten ein 16 µm langes λ -DNA Fragment mit zwei kohäsiven Enden, um den etwa 12–16 µm Abstand zwischen zwei photolithographisch hergestellten Goldmikroelektroden zu überbrücken. Hierzu wurden die Elektroden zunächst mit komplementären Fänger-Oligonukleotiden modifiziert, an die das DNA-Fragment durch Watson-Crick-Basenpaarung spezifisch binden konnte. Die erfolgreiche Bindung der Fluorophor-markierten λ -DNA an die Elektroden wurde optisch durch Fluoreszenzmikroskopie überprüft. Anschließend wurden die am Phosphat-Rückgrat gebundenen Natriumionen gegen Silberionen ausgetauscht und letztere mit Hydrochinon reduziert. Hierdurch entstanden kleine Silberaggregate am DNA-Rückgrat, die dann als Katalysatoren in einem Silberentwicklungsprozess genutzt wurden. Dies führte zur Bildung eines Mikrometer-dimensionierten Silberdrahtes mit einem Durchmesser von etwa 100 nm. SFM-Untersuchungen zeigten, dass der Draht eine granulare Morphologie aufwies (Abbildung 16). Elektrische Messungen an diesem Silberdraht ergaben unerwartet asymmetrische Strom/Spannungskurven, und der Draht zeigte augeprägte Memoryeffekte. Dies könnte auf Polarisations- und/oder Korrosionseffekte an den Grenzen der einzelnen etwa 30–50 nm großen Silberkörner zurückzuführen sein, aus denen der Draht aufgebaut war.^[119]

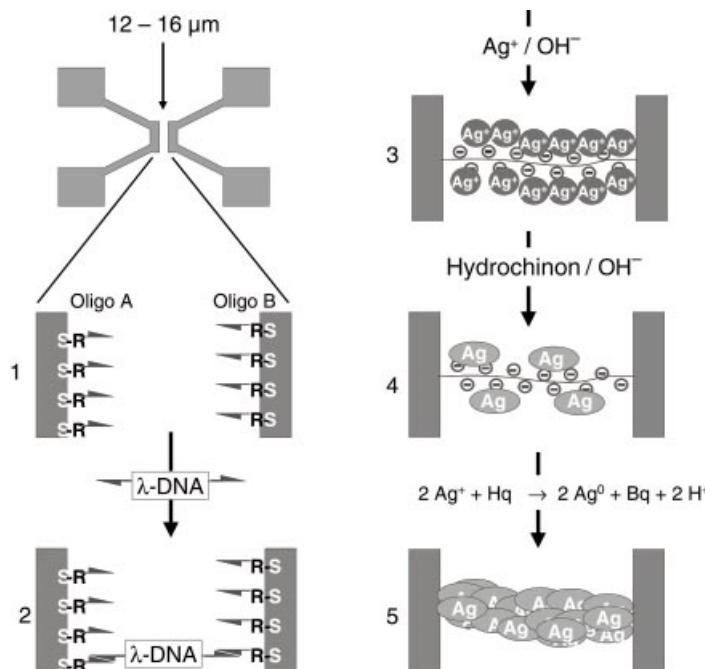
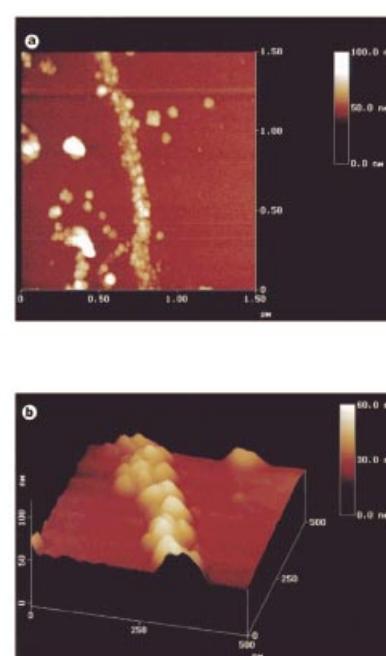


Abbildung 16. DNA-Templatsynthese eines leitfähigen Silberdrahtes. SFM-Aufnahmen zeigen die granulare Struktur dieses Drahtes (Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [119]).

Richter et al. berichteten über die Verwendung von λ -DNA als Templat für das Wachstum von Palladiumclustern.^[120] Hierzu wurde die DNA mit Palladiumacetat aktiviert und die an der DNA abgeschiedenen Palladiumionen mit einer Lösung aus Citrat, Milchsäure und Dimethylaminoboran reduziert. Dies führte zur Bildung DNA-gebundener ein- und zweidimensionaler Anordnungen 3–5 nm großer Palladiumcluster.^[120] In weiterführenden Arbeiten wurden leitfähige Nanodrähte mit DNA-Templaten hergestellt^[121] und der Mechanismus der Metallnucleation untersucht.^[122] Die DNA-Templatsynthese zur Herstellung mesoskopischer Strukturen aus positiv geladenen 3 nm großen Thiocholin-modifizierten CdS-Partikeln wurde von Torimoto et al. durchgeführt.^[123] Wegen der elektrostatischen Wechselwirkung zwischen den positiv geladenen Partikeloberflächen und den Phosphatgruppen der DNA, waren die Partikel kettenförmig angeordnet, wie durch TEM-Analyse gezeigt wurde. Hierbei betrug der Abstand zwischen den CdS-Teilchen in den quasi eindimensionalen Packungen ca. 3.5 nm. Dieser Wert korreliert mit der Höhe einer Helixwindung im DNA-Doppelstrang.^[123] Die elektrostatische Anordnung von Lysin-passierten Goldpartikeln an DNA wurde ebenfalls beschrieben.^[124]

Die oben dargestellten Beispiele geben einen ersten Eindruck, wie DNA als Templat verwendet werden kann, um nanoskalige und mesoskopische Strukturen herzustellen. Es soll aber auch die Notwendigkeit grundlegender Arbeiten zu diesen Konzepten deutlich gemacht werden. So muss insbesondere untersucht werden, welchen Einfluss die Interaktion zwischen der DNA und den verschiedenen organischen Liganden oder Metallkationen auf die Struktur und Topologie der Nucleinsäure ausübt, und ob und wie solche Effekte wiederum zu beeinflussen sind. Mögliche Anwendungen der DNA-Templatsynthese könnten darin bestehen, DNA-Frag-



mente^[119] oder auch Netzwerke^[125] für die Herstellung mikroelektronischer Elemente oder ringförmige DNA-Moleküle^[84, 126–130] für den Aufbau nanoskaliger Aharonov-Bohm-Ringe^[131] zu verwenden.

4.3. Biologische Nanoreaktoren

Die Natur hat eine Vielzahl von Proteinkomponenten entwickelt, die zum Transport oder zur Lagerung von Metallkomponenten dienen. Unter diesen ist das Eisenprotein Ferritin das wohl am besten untersuchte und verstandene System.^[132] Ferritin besteht aus einem zentralen Kern von hydratisiertem Eisen(III)oxid, der mit einer aus vielen Untereinheiten bestehenden Proteinschale umgeben ist. Während der Ferritinbildung formiert sich zunächst die Proteinschale und bildet einen hohen Käfig mit einem Durchmesser von ca. 8 nm. Die nachfolgende anorganische Mineralisierung erfolgt unter der räumlichen Beschränkung dieses Käfigs und führt zur Bildung von Nanopartikeln aus einem antiferromagnetischen Eisenoxid, das dem Mineral Ferrihydrit ähnelt.^[133] Da die Polypeptidhülle des Ferritins viele Poren enthält, kann das Mineral durch reduktive Auflösung entfernt und hierdurch das demetallierte Protein, so genanntes Apoferritin, hergestellt werden.^[134] Es ist lange bekannt, dass Apoferritin durch chemische Verfahren remineralisiert werden kann.^[135] So wurde die Rekonstituierung des Ferrihydritkerns genutzt, um die katalytischen Eigenschaften des Apoferritins hinsichtlich der Oxidation von Eisen(II) und der Nucleation des Ferrihydrits innerhalb der Proteinhülle zu untersuchen.^[136]

In den frühen 90er Jahren begannen Mann et al., das Ferritin als nanodimensionierten Bioreaktor zu verwenden, um auch andere Metallpartikel als das natürliche Ferrihydrit herzustellen (Abbildung 17). So gelang es mit Apoferritin aus Pferdemilz als Nanoreaktor, Kristalle aus Manganoxid oder Uranyloxyhydroxid zu erzeugen.^[137] Letztere wurden z.B. durch basisch-hydrolytische Polymerisation von Uranylacetat hergestellt. Das räumlich eingeschränkte Reaktionsvolumen innerhalb der supramolekularen Proteinkäfige bewirkte dabei, dass einheitliche Uranyloxyhydroxid-Nanoteilchen mit einem Durchmesser von 6 nm entstanden. In späteren Arbeiten wurden semisynthetische magnetische Proteine hergestellt, indem Apoferritin mit dem ferrimagnetischen Mineral Magnetit (Fe_3O_4)^[138] oder Magnetit/Maghemit ($Fe_3O_4/\gamma-Fe_2O_3$)^[139] rekonstituiert wurde. Die TEM-Analyse ergab, dass auch hier wegen des inneren Durchmessers des Nanoreaktors Teilchengrößen von 6–7 nm erzielt wurden. Die Magnetit/Maghemit-Partikel wurden durch Trimethylamin-N-Oxid-Oxidation von Apoferritin hergestellt, das zuvor mit unterschiedlichen Mengen an Eisen(II)-Ionen beladen worden war. Die Untersuchung der magnetischen Eigenschaften der Partikel mit SQUID-Magnetometrie zeigte, dass die superparamagnetische Blockierungstemperatur annähernd linear vom Eisenbeladungsgrad abhing.^[138] Solche monodispersen magnetischen Proteine könnten in biomédizinischen Bildgebungsverfahren zur Markierung von Zellen oder in Trennprozessen eingesetzt werden (Abschnitt 5.3). Die chemische Funktionalisierung solcher bioanorganischer Partikel mit Biotinylgruppen eröffnet die Möglichkeit, Überstrukturen

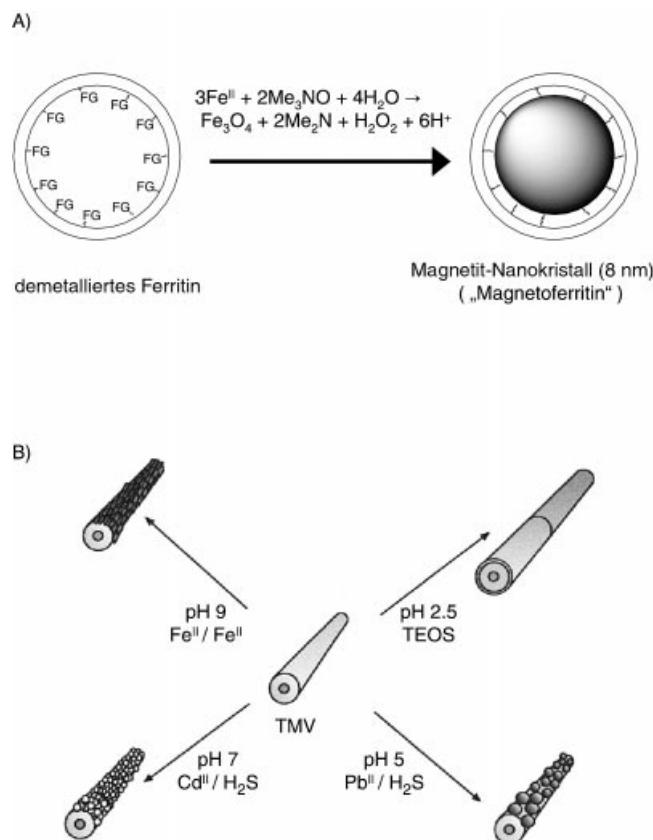


Abbildung 17. A) Verwendung hohler Protein-Kompartimente als räumlich beschränkende Bioreaktoren für die Herstellung anorganischer Nanopartikel (FG = funktionelle Gruppe für die Nucleation der Biomineralisierung). B) Synthese von Nanoröhren-Kompositen unter Verwendung von TMV-Partikeln als Templat (TEOS = Tetraethoxysilan, Wiedergabe von B mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [144]).

durch STV-induzierte Oligomerisierung aufzubauen (Abschnitt 3.1).^[140]

In einem aktuellen Beitrag wurden 15 nm große Lumazin-Synthase-Capsid-Partikel, die aus 60-Polypeptiduntereinheiten aufgebaut sind und einen Hohlraum von 8 nm Durchmesser aufspannen, als Nanoreaktor für die Synthese von Eisenoxid-Partikeln verwendet.^[141] Eine andere Klasse biologischer Strukturen, die als Templat für die Biomineralisation genutzt wurden, sind Viruspartikel. Diese bestehen typischerweise aus mehreren hundert bis tausend identischen Proteinmolekülen, die durch Selbstorganisation hohle Kompartimente bilden, in denen die virale Nucleinsäure eingelagert ist. Hierbei ist die spontane Bildung des Tabak-Mosaik-Virus (TMV) eines der am besten verstandenen Systeme biologischer Selbstorganisation.^[142, 143] TMV ist ein physikalisch-chemisch stabiles Virion, das selbst Temperaturen von bis zu 60 °C und pH-Werten zwischen 2 und 10 unbeschadet widersteht. TMV entsteht aus 2130 identischen Proteineinheiten, die eine helicale Struktur um die virale Nucleinsäure bilden und hierbei eine hohle Röhre mit Dimensionen von etwa 300 × 18 nm und einem innenliegenden Kanal von 4 nm Durchmesser formen. Die innen- und außenliegenden Oberflächen der supramolekularen Proteinstruktur bestehen aus repetitiven Mustern geladener Aminosäurereste, z.B. Glutamat, Aspartat, Arginin oder Lysin, die eine Vielzahl von

Nucleationsstellen für eine oberflächenkontrollierte Biomineralisation bilden sollten. Dies veranlasste Shenton et al., TMV als Templat für die Erzeugung anorganisch/organischer Nanoröhren-Komposite zu verwenden.^[144] Wie in Abbildung 17B dargestellt, wurden verschiedene Wege für die Synthese solcher Komposite ausgehend von TMV-Templaten erprobt. Die Sol-Gel-Kondensation von Tetraethoxysilan (TEOS) führte zur Bildung Elektronen-absorbierender SiO_2 -Stäbe, die als TMV-Partikel identifiziert wurden. Sie waren mit einer einheitlichen 3 nm dicken SiO_2 -Schicht umgeben. Die gemeinsame Ausfällung von TMV und CdCl_2 oder $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ mit H_2S führte zur Bildung von Hybridmaterialien, in denen ungeordnete CdS-Aggregate (5 nm) bzw. PbS-Aggregate (30 nm) an der außenliegenden Oberfläche des TMV-Templats adsorbiert waren. Ähnliche CdS-Nanoteilchen waren zuvor mit Hilfe von Ferritin-Nanoreaktoren hergestellt worden.^[145] TMV wurde auch für die Mineralisierung von Eisenoxid verwendet, indem eine saure Eisen(II)/Eisen(III)-haltige Dispersion der TMV-Partikel mit NaOH versetzt wurde. Dies bewirkte die Bildung schwach kristalliner Ferrihydrit-Ablagerungen an der außenliegenden Oberfläche des TMV-Templats. Im Unterschied hierzu, führte die langsame Luftsauerstoff-vermittelte Oxidation von TMV in einer anaeroben Eisen(II)-Lösung zu Virionen, die mit einem gleichmäßigen 2 nm dicken Eisenoxidfilm bedeckt waren.^[144]

Auch sphärische Virusprotein-Hohlkörper wurden eingesetzt, um Wirt-Gast-Einschlusverbindungen aus organischen und anorganischen Materialien herzustellen. Douglas und Young nutzten hierzu wohldefinierte Cowpea-chlorotic-mottle-virus(CCMV)-Partikel, die durch In-vitro-Selbstorganisation aus gereinigtem viralen Hüllprotein zugänglich sind (Abbildung 18).^[146, 147] Jeder der individuellen Proteinbausteine verfügt über neun basische Aminosäurereste (Arginin oder Lysin), die in das Innere der im Durchmesser etwa 18 nm umfassenden Proteininhöle ragen. Deshalb bietet der Innenraum der 28 nm großen CCMV-Partikel ein geeignetes Interface für die Nucleation anorganischer Kristalle, z.B. für das Wachstum von Polyoxometalaten wie Parawolframat und Decavanadat. Hierzu wurde ein spezieller pH-abhängiger Regulationsmechanismus des CCMV genutzt. Bei einem pH-Wert > 6.5 quellen die CCMV-Partikel um etwa 10% ihrer Größe auf. Dies führt zur Bildung von 60 etwa 2 nm breiten

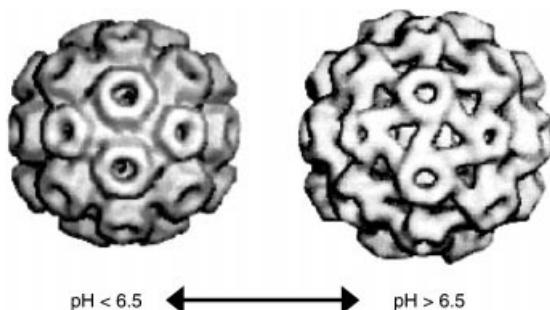


Abbildung 18. Durch Kryoelektronenmikroskopie erhaltene Struktur des CCM-Virus. Die Struktur im ungequollenen Zustand bei niedrigem pH-Wert (links) unterscheidet sich von der des gequollenen Zustandes bei hohem pH-Wert (rechts). Die Quellung führt zur Bildung von 60 Poren mit einem Durchmesser von jeweils 2 nm (Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [146]).

Poren, durch die ein freier Austausch molekularer Komponenten zwischen der Kavität und dem umgebenden Medium stattfinden kann. Dahingegen ist bei pH-Werten < 6.5 ein solcher Austausch nicht möglich. Somit konnten also leere Virionen in einer Lösung von molekularem Wolframat (WO_4^{2-}) bei pH 6.5 inkubiert und durch Filtration angereichert werden. Beim anschließenden Waschen bei pH 5 schließen sich die Poren der Proteininhölle, und die Wolframat-Ionen oligomerisieren. Hierdurch wurden einheitliche Nanokristalle gebildet, deren Durchmesser 6.7 nm betrug. Neben den Polyoxometalaten wurden auch organische Nanopartikel in den Virion-Reaktoren hergestellt. Der pH-abhängige Einschluss des anionischen Polymers Polyanetholsulphonsäure wurde bei pH 7.5 durchgeführt, und die anschließende Absenkung des pH-Wertes führte zur Bildung Polymer-beladener Viruspartikel mit einheitlicher Größenverteilung, die durch TEM-Analyse bestimmt werden konnte.^[146]

Die obigen Beispiele zeigen, dass biomolekulare Kompartimente gut geeignet sind, um Nanomaterialien oder supramolekulare Einschlusverbindungen herzustellen. Es ist somit naheliegend, dass zukünftige Entwicklungen sich auf die Erzeugung maßgeschneiderter Proteinbausteine konzentrieren werden. Die heutzutage verfügbaren molekularbiologischen Methoden der rationalen und der zufälligen Mutagenese nativer Vorläuferproteine gestatten, rekombinante Proteine zu entwerfen, die über fein abgestimmte Eigenschaften verfügen. So können einerseits speziell geformte Überstrukturen durch supramolekulare Selbstorganisation entstehen und andererseits ist eine effiziente Nucleation organischer und anorganischer Nanomaterialien möglich.

5. Anwendungen

Aus biotechnologischer Sicht ist der Begriff „Anwendung“ mit kommerziellen Produkten verknüpft, die zumindest potentiell einen signifikanten Marktanteil haben sollten. Nach dieser Definition sind wirkliche Anwendungen der oben beschriebenen, bioanorganischen Hybridkomponenten zum gegenwärtigen Zeitpunkt praktisch kaum vorhanden. Durch die Fusion von Biotechnologie und Materialwissenschaften werden jedoch enorme Möglichkeiten eröffnet, neue Materialien und Funktionselemente herzustellen. Gleichzeitig profitieren die grundlegenden Biowissenschaften, da insbesondere die modernen Komponenten und Charakterisierungstechniken der Materialwissenschaften einsetzbar sind, um biologische Fragestellungen zu bearbeiten. So stehen gegenwärtig auch besonders Anwendungen im Bereich der Bioanalytik im Vordergrund dieser interdisziplinären Schnittstelle.

5.1. Physikalisch-chemische Methoden

Die wohl bekannteste physikalische Charakterisierungsmethode zur Erforschung biomolekularer Systeme ist die Rasterkraftmikroskopie (SFM). Die SFM wurde in den letzten 10 Jahren zu einem außerordentlich nützlichen Ver-

fahren entwickelt, um biologische Oberflächen mit hoher räumlicher Auflösung abzubilden. Der Einsatz speziell funktionalisierter Sondenspitzen ermöglicht eine biospezifische Rasterkraftmikroskopie.^[148] Darüber hinaus lässt sich das SFM-Gerät nutzen, um Biomoleküle kontrolliert auseinander zu ziehen, sodass die Konformation von Nucleinsäuren oder die Faltung von Proteinen detailliert untersucht werden kann.^[149]

Die Oberflächen-Plasmonen-Resonanz(SPR = surface plasmon resonance)-Spektroskopie ist eine weitere sich rasch entwickelnde Methode, die zur Untersuchung biomolekularer Strukturen und ihrer Dynamik eingesetzt wird.^[150] Diese oberflächensensitive Methode wird genutzt, um ultradünne organische und biopolymere Filme an der Grenzfläche zwischen einer Goldschicht und einer Flüssigphase mit räumlicher Auflösung zu untersuchen. Wegen der hohen Empfindlichkeit und der Möglichkeit, Wechselwirkungen zwischen zweidimensional angeordneten, immobilisierten Bindungspartnern und gelösten Analyten in Echtzeit zu messen, wird die SPR intensiv für das Monitoring und die Charakterisierung biomolekularer Interaktionen genutzt, z.B. um heterogene Antikörper-Antigen-Wechselwirkungen oder DNA-Hybridisierungen an Festphasen zu detektieren.

Die intensive Untersuchung von Interphasenprozessen zwischen Biomolekülen und Metalloberflächen hat auch zur gezielten Weiterentwicklung besonderer spektroskopischer Methoden beigetragen. Als Beispiel sei die Oberflächen-verstärkte-Ramanstreuung (SERS = surface-enhanced raman scattering) genannt, bei der Moleküle, die an rau Gold- oder Silberoberflächen adsorbiert sind, bis zu 100 000fach verstärkte Intensitäten im Vibrationspektrum aufweisen.^[151] Da mit SERS im Prinzip nur die erste direkt am Substrat gebundene Monolage beobachtet wird, ermöglicht diese Methode, die spezifischen Wechselwirkungen zwischen einer metallischen Festphase und daran adsorbierten Biomolekülen gezielt zu untersuchen. Wegen ihrer ausgezeichneten SERS-Eigenschaften und guten Biokompatibilität wurden z.B. Citrat-stabilisierte Silberkolloide als Substrate eingesetzt, um detaillierte Studien an adsorbierten Proteinen vorzunehmen. Diese zeigten, dass verschiedene Enzyme wie die Chlorcatechol-Dioxygenase,^[36] Cytochrom c (Cc)^[37] und verschiedene Cytochrom P450-Proteine^[38] ihre spezifische Aktivität auch nach der Adsorption an die Metalloberfläche behalten. Da bei Präparationen von kolloidalem Silber die Partikelgrößenverteilung meistens sehr groß ist, treten oft Probleme bei der Reproduktion der optischen Eigenschaften oder der Adsorptionsfähigkeit von Proteinen auf. Dahingegen sind viele Methoden bekannt, monodisperse Proteinbeschichtete Goldpartikel reproduzierbar herzustellen.^[152] Leider weisen Goldkolloide jedoch deutlich geringere SERS-Verstärkungsraten bei Vis-Anregung auf, sodass die SERS-Intensitäten von

Biomolekül-Goldkolloid-Konjugaten nur relativ schwach ausgeprägt sind.

Natan et al. berichteten über eine Lösung für dieses Problem, indem sie das Häm-haltige Redoxenzym Cc als Modellsystem wählten, das in einer definierten Orientierung über seine Lysin-reiche Häm-Bindungstasche an Citrat-stabilisierte Goldoberflächen adsorbiert.^[35] Goldnanopartikel mit einem Durchmesser von 12 nm wurden mit Cc beschichtet, und die erhaltenen Konjugate wurden genutzt, um das Protein an kolloidalem Silber für SERS-Messungen zu adsorbieren (Abbildung 19). Die von den Ag/Cc/Au-Sandwich-Aggregaten erhaltenen SERS-Spektren zeigten, dass das Protein seine native Konformation beibehalten hatte. Der Vorteil dieser Vorgehensweise besteht darin, dass die Ag/Cc/Au-Aggregate ausgehend von wohldefinierten Konzentrationen der Goldträgerpartikel hergestellt werden können und die SERS-Messungen an anders konzentrierten Lösungen der Silberkolloide durchführbar sind, die weniger gut definiert sein können. Darüber hinaus gestattet dieser Ansatz, die natürliche Abhängigkeit der SERS-Intensitäten vom Abstand zum Silbersubstrat auszugleichen, da sich das Analytmolekül zwischen zwei Metalloberflächen befindet.^[35] So wurde beobachtet, dass in den Metall/Protein/Metall-Sandwich-Aggregaten signifikant erhöhte elektromagnetische Felder zwischen den Partikeln auftreten.^[153] Diese starke elektromagnetische Kupplung zwischen den Teilchen wurde aus den Wellenlängen-abhängigen SERS-Verstärkungsraten und dem Auftreten einer Wellenlängen-verschobenen Einzelpartikel-Plasmonenbande abgeleitet. Hieraus wird deutlich, dass mit solchen Studien theoretisch vorhergesagte, elektromagnetische Effekte zwischen dicht gepackten Nanoteilchen experimentell verifiziert werden können.^[153] Über die Grundlagenforschung hinaus hat die SERS-Technik jedoch auch das Potential für die Entwicklung analytischer Methoden, z.B. als strukturabhängige Detektionsmethode für die Kapillarelektrophorese^[154] oder um in bioanalytischen Assays dsDNA zu quantifizieren.^[155]

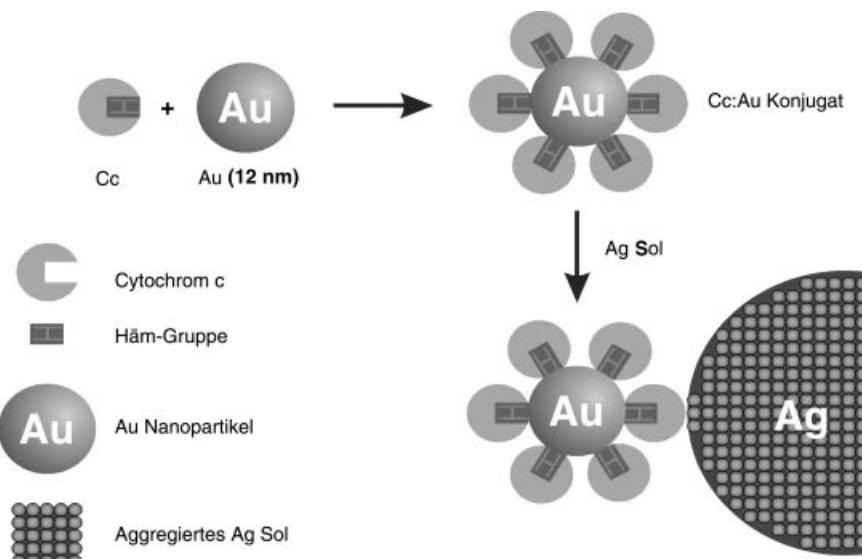


Abbildung 19. Bildung eines Metall-Cytochrom c(Cc)-Metall-Sandwichkomplexes für die Oberflächen-verstärkte Ramanstreuung. Das Häm-enthaltende Redoxenzym Cc adsorbiert an Citrat-stabilisierte Goldpartikel über seine Lysin-reiche Häm-Bindungstasche. Die entstehenden Konjugate werden genutzt, um das Protein an kolloidalem Silber zu binden.^[35]

5.2. Nanopartikel als Biomarker

5.2.1. Protein-beschichtete Partikel

Mit Proteinen beschichtete Goldnanopartikel werden seit langem als Reagenzien in den Biowissenschaften eingesetzt.^[156] Beispielsweise wird kolloidales Gold mit einem Durchmesser von ca. 10–40 nm, das mit Antikörper-Molekülen beschichtet ist, routinemäßig in der Histologie verwendet, um ausgewählte Geweberegionen für die TEM-Analytik biospezifisch zu markieren. Kleinere molekulare Goldcluster mit einem Durchmesser von 0.8 oder 1.4 nm wurden als verbesserte Reagenzien für die ortsspezifische Markierung biologischer Makromoleküle entwickelt (Abbildung 4).^[43, 157, 158] Diese Goldcluster weisen eine Reihe von Vorteilen gegenüber kolloidalem Gold auf: Sie sind monodispers, zeigen eine höhere Stabilität und ihre geringe Größe ermöglicht ein besseres Eindringverhalten und eine vollständigere Markierung antigener Bereiche mit hoher Auflösung. Die 1.4 nm großen Goldteilchen sind gerade noch mit einem konventionellen Elektronenmikroskop direkt beobachtbar. Wenn sie kovalent an Antikörperfragmente gekuppelt sind, kann eine räumliche Auflösung von ca. 7 nm erreicht werden. Die Nachweisbarkeit der Cluster kann drastisch erhöht werden, indem eine nasschemische Silberentwicklung durchgeführt wird, die bevorzugt an diesen Clustern abläuft. Hierdurch können Gewebe für histologische Untersuchungen im Elektronen- oder Lichtmikroskop oder Picogramm-Mengen eines Antigens in Immunoblots sichtbar gemacht werden.^[159]

Die Signalverstärkung durch Silberentwicklung kann auch für den elektrischen Nachweis biomolekularer Bindungen genutzt werden, z.B. indem Mikroelektroden kurzgeschlossen werden (Abbildung 20). Hierzu werden Goldnanopartikel in den Lücken einer Anordnung von Mikroelektroden durch biospezifische Wechselwirkungen immobilisiert, z.B. durch Antikörper-basierte Immunosorption.^[160] Die Kolloide dienen als katalytische Zentren für die reduktive Abscheidung einer leitfähigen Silberschicht, die einen Kurzschluss der zwei Elektroden bewirkt. Der resultierende Abfall des Ohmschen Widerstandes ist das Messsignal zum Nachweis der biospezifischen Bindung. Elektroden-immobilisierte Schichten von Goldnanoteilchen wurden zur Adsorption des Redoxenzymes Meerrettich-Peroxidase genutzt, um Biosensoren für die elektrokatalytische Detektion von Wasserstoffperoxid herzustellen.^[161–163] Goldnanoteilchen können auch zur Verbesserung der Nachweigrenze der SPR-basierten Echtzeitanalyse biospezifischer Wechselwirkungen eingesetzt werden (Abbildung 21).^[164, 165] Die drastische Verstärkung von SPR-Signalen wurde zuerst in einem Sandwich-Immunoassay beobachtet, in dem ein Sekundärantikörper eingesetzt wurde, der mit Goldnanoteilchen gekuppelt war. Dieser Antikörper wurde zur Markierung des Primärantikörpers genutzt, der seinerseits durch spezifische Immunosorption an das auf der Oberfläche des Goldsensors immobilisierte Antigen gebunden hatte. Die Bindung von kolloidalem Gold an die Sensoroberfläche bewirkte eine starke Verschiebung des Plasmonenwinkels, eine verbreiterte Plasmonen-Resonanz und einen Anstieg der Minimalreflektion, sodass picomolare Konzentrationen des Antigens nachgewiesen werden konn-

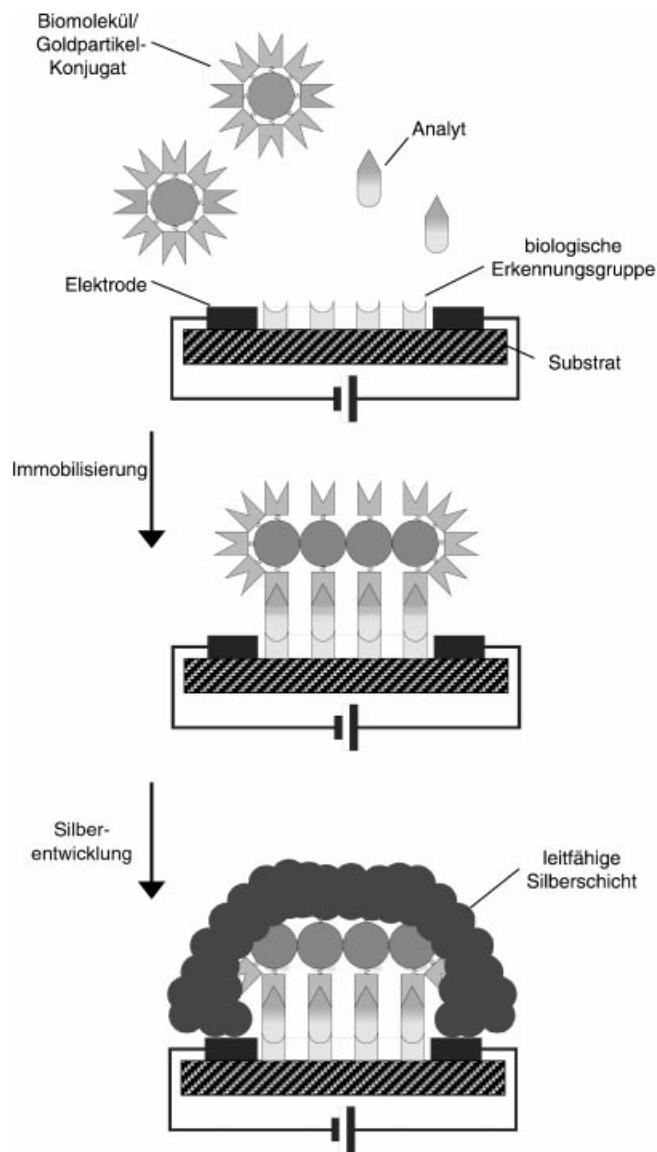


Abbildung 20. Elektrische Detektion von biologischen Erkennungsprozessen. Rezeptorgruppen wie Antikörper oder DNA-Oligomere werden in der Lücke zwischen zwei Mikroelektroden immobilisiert und als Fängerreagenzien für die spezifische Bindung komplementärer Zielmoleküle verwendet. In einem Sandwich-artigen Assay, wird der adsorptiv gebundene Analyt über eine zweite biologische Erkennungseinheit mit kolloidalem Gold markiert. Anschließende reduktive Abscheidung von Silber führt zur Entstehung einer leitfähigen Metallschicht, die die zwei Elektroden kurzschließt.

ten.^[164] In ähnlicher Weise wurde eine ca. 1000fache Verbesserung der Nachweisempfindlichkeit bei der Analyse von Nucleinsäure-Hybridisierungen erzielt, indem kolloidale Gold-Oligonucleotid-Konjugate als Sonden eingesetzt wurden (Abbildung 21).^[165] Diese Ergebnisse legen nahe, dass die Nachweigrenze der SPR-Analytik^[150] zu ähnlich hoher Empfindlichkeit verschoben werden kann, wie sie bei der herkömmlichen Fluoreszenz-basierten DNA-Hybridisierungsanalyse heutzutage erreicht wird.

Kürzlich wurde über die Verwendung kolloidaler plasmon-resonanter Silberpartikel (PRP = plasmon-resonant particles) als Reportergruppen in biologischen Assays berichtet.^[166] PRPs können einfach mit einem Mikroskop beob-

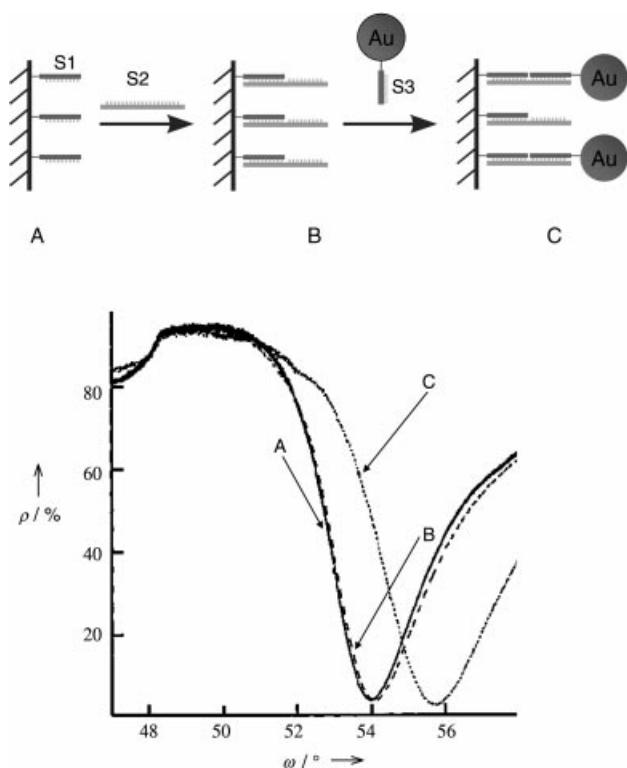


Abbildung 21. Nachweis der DNA-Hybridisierung durch Oberflächen-Plasmonen-Resonanz-Analyse. Ein mit Fänger-Oligonukleotiden S1 functionalisierter Goldsensorchip (A) wird eingesetzt, um spezifisch die komplementäre Ziel-DNA S2 zu binden (B). Die Kupplung eines kolloidalen Gold-Oligonukleotid-Konjugates S3 ermöglicht die Detektion des Oberflächen-gebundenen Zielmoleküls (C). Die entsprechenden SPR-Kurven (Reflektivität ρ als Funktion des SPR-Winkels ω) verdeutlichen die enorme Vergrößerung von ω beim Übergang von B nach C, im Vergleich zum Übergang von A nach B (Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [165]. Copyright 2000 American Chemical Society).

achtet werden, das mit einer konventionellen Beleuchtung für die Dunkelfeld-Mikroskopie ausgestattet ist. Die Verwendbarkeit von PRPs, die mit bioaktiven Liganden beschichtet waren, wurde in einem Modellsystem mit einem Sandwich-Immunoassay zum Nachweis eines Antikörpers gegen Biotin gezeigt. Da PRPs nicht ausbleichen und hell genug sind, um rasch detektiert und ausgezählt zu werden, könnten diese Teilchen in hochsensitiven Testassays auf der Basis von Einzelmolekül-Nachweisverfahren eingesetzt werden.^[166]

Nanopartikel aus Halbleitermaterialien lassen sich ebenfalls als leistungsfähige fluoreszente Reportergruppen verwenden, um biologische Komponenten zu markieren.^[17, 18, 32, 167] Solche Quantenpunkte haben mehrere Vorteile gegenüber herkömmlichen fluoreszenden Farbstoffen, so sind die Absorptions- und Emissionswellenlängen über die Teilchengröße und die Materialzusammensetzung bequem einstellbar, und die Emissionsbanden haben eine enge spektrale Bandbreite (Abbildung 22). Typischerweise werden Emissionsbreiten bei halber Maximalintensität (FWHM = full-width at half-maximum) von 20–30 nm erzielt, die damit nur ein Drittel der Breite herkömmlicher organischer Farbstoffe betragen. Die Quantenausbeuten liegen bei Kern(CdSe)-Schale(ZnS)-Teilchen häufig im Bereich von 35–50 %. Darauf hinaus sind solche Quantenpunkte mehr als 100fach

stabiler gegenüber photochemischem Ausbleichen als organische Farbstoffe, und sie zeigen oftmals eine lange Fluoreszenz-Lebenszeit von mehreren hundert Nanosekunden. Deshalb lassen sie sich für zeitverzögerte Fluoreszenzmessungen einsetzen, mit der die oftmals starke Autofluoreszenz einer biologischen Matrix unterdrückt werden kann.^[168]

Bruchez, Jr. et al. verwendeten für die Markierung biologischer Komponenten Kern(CdSe)-Schale(CdS)-Nanopartikel, die zusätzlich mit einer SiO₂-Schicht umgeben waren.^[17] Die SiO₂-Schicht macht die Nanoteilchen einerseits wasserlöslich und erlaubt andererseits die kovalente Kupplung mit funktionellen Gruppen durch Organosiliciumchemie. Zur Demonstration des Prinzips wurden Maus-Fibroblasten mit zwei unterschiedlich großen Nanoteilchen fluoreszenzmarkiert. Es wurden grüne, 2 nm große Partikel, die mit Methoxysilylpropyl-Harnstoff- und Acetatgruppen beschichtet waren, verwendet, da sie spezifisch über elektrostatische Wechselwirkungen an den Zellkern binden. Rote, 4 nm große Teilchen, deren Oberfläche mit Biotin-Gruppen modifiziert worden waren, wurden eingesetzt, um spezifisch F-Actin-Filamente zu markieren. Letztere waren zunächst mit einem Phalloidin-Biotin-Konjugat und dann mit STV gekuppelt worden. Die Zwei-farbenmarkierung wurde mit einem herkömmlichen Weitfeld-Konfokalmikroskop visualisiert, dass mit einer Quecksilberlampe, einem Fluorescein-Isothiocyanat-Angregationsfilter und einem einzigen Breitband-Detektionsfilter ausgestattet war. Trotz dieser einfachen Anordnung waren beide Farben deutlich nebeneinander sichtbar und konnten mit bloßem Auge unterschieden werden (Abbildung 22).^[17]

Chan et al. verwendeten 4.2 nm große ZnS-stabilisierte CdSe-Quantenpunkte, die mit einer Mercaptoessigsäureschicht stabilisiert waren.^[18] Diese Liganden verbesserten einerseits die Wasserlöslichkeit der Teilchen und wurden andererseits genutzt, um die kovalente Anbindung verschiedener Biomoleküle über deren reaktive Aminogruppen durch Crosslinking zu erreichen. Die Quantenpunkte wurden z.B. mit Transferrin gekuppelt, einem Protein das die Rezeptor-vermittelte Endozytose induziert.^[169] Die Nanopartikel-Protein-Konjugate wurden zu einer Kultur von HeLa-Zellen gegeben, und mit konfokaler Mikroskopie konnte nachgewiesen werden, dass die Konjugate in das Zellinnere transportiert wurden (HeLa-Zellen gehören zu einer epithelialartigen Zell-Linie, sie wurden aus einem Zervix-Karzinom einer Patientin (*Henrietta Lacks*) isoliert und sind die ersten menschlichen Zellen von denen eine permanente Zellkultur etabliert wurde.). In einem weiteren Beispiel wurden Anwendungsmöglichkeiten solcher Nanoteilchen für empfindliche Immunoassays untersucht. Hierzu wurden Konjugate mit IgG-Molekülen hergestellt, die durch Immunpräzipitation mit einem Antikörper gegen die Partikel-gebundenen Proteine ausgefällt werden konnten. Die beobachtete Aggregation der Nanoteilchen in diesem einfachen Experiment zeigte deutlich, dass die Funktionalität der Biomoleküle durch die Verknüpfung mit den Partikeln nicht beeinträchtigt wird.^[18] In einer aktuellen Fortführung dieser Arbeiten wurden Mikrometer-dimensionierte Polymerpartikel mit mehreren verschiedenen Quantenpunkten markiert, sodass sie als eine Art optischer „Barcode“ für Biomoleküle verwendet werden können.^[170]

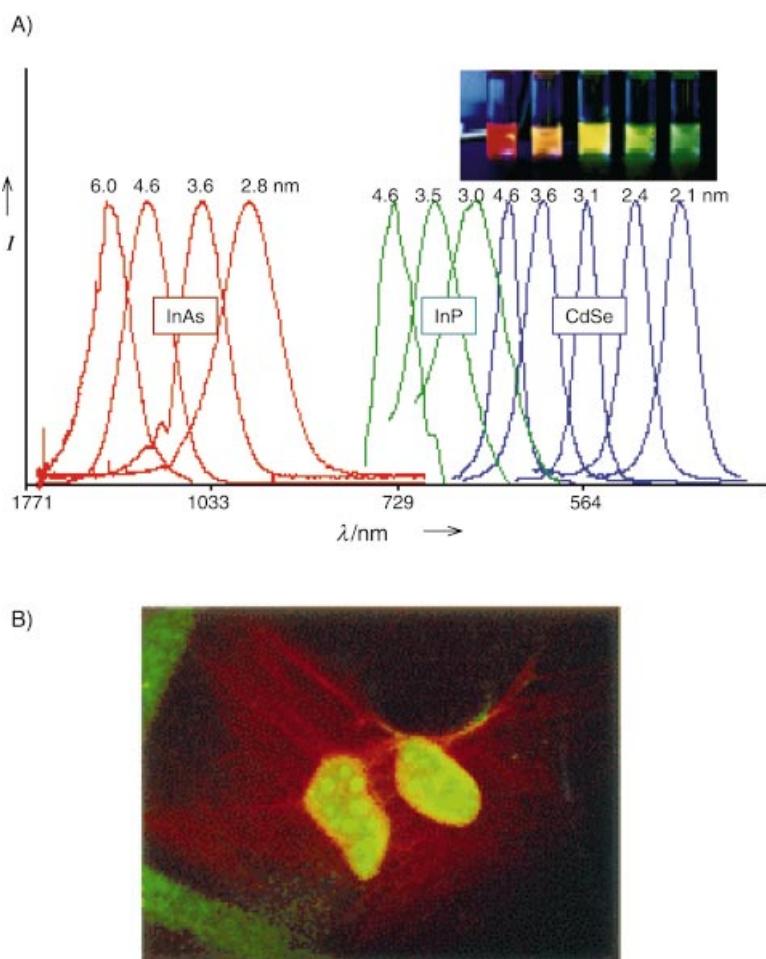


Abbildung 22. A) Fluoreszenzemissionsspektren von Halbleiter-Quantenpunkten; B) Schnitt durch mit Quantenpunkten doppelt markierte Mausfibroblasten. Die Actinfasern sind rot angefärbt. Die unspezifische Markierung der Kernmembran mit roten und grünen Sonden führt zu einer gelben Anfärbung (Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [17]. Copyright 1998 American Association for the Advancement of Science).

Mattoucci et al. haben kürzlich über einen neuen Ansatz zur Kupplung von Biomolekülen mit Halbleiter-Quantenpunkten berichtet.^[32] Hierzu wurde ein rekombinantes Linkerprotein hergestellt, das ein basisches Leucin-Reißverschluss-Motiv enthält. Dies vermittelt die elektrostatische Bindung des Proteins an negativ geladene Halbleiterpartikel (Abbildung 23). Proteine mit spezifischen Funktionen, z. B. bioaktive Enzyme oder Bindungsproteine, können durch rekombinante Methoden über eine flexible Linkerkette am Leucin-Reißverschluss-Motiv angehängt werden. So wurde z. B. ein Fusionsprotein aus dem Maltosebindungsprotein (MBP) und dem Leucin-Reißverschluss-Motiv hergestellt und zur Biofunktionalisierung von 4 nm großen CdSe/ZnS-Quantenpunkten eingesetzt. Die entstandenen Konjugate enthielten etwa 19 Proteinmoleküle pro Nanoteilchen und zeigten sowohl die vollständige biologische Funktionalität des MBP als auch die unbeeinflussten photolumineszenten Eigenschaften der Quantenpunkte. Die Bindung des Fusionsproteins wirkt sich vorteilhaft auf die Stabilität der Nanoteilchen in wässrigen Lösungen aus.^[32] Stabile, wasserlösliche Oligonukleotid-Konjugate wurden kürzlich aus Hydroxy-passivier-

ten Quantenpunkten hergestellt.^[171] Diese Nanoteilchen können als Marker in der Fluoreszenz-In-situ-Hybridisierung (FISH) eingesetzt werden.

Für die Anwendung als Biomarker müssen noch die Stabilität, die Löslichkeit und die Quantenausbeute der Halbleiter-Nanopartikel verbessert werden. Die routinemäßige Anwendung solcher Nanoteilchen wird jedoch kontrovers diskutiert, da generelle Bedenken gegen die Verwendung der hochtoxischen Cadmiumverbindungen in der biomedizinischen Diagnostik bestehen. Wegen ihrer geringeren Toxizität könnten hier Kolloide aus anderen Materialien wie chemisch stabile und hochlumineszente $\text{LaPO}_4:\text{Ce},\text{Tb}$ -Nanokristalle^[172] eine Lösung für dieses Problem darstellen.

5.2.2. Nucleinsäure-beschichtete Partikel

Während Protein-beschichtete Goldkolloide seit langem in bioanalytischen Verfahren eingesetzt werden, wurden Anwendungen von DNA-funktionalisierten Goldpartikeln erst vor etwa fünf Jahren von Mirkin et al. eingeführt.^[77, 89] Die in Abbildung 9 dargestellte DNA-vermittelte Aggregation von Nanopartikeln ist die Basis für einfache und kostengünstige Sensorsysteme, mit denen z. B. Nucleinsäuren pathogener Organismen detektierbar sind. Wenngleich detaillierte Untersuchungen der optischen Phänomene, die mit der supramolekularen Anordnung der Kolloide einhergehen, noch im Gange sind,^[81] wurden bereits einige analytische Anwendungen zur Detektion von Nucleinsäuren in homogener Lösung beschrieben.^[44, 89, 173] Auch der Einsatz DNA-funktionalisierter Nanopartikel in heterogenen Nucleinsäure-Hybridisierungs-Assays mit Chip-gebundenen Fänger-Oligonukleotiden erweckte ein breites Interesse. So haben Mirkin et al.^[174] sowie auch andere Arbeitsgruppen^[175–180] über die DNA-vermittelte Immobilisierung von Goldnanopartikeln berichtet, mit der supramolekulare Oberflächen aufgebaut und/oder Oberflächen-gebundene Nucleinsäuren für analytische Zwecke topographisch markiert werden können. Hierdurch wird z. B. der hochsensitive scanometrische Nachweis von Nucleinsäuren im DNA-Mikroarray-Format ermöglicht.^[181] Dieser Ansatz basiert auf der Reduktion von Silberionen in Gegenwart von Goldpartikeln (Abbildung 24) und ermöglicht eine etwa 100fach verbesserte Nachweisgrenze im Vergleich zur konventionellen Fluoreszenzdetektion von DNA.^[182] Mit der größenselektiven Lichtstreuung von Goldnanopartikeln mit 50 und 100 nm Durchmesser konnte eine Zweifarbenmarkierung von Oligonukleotid-Arrays erreicht werden.^[183]

Kolloidale Goldpartikel wurden auch zur Signalverstärkung beim Nucleinsäurenachweis mit der Quarzkristall-Mikrowaage,^[31, 184–186] der winkelabhängigen Lichtstreuung,^[187] und der Oberflächen-Plasmonen-Resonanz (Abbildung 21)^[165] eingesetzt. Willner et al. haben kürzlich über die Verwendung von DNA-modifizierten 2.6 nm großen CdS-

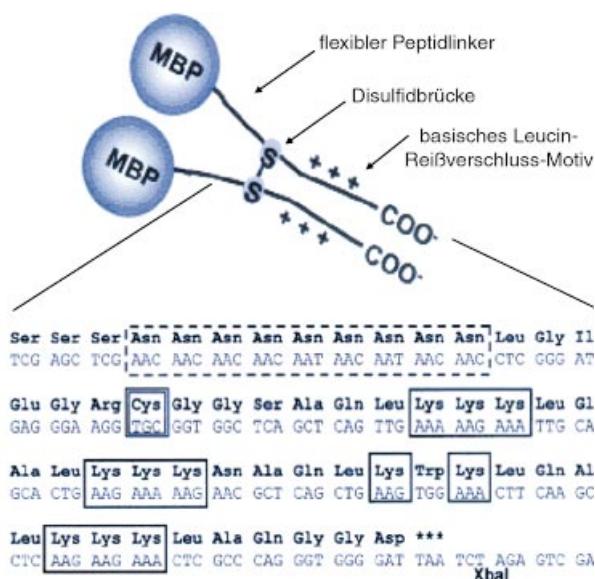


Abbildung 23. Rekombinanter Proteinlinker, der aus einer funktionellen Proteineinheit (MBP = Maltosebindungsprotein) und einem basischen Leucin-Reißverschluss-Motiv besteht. In der primären Aminosäuresequenz sind das flexible Linkerpeptid (gestrichelter Kasten), die Cysteinreste für die Kettenvernetzung (doppelt eingerahmter Kasten) und die Lysinreste, die zur positiven Nettoladung des Leucin-Reißverschluss-Motivs beitragen (einfacher Kasten) hervorgehoben (Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [32]. Copyright 2000 American Chemical Society).

Nanoteilchen für die photoelektrochemische Detektion der DNA-Hybridisierung berichtet. Hierbei wurde an einer Elektrode über die Hybridisierung komplementärer Nucleinsäuren ein Array aus Quantenpunkten aufgebaut, der bei

Lichteinstrahlung einen zur Konzentration des DNA-Analysen proportionalen Photostrom generiert.^[188]

Auch DNA-modifizierte Proteine lassen sich einfach und effizient an DNA-beschichteten Goldkolloiden immobilisieren.^[99] Dieser Ansatz hat einige Vorteile gegenüber herkömmlichen Methoden zur Adsorption von Proteinen an kolloidalem Gold, insbesondere da sich die biofunktionalisierten Goldnanopartikel nicht nur durch die unbeeinflussten Erkennungseigenschaften der Kolloid-gebundenen Proteine, sondern auch durch außergewöhnliche Stabilität und Regenerierbarkeit auszeichnen. Die so aufgebauten Biometallhybride wurden als Reagenzien in Sandwich-Immunoassays für die Detektion von Proteinen eingesetzt. So konnten mit einer Goldkolloid-katalysierten Silberentwicklung Antigenmengen im fmol-Bereich nachgewiesen werden. Die Methode kann auch zur ortsaufgelösten Detektion von Antigenen im Chip-Format genutzt werden.^[99]

5.3. Therapeutische Anwendungen

Goldnanopartikel werden seit langem als Träger für den Transport von Doppelstrang-DNA in der so genannten „Gene-Gun“-Technologie verwendet.^[189] Bei dieser Methode wird Plasmid-DNA (Länge von mehreren 1000 Basenpaaren) adsorptiv an Gold- oder Wolframkolloide gebunden, deren Durchmesser im Bereich von 500 nm bis zu einigen Mikrometern liegt. Die DNA- oder auch RNA-beschichteten Partikel werden in eine pistolenartige Apparatur geladen und mit einem niedrigen Helium-Druckpuls in nahezu beliebiges Zielgewebe geschossen. Ein besonderer Vorteil dieser Methode besteht darin, dass Zellen für eine Transfor-

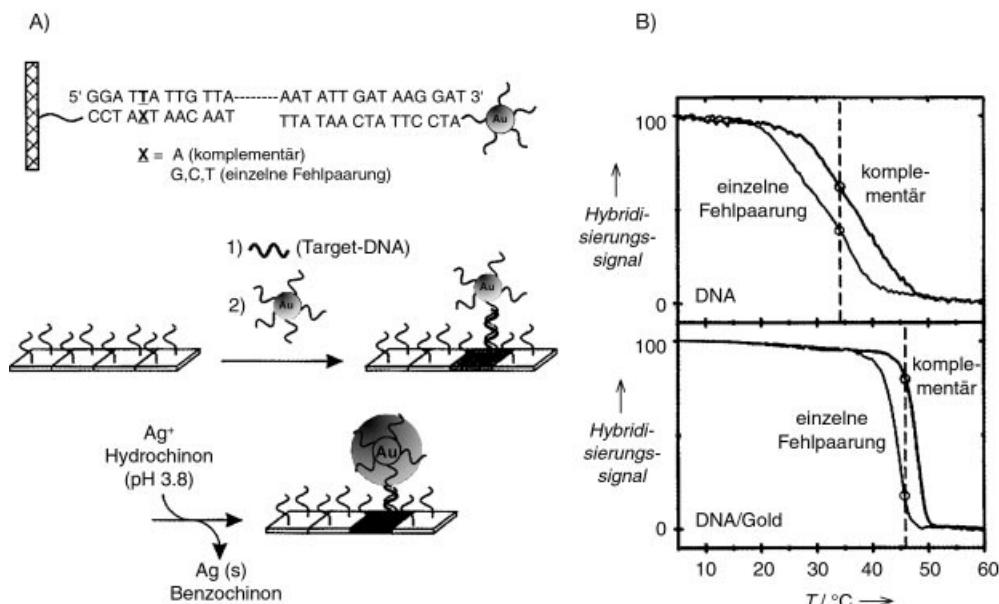


Abbildung 24. Scanometrische Detektion der Nucleinsäure-Hybridisierung in der DNA-Chip-Analytik. Auf Glasträgern immobilisierte Fänger-Oligonukleotide werden zur spezifischen Bindung von Ziel-Nucleinsäuren verwendet. Oligonukleotid-modifizierte Goldnanopartikel werden als Sonden eingesetzt, um die Festphasenhybridisierung zu detektieren. Nach der Signalverstärkung durch eine Silberentwicklung werden die immobilisierten kolloidalen Goldsonden sichtbar gemacht, indem der Glasträger mit einem Flachbett-Scanner abgebildet wird. Der außergewöhnlich scharfe Schmelzpunkt der immobilisierten DNA-Nanopartikel-Netzwerke (siehe die rechts abgebildeten Schmelzkurven) erlaubt, dass einzelne Fehlpaarungen mit dieser Methode sicher nachweisbar sind (Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [181]. Copyright 2000 American Association for the Advancement of Science).

tion nicht aus dem jeweiligen Gewebe isoliert werden müssen. Die Partikel dringen in die Zelle ein, die DNA wird freigesetzt und diffundiert in den Zellkern, wo sie z. B. in die Chromosomen des Organismus integriert werden kann. Seit ihrer Entwicklung Mitte der 80er Jahre wurden mit der Gene-Gun-Technologie zahlreiche Anwendungen realisiert, die das enorme Potential dieser Methode für die biolistische Transfektion von Organismen^[189] oder auch für die DNA-Immunisierung^[190] eindrucksvoll belegen. Die DNA-Immunisierung, die auch als „DNA-Vaccinierung“ oder „genetische Immunisierung“ bezeichnet wird, ermöglicht eine Stimulation des Immunsystems, mit der im Tiermodell ein Schutz gegen viele infektiöse Pathogene, Tumore und Autoimmunkrankheiten erreicht werden konnte. Hierbei wird Plasmid-DNA, die ein Polypeptid-Antigen codiert, in eine Wirtszelle, z.B. durch Partikel-Beschuss mit der Gene-Gun, eingeschleust. Innerhalb der Zelle dient die DNA als Templat für die hocheffiziente Translation des Antigens, das dann die zelluläre oder humorale Immunantwort induziert.^[190]

Paramagnetische Nanopartikel werden gegenwärtig untersucht, um sie in biomedizinischen Anwendungen für die Behandlung von Krebserkrankungen einzusetzen.^[191] So können biokompatible Dextran- oder Silan-beschichtete superparamagnetische Nanoteilchen über Endozytose in Tumorzellen aufgenommen werden. Die intrazellulären magnetischen Flüssigkeiten der Partikel lassen sich durch externe magnetische Wechselfelder anregen, wodurch es zu lokalen Temperaturerhöhungen kommt, die eine Hyperthermie auslösen. Brustcarzinomzellen lassen sich *in vitro* und *in vivo* mit einer solchen magnetischen Flüssigkeitshyperthermie beeinflussen.^[191]

5.4. Nanopartikel als Modellsysteme

Zwei Eigenschaften von Metall- und Halbleiter-Nanopartikeln prädestinieren diese, um als Modellsysteme für die Untersuchung grundlegender biologischer Phänomene eingesetzt zu werden. Einerseits stimmen sie in ihrer Größe mit den makromolekularen Komponenten lebender Systeme überein. Proteine, Nucleinsäurefragmente und deren supramolekulare Aggregate wie das Nucleosom, Replikations- und Transkriptionskomplexe oder das Ribosom haben typischerweise Dimensionen im Bereich von 2–200 nm. Andererseits sind Nanoteilchen aus anorganischen Materialien die grundlegenden Bausteine der Biomineralisation, einem fundamentalen Prozess mit dem die Natur aus genetischer Information durch chemische Methoden wohldefinierte Morphologien erzeugt. Es ist deshalb nicht überraschend, dass die aktuellen Arbeiten an Metall- und Halbleiter-Nanopartikeln zu Konzepten führten, bei denen solche Nanoteilchen als Modellsysteme eingesetzt werden. So kann die unspezifische Wechselwirkung zwischen Proteinen und Nucleinsäuren oder die Prinzipien der Biomineralisation untersucht werden.

5.4.1. DNA-Protein-Wechselwirkungen

Außer der Verwendung von Metall- und Halbleiter-Nanopartikeln zur Markierung von Antikörpern oder Oligonu-

cleotiden können auch die Nanoteilchen selbst als Sonde genutzt werden, um biologische Prozesse zu untersuchen. Die Nanopartikel haben eine geeignete – proteinähnliche – Größe und ihre Ligandenhülle kann mit einer Vielzahl chemischer Gruppen einfach und rasch bestimmten Anforderungen angepasst werden. Sie können deshalb als „anorganische Modellproteine“ für die Untersuchung unspezifischer DNA-Protein-Wechselwirkungen eingesetzt werden.^[39–41] Die Protein-induzierte Krümmung der DNA und das Umwickeln einer DNA-Doppelhelix um einen Proteinkern ist besonders wichtig für Nucleinsäurefragmente, die aus einigen wenigen bis hin zu etwa 150 Basenpaaren bestehen, entsprechend einem Längenbereich von ca. 1–50 nm.^[192] Das wohl bekannteste Beispiel für eine Sequenz-unabhängige Bindung und Krümmung von DNA durch Proteine ist das Umwickeln von ca. 150 Basenpaaren der dsDNA um das Nucleosompartikel, ein aus acht basischen Proteinen bestehender Komplex mit einem Durchmesser von ca. 11 nm (Abbildung 25).^[193] Aktuelle Arbeiten legen nahe, dass die Histone, die lange Zeit

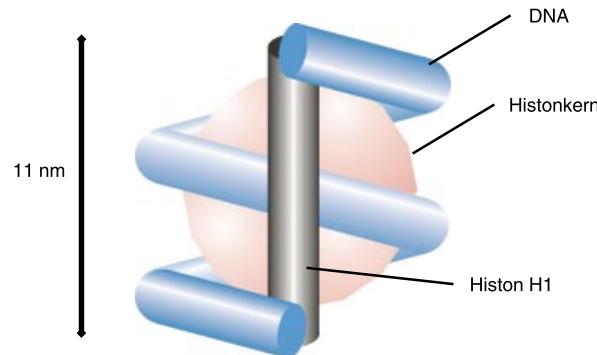


Abbildung 25. Nucleosommodell: Acht basische Proteine bilden den Histonkern, der als Träger für 165 Basenpaare der dsDNA dient, die in 1.8 Windungen einer linksgängigen DNA-Superhelix um den Proteinkern geschlungen sind. Ein zusätzliches Histonmolekül H1 verschließt das Nucleosom, sodass ein Partikel mit einem Durchmesser von etwa 11 nm entsteht.

als passive strukturelle Substrate für die Bindung der DNA betrachtet wurden, tatsächlich einen aktiven Einfluss auf die Genexpression nehmen, indem sie mit Transkriptionsfaktoren um die DNA-Bindung konkurrieren.^[194] Dies macht deutlich, dass detaillierte Untersuchungen der unspezifischen Wechselwirkungen zwischen DNA und Proteinen und der Protein-induzierten DNA-Verformung zum Verständnis der grundlegenden biologischen Prozesse der Verpackung, Manipulation und Prozessierung von DNA unerlässlich sind.

Murphy et al. haben ein unkonventionelles Konzept entwickelt, um die Adsorption von DNA an Proteine anhand ähnlich dimensionierter Quantenpunkte modellhaft zu untersuchen.^[39–41] Das Nanopartikel imitiert dabei eine Proteinähnliche Oberfläche im Hinblick auf dessen Dimensionen und Oberflächengruppen und bietet den Vorteil einer spektroskopisch detektierbaren Sonde, mit der die Interaktion zur DNA gemessen werden kann. Wenn z.B. eine bestimmte DNA-Sequenz eine ungewöhnliche Form oder Flexibilität des Moleküls induziert, dann ist anzunehmen, dass diese Eigenschaften die adsorptive Bindung der DNA an ein protein-

großes Nanoteilchen beeinflussen kann. Die Adsorption kann im Falle von Halbleiter-Nanopartikeln über die Lösung der Photolumineszenz verfolgt werden. Diesem Ansatz folgend wurde die Adsorption eines „geknickten“ DNA-Moleküls an 4 nm großen CdS-Nanopartikeln mit der eines „gestreckten“ DNA-Moleküls verglichen (Abbildung 26). Die selbstkomplementäre DNA-Sequenz 5'-GGTCATGGCCATGACC-3', die kristallographisch einen Knick von 23° am zentralen

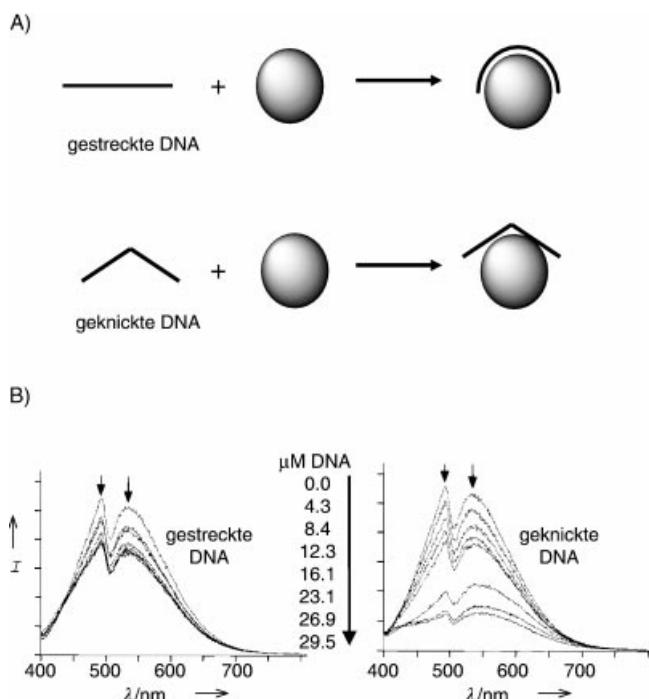


Abbildung 26. Halbleiter-Nanopartikel als Modell für eine Protein-ähnliche Oberfläche. A) Schematische Verdeutlichung, dass eine ungewöhnliche Form eines DNA-Moleküls zu verändertem Bindungsverhalten an Partikel von der Größe eines Proteins führen können. B) Die Wechselwirkung zwischen einem gestreckten oder einem geknickten DNA-Molekül und Nanopartikeln wurde durch Photolumineszenzlöschungs-Titration mit Mercaptoethanol-stabilisierten 4 nm CdS-Partikeln untersucht. Die Konzentrationsabhängige Löschung ist deutlich effektiver für das geknickte DNA-Molekül (Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [40]. Copyright 1996 American Chemical Society).

GGCC in Gegenwart von Magnesiumionen aufweist,^[195, 196] adsorbiert deutlich besser an die CdS-Quantenpunkte als das gestreckte Molekül mit der Sequenz 5'-GGGTCTCAGCTTGCC-3' oder das gekrümmte Oligomer mit der Sequenz 5'-GGTCCAAAAAAATTGCC-3'.^[39] Untersuchungen mit neutralen, Mercaptoethanol-stabilisierten CdS-Partikeln zeigten, dass Magnesiumionen für die stärkere Bindung des geknickten Oligomers nicht essentiell sind, während die anderen zwei DNA-Moleküle ohne Magnesiumionen kaum Wechselwirkungen mit den Nanopartikeln eingehen (Abbildung 26B).^[40]

Photolumineszenz-Spektroskopie-Untersuchungen zur Temperatur- und Salzabhängigkeit der Bindung langerer Kalbsthymus-DNA an CdS-Quantenpunkte (4.5 nm) ergab, dass die Adsorption der DNA durch die Entropie getrieben wird und der enthalpische Beitrag zur DNA-Oberflächen-Bindung leicht ungünstig ist. Im Einklang mit dem Mecha-

nismus der unspezifischen DNA-Protein-Wechselwirkung wird die Zunahme der Entropie vermutlich durch Freisetzung von Lösungsmittelmolekülen und Gegenionen aus der Interphase bedingt.^[41] Diese Untersuchungen zeigen, dass Halbleiter-Nanoteilchen wegen ihrer Größe, ihrer einstellbaren chemischen Oberflächenbeschaffenheit und ihrer intrinsischen Fluoreszenz als biologische Modellkomponenten eingesetzt werden können. Anstelle der Fluoreszenzlöschungsanalyse mit Quantenpunkten können jedoch auch Gold- oder Silbernanopartikel in Kombination mit der SERS als spektroskopische Methode für solche Studien verwendet werden.^[197]

5.4.2. Biomineralisation

Die Bildung biologischer Mineralien, aus denen Knochen, Zähne oder Muschelschalen bestehen, ist eines der faszinierendsten Beispiele wie in lebenden Systemen aus genetischer Information makroskopische Formen erzeugt werden.^[198] Die Leistungsfähigkeit dieser einzigartigen Prozesse, in denen Nanometer-große Bausteine aus mineralisierten Kristallen in der zellulären oder extrazellulären Matrix lebender Organismen abgeschieden und zu makroskopischen Strukturen organisiert werden, lässt sich eindrucksvoll anhand der Kieselalgen (*Diatomeae*) verdeutlichen, deren verschiedenen Arten jeweils individuelle Phänotypen bilden (Abbildung 27).^[199] Die Morphologie der nanostrukturierten SiO_2 -Zellwände der Kieselalgen sind vermutlich auf speziesspezifische Sätze polykationischer Peptide zurückzuführen. Diese so genannten „Silaffine“, die aus Zellwänden von Kieselalgen isoliert wurden, bestehen aus kovalent modifizierten Lysinresten, die *N*-Methyl-propylamin-Einheiten und ε -*N,N*-Dimethyllysin-Gruppen enthalten.^[200] Langkettige Polyamine, die den organischen Hauptbestandteil des Biosilikats ausmachen, induzieren eine rasche Ausfällung von Silikaten. Verschiedene Morphologien des Präzipitats können durch Polyamine unterschiedlicher Kettenlänge erzeugt werden.^[201]

Wenngleich die Grundlagenforschung zur Biomineralisation in den letzten 25 Jahren bereits einen Einblick in die Mechanismen dieser Prozesse ermöglichte, bleiben dennoch viele Fragen ungeklärt, insbesondere was die Mineralisation in Vertebraten betrifft. Die Biomineralisation der dentalen Zahnschmelz-Matrix mit einem Kohlenstoff-haltigen Hydroxyapatit Mineral ist z.B. gut untersucht.^[198c] Trotzdem sind die chemische Natur der zuerst im Knochen oder Zahn gebildeten Mineralkristalle, die Faktoren die zu dieser Bildung führen oder die Funktionen der an diesen Kristallen assoziierten Makromoleküle im Detail nicht bekannt. Aktuelle Arbeiten zur Molekularbiologie der Ameloblast-Produkte ergaben zwar die Primärstrukturen einiger maßgeblicher Proteine dieses extrazellulären Mineralisationssystems. Details zur Sekundär-, Tertiär- oder Quartärstruktur von Amelogeninen, Tuftelinen, Ameloblastinen, Enamelinen oder Proteinasen, die an der Mineralisation der dentalen Matrix beteiligt sind, deren Interaktion mit anderen Matrix- oder Zelloberflächenproteinen und deren spezifische Rolle im Gesamtprozess sind jedoch noch weitgehend unbekannt. Aber unser Wissen über diese Moleküle, die Struktur der Zahnschmelz-Matrix und die Funktion extrazellulärer Ma-

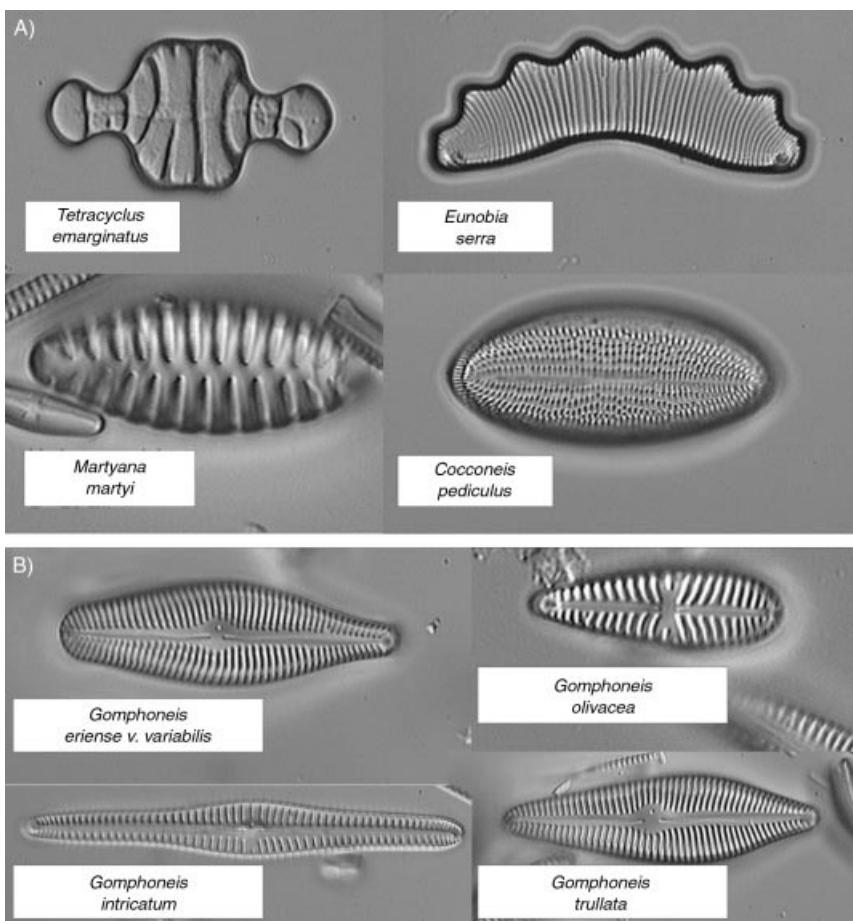


Abbildung 27. Verschiedene Klassen (A) und Arten (B) von Kieselalgen. Reproduziert von der Internet Website: <http://www.calacademy.org/research/diatoms/>.

trixproteine wächst kontinuierlich.^[198c] Deshalb könnten weitere Untersuchungen Therapieansätze für Krankheiten ermöglichen, bei denen der natürliche Mineralisationsprozess gestört ist.

Biologische Antifrostproteine sind ein weiteres eindrucksvolles Beispiel für Makromoleküle mit spezifischen Erkennungseigenschaften für anorganische Strukturen. Diese Antifrostproteine (AFPs) und Antifrostglykoproteine (AFGPs) gehören zu einer umfassenden Klasse von Proteinen, die das Wachstum von Eiskristallen verhindern können. Antifrostproteine werden deshalb in Organismen gefunden, die Lebensräume bewohnen in denen regelmäßig Temperaturen unterhalb des Gefrierpunktes herrschen, z.B. arktische Fische, Amphibien, Insekten oder Pflanzen.^[202] Die molekulare Basis für den Inhibitionsmechanismus des Eiwachstums ist prinzipiell verstanden. AFPS haben die Fähigkeit, spezifisch an das Eis zu adsorbieren und hierdurch dessen Wachstum zu unterbinden. Die Fähigkeit der Eisbindung linearer alpha-helicaler Typ-I AFPs wird auf regelmäßig angeordnete, polare Aminosäureseitenketten zurückgeführt, die komplementär zu einer pyramidalen Ebene des Eisgitters sind. So bindet z.B. das AFP der Winterflunder spezifisch an einen Satz pyramidal angeordneter Ebenen auf der Oberfläche des Eises. Vier Gruppen von Asp-, Asn- und Thr-Resten des AFPs können dabei simultan durch Wasserstoffbrücken und Van-der-Waals-Wechselwirkungen mit der Eisoberfläche interagieren.^[202e]

Globuläre Antifrostproteine wie das Typ-III AFP, das nicht über wiederholende Eisbindungsgruppen verfügt, bindet am Eiskristall mit einer bemerkenswert flachen Bindungsstelle, in der sich H-Brückenbindungsatome komplementär zu zwei Anordnungen von Sauerstoffatomen innerhalb definierter Ebenen des Eisprismas befinden.^[202f] Trotz dieser Einblicke in die molekulare Grundlage der AFP-vermittelten Inhibierung des Eiwachstums sind noch weitere Untersuchungen notwendig, um ein umfassendes Verständnis der Antifrostwirkung zu erhalten. Eines der Ziele betrifft das Design neuartiger Antifrostproteine, die ein großes kommerzielles Anwendungspotential als Lebensmittelzusätze haben, um Zellschäden während des Einfrierens zu verhindern und um das Aussehen und den Geschmack von gefrorenen Lebensmitteln zu verbessern.^[202a]

Die Biomineralisierung hat auch für einige Bakterien eine große Bedeutung. Magnetotaktische Bakterien, die erdmagnetische Feldlinien zur Orientierung ihrer Fortbewegung nutzen, produzieren intrazelluläre magnetische Nanopartikel, die Magnetosomen.^[203] Diese bestehen aus nanometergroßen monodispersen Kristallen eines magnetischen Eisenminerals, häufig Magnetit Fe_3O_4 , die zur Vermeidung der Agglomeration mit einer Magnetosomenmembran umgeben sind (Abbildung 28). Je nach Bakterienart beträgt die Größe der

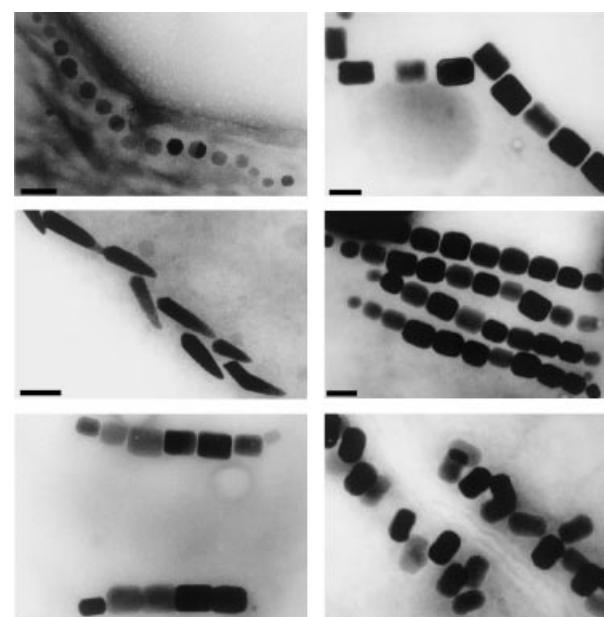


Abbildung 28. TEM-Aufnahmen von Magnetosomen, die aus verschiedenen magnetotaktischen Bakterien isoliert wurden. Der Maßbalken entspricht 100 nm (Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [203a]).

Magnetosomen etwa 35–120 nm im Durchmesser, sodass die Partikel eine einzelne magnetische Domäne darstellen. Die Bildung der Magnetosomen erfolgt durch einen biologischen Mechanismus, der die Anreicherung von Eisen und die Mineralisierung der magnetischen Kristalle mit einer charakteristischen Größe und Morphologie innerhalb von Membranvesikeln aus proteinhaltigen Lipiddoppelschichten steuert. Die Molekularbiologie der Magnetosombildung wird gegenwärtig intensiv untersucht, und bereits mehr als 10 Proteine konnten als Teil der Magnetosomenmembran identifiziert werden. Bakterielle Magnetosomen haben ein großes biotechnisches Anwendungspotential, da sie einige Vorteile gegenüber herkömmlichen synthetischen Magnetpartikeln aufweisen. Hierbei ist insbesondere ihre strukturelle Perfektion und Einheitlichkeit hervorzuheben. Die Magnetosomen können z.B. mit Nucleinsäuren, Enzymen oder Antikörpern gekuppelt werden, sodass sie zur magnetischen Manipulation von biologischen Komponenten einsetzbar sind. Gereinigte, Rezeptor-funktionalisierte Magnetosomen wurden bereits erfolgreich als Kontrastmittel für die Detektion von Tumoren in der Magnetresonanztomographie eingesetzt.^[203]

Frühe biotechnische Anwendungen bakterieller Biominalisationsprozesse wurden von Dameron et al. beschrieben.^[46, 204, 205] Sie entdeckten, dass die Hefe *Candida glabrata* CdS-Nanopartikel produziert, wenn sie in Gegenwart von Cadmiumsalzen kultiviert wird. Vermutlich erfolgt die CdS-Produktion zur Abkapselung und Detoxifizierung intrazellulärer Cadmiumionen. Die biosynthetisch hergestellten Kristalle sind mit einer Schicht von Peptiden umgeben, wobei die Natur des Peptids von den im Kulturmedium enthaltenen Nährstoffen abhängt. So führt die Kultivierung in einem nährstoffreichen Medium zur Produktion von CdS-Partikeln, die mit einer Mischung aus Glutathion und einem γ -Glutamylcysteinidipeptid beschichtet sind. Wird hingegen in Minimalmedium kultiviert, werden Partikel mit polymerisierten Peptiden der allgemeinen Struktur (γ -Glu-Cys)_n-Gly erhalten. Die biologisch hergestellten Peptid-beschichteten Partikel zeigen die gleichen Eigenschaften wie synthetische Halbleiter-Quantenpunkte. Dies betrifft insbesondere die grössten-abhängigen optischen, photolumineszenten und photochemischen Eigenschaften. In einer inhaltlich ähnlichen Arbeit wurde kürzlich über die biologische Synthese einiger Keramik-Metall-Komposite berichtet, so genannte „Cermets“.^[206] So wurden mit dem ursprünglich aus einer Silbermine isolierten Bakterienstamm *Pseudomonas stutzeri* Silber-Kohlenstoff-Kompositmaterialien hergestellt, die zur Produktion funktionaler optischer Dünnschichtbeschichtungen geeignet sein könnten.

Außer direkten biotechnischen Anwendungen, leistet die Erforschung der bakteriellen Bildung von Nanopartikeln und die Wechselwirkung der Organismen mit den anorganischen Oberflächen^[207] auch einen wichtigen Beitrag zum Verständnis fundamentaler Materialeigenschaften synthetischer Nanoteilchen. Beispielsweise lieferten natürliche Biominalisationsprodukte aus Eisenoxyhydroxid kürzlich einen deutlichen Hinweis, dass das Kristallwachstum und die Entstehung von Mikrostrukturen auf einem Aggregationsmechanismus basieren könnten.^[208] Da annähernd perfekte Nanokristalle bequem in großen Mengen herstellbar sind, stellt sich seit

langem die Frage, ob kleine Nanokristalle sich zu ausgedehnten, perfekten Festkörperstrukturen anordnen lassen. Dieser Ansatz wäre äußerst nützlich, um kostengünstig neue optische und elektronische Materialien herzustellen.^[23] Lange dachte man, dass die Aggregation von Nanokristallen stets nur fehlgeordnete Festkörper hervorbringt. Aktuelle Beobachtungen von Banfield et al.^[208] legten nun nahe, dass einige natürliche Mineralien durch einen Prozess gebildet werden, der als „orientierte Anlagerung“ bezeichnet wird. Hierbei dockt ein Nanopartikel an den nächsten so an, dass die zwei Kristalle perfekt angeordnet sind. Eine solche orientierte Anlagerung ist sicherlich durch starke thermodynamische Triebkraft bevorzugt, da die Eliminierung der Zwischenphase zu einer geringeren Oberflächenenergie führt. Dennoch ist es sehr überraschend, dass zwei Kristalle fehlordnungsfrei miteinander verschmelzen, ohne in einer der unzähligen falschen Anordnungen stecken zu bleiben.^[23]

In Anbetracht dieser faszinierenden biologischen Mineralisationsprozesse haben Forschergruppen begonnen, die Möglichkeiten, der modernen Molekularbiologie und Biotechnologie einzusetzen, um Ansätze für eine künstliche Biominalisation zu entwickeln. So wird die Protein-basierte Erkennung organischer und anorganischer Oberflächen von Addadi et al. untersucht.^[209] Sie isolierten Antikörper aus Tieren, die mit Mononatriumurat-Monohydrat- oder Magnesiumurat-Octahydrat-Kristallen immunisiert worden waren. Die Antikörper zeigten eine hohe Spezifität, die es gestattete, selbst Kristalle sehr ähnlicher molekularer und struktureller Eigenschaften zu unterscheiden. Dies legt nahe, dass die Bindungstasche der Antikörper einen Abdruck der Kristalloberflächen enthält. Solche Antikörper können als Nucleationstemplate eingesetzt werden, um eine Kristallbildung in vitro zu beschleunigen.^[209a] Die Allgemeingültigkeit des Ansatzes wurde gezeigt indem monoklonale Antikörper gegen Kristalle aus 1,4-Dinitrobenzol (DNB) hergestellt wurden. Die Reaktivität dieser Antikörper war spezifisch gegen die DNB-Kristalle gerichtet, während keine Wechselwirkung mit molekularem DNB beobachtet wurde, das an Trägerproteine gekuppelt war. Somit erkennen diese Antikörper also nicht die individuelle molekulare Struktur sondern nur das sich wiederholende Motiv des Moleküls an der Oberfläche eines Kristalls.^[209b] In ähnlicher Weise wurden verschiedene Antikörper hergestellt, die bestimmte Formen von Cholesterin-Monohydrat-Kristallen erkennen.^[209c] Diese Antikörper, die mit dreidimensionalen Antigenen erzeugt wurden, binden auch spezifisch an die zweidimensionale, geometrisch reduzierte Form des Antigens, z.B. an flüssige Membranen aus Cholesterin.^[209d,e]

Die Beispiele zeigen, dass die Bindungsstellen von Antikörpern eine Anzahl von molekularen Einheiten erkennen können, die an der Oberfläche in einer speziellen Art orientiert sind. Somit dienen diese Studien einerseits der modellhaften Untersuchung der Antikörper-Antigen-Wechselwirkung und damit auch diesbezüglichen Anwendungen, wie dem Einsatz von Antikörpern zur Detektion supramolekularer Strukturen in biologischen Systemen. Andererseits könnten die Untersuchungen zur Bindung von Immunglobulinen an Kristalloberflächen neue Wege eröffnen, um (semi)-synthetische Bindungsproteine für die Biominalisation neu-

artiger Materialien maßgeschneidert herzustellen. Die rekombinante DNA-Technologie bietet für die Herstellung neuartiger Proteinkomponenten leistungsfähige Methoden, und die Phagen-Display-Technik wurde bereits erfolgreich für die In-vitro-Evolution von Proteinlinkern eingesetzt, die selektiv Oberflächen von Halbleitermaterialien erkennen und binden (Abbildung 8).^[67] Zukünftige Forschungsarbeiten könnten zur Entwicklung von Verfahren führen, mit denen aus genetischen Informationen künstliche anorganische Materialien durch biologisches Wachstum herstellbar sind.

6. Zusammenfassung und Ausblick

Dieser Aufsatz beschreibt ein noch junges, sich rasch entwickelndes Forschungsgebiet im Grenzbereich zwischen Materialforschung, Nanowissenschaften und molekularer Biotechnologie. Ein Schwerpunkt beschäftigt sich mit der Funktionalisierung anorganischer Nanopartikel mit evolutionär optimierten biologischen Komponenten. Da Nanoteilchen und Biomoleküle typischerweise gleiche Dimensionen im Bereich einiger Nanometer aufweisen, dürfte dieser interdisziplinäre Ansatz zur weiteren Etablierung eines neuen Gebietes beitragen, das deskriptiv als biomolekulare Nanotechnologie oder Nanobiotechnologie bezeichnet wird.^[76]

Wenngleich wie in Abschnitt 2 dargestellt eine Reihe chemischer Methoden beschrieben ist, um Biomoleküle und anorganische Materialien zu verknüpfen, herrscht noch ein großer Bedarf nach milden und selektiven Kupplungsmethoden mit denen thermodynamisch stabile, kinetisch inerte und stöchiometrisch wohldefinierte Biokonjugat-Nanopartikel-Hybride hergestellt werden können. Vorbilder aus der Natur legen nahe, dass enzymatische Methoden, kombiniert mit den modernen Verfahren der bioorganischen Synthesechemie,^[210] neue Wege erschließen könnten, um definierte anorganisch/biomolekulare Komponenten herzustellen, die als Bausteine für den Bottom-up-Aufbau komplexer nanostrukturierter Architekturen einsetzbar sind. Erste Arbeiten in diese Richtung verwendeten Protein- oder Nucleinsäure-basierte Erkennungssysteme (Abschnitt 3). In beiden Systemen stehen eine Vielzahl komplementärer Bindungsgruppen mit einer großen Spannbreite freier Assoziationsenergien zur Verfügung. Deshalb bleibt abzuwarten, ob Protein-basierte Systeme tatsächlich den Nucleinsäure-basierten Systemen überlegen sind.^[62] A priori sollte man jedoch erwarten, dass Nucleinsäuren besser zur Funktionalisierung von Nanopartikeln geeignet sind. So repräsentiert ein einzelnes 20-mer Oligonucleotid die physikalisch-chemischen Eigenschaften von 4^{20} ($= 10^{12}$) verschiedenen Erkennungsgruppen. Die Bindungsstärke kann bequem durch Variation der Länge und des GC-Gehaltes nativer DNA-Oligomere oder durch Verwendung nichtnatürlicher Analoga, die über veränderte Rückgrateigenschaften und/oder Basenpaarungsspezifität verfügen, angepasst werden. Strategien der „gerichteten Evolution“, die bereits zur Herstellung neuartiger Proteinlinker eingesetzt wurden,^[67] sind auch auf Nucleinsäuren anwendbar. Es ist vorhersehbar, dass bei den großen Fortschritten in der Entwicklung künstlicher Nucleinsäurerzeptoren, bald auch Aptamere, die spezifisch beliebige

Zielstrukturen erkennen,^[211] für die De-novo-Herstellung von Nucleinsäuresequenzen, die selektiv anorganische Oberflächen erkennen und binden, eingesetzt werden. Deshalb sind insbesondere Kombinationen aus Proteinen und Nucleinsäuren viel versprechend, um durch Synergismen neue Funktionen und Anwendungen zu ermöglichen.^[85]

Eine weitere Schnittstelle von Biotechnologie und Materialwissenschaften beschäftigt sich mit der Nutzung der chemischen und topographischen Eigenschaften biologischer Komponenten als Templat für die Aggregation organischer und anorganischer Bausteine zu nano- und mikrodimensionierten Strukturen (Abschnitt 4). Hier besteht noch ein großer Bedarf an systematischen Untersuchungen zur Wechselwirkung zwischen Biomolekülen und den abiotischen Komponenten. Zukünftige Arbeiten werden diese Fragen behandeln und sich darüber hinaus mit der Herstellung maßgeschneiderter Biomoleküle beschäftigen, die durch genetische oder bioorganische Methoden hinsichtlich ihrer Form und physikalisch-chemischen Eigenschaften für die Templatssynthese optimiert sind. Wenngleich gegenwärtig kaum kommerzielle Anwendungen realisiert sind, eröffnen diese interdisziplinären Forschungsarbeiten ein großes Potential für die Herstellung neuartiger Materialien, die in der Sensorik, Signaltransduktion, Katalyse, oder als biokompatible Werkstoffe für Anwendungen in der biomedizinischen Forschung und dem Tissue-Engineering^[212] einsetzbar sein sollten. Zusätzlich zu diesen langfristigen Perspektiven werden aber heute bereits die modernen Materialien und physikochemischen Methoden, die ursprünglich für die Materialforschung und Physik entwickelt worden waren, in bioanalytischen Anwendungen oder als Modellsysteme eingesetzt, um biologische Fragestellungen zu untersuchen (Abschnitt 5).

Die Fortentwicklung des Joint Venture von Biotechnologie und Materialforschung profitiert von den raschen Fortschritten der Basiswissenschaft Chemie sowie der Genom- und Proteomforschung. Hierdurch werden Daten verfügbar, mit denen noch geeignete Biokomponenten hergestellt werden können, um Nanosensoren, katalytische Einheiten, Lichtsammelkomplexe, ultraschnelle molekulare Schalter, Mediatoren zwischen elektronischen und lebendigen Systemen und andere bio- und optoelektronische Systeme aufzubauen. Es ist offensichtlich, dass wir noch weit von den berühmten Nanomaschinen der Sciencefictionwelt entfernt sind, die autonom in lebenden Organismen Wunden heilen oder Operationen durchführen. Dennoch sollte man sich, zu Beginn eines neuen Jahrhunderts, die rasanten Entwicklungen vor Augen führen, die die organische Totalsynthese vom Beginn des zwanzigsten Jahrhunderts bis hin zum Wettrennen um die „molekularen Gebirgsgipfel“^[213, 214] Ende der 90er Jahre erlebt hat. Eine ähnliche Zuwachsrate für die Fortschritte der supramolekularen Chemie an der Schnittstelle zwischen Biotechnologie und Materialwissenschaften gibt Anlass, den zukünftigen Entwicklungen gespannt entgegen zu sehen.^[221]

Ich danke Dr. M. Adler für die kritische Durchsicht des Manuskriptes und Prof. D. Blohm für die anregenden Diskussionen sowie die großzügige Unterstützung. Unsere Arbei-

ten werden durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft- und den Fonds der Chemischen Industrie finanziell unterstützt.

Eingegangen am 2. April 2001 [A 464]

- [1] J.-M. Lehn, *Supramolecular Chemistry. Concepts and Perspectives*, VCH, Weinheim, 1995.
- [2] F. Vögtle, *Supramolecular Chemistry*, Wiley, Chichester, 1991.
- [3] J. L. Atwood, J. E. D. Davies, D. D. MacNicol, F. Vögtle, *Comprehensive Supramolecular Chemistry*, Elsevier, Oxford, 1996.
- [4] Übersichten: a) H. Shirakawa, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2642–2648; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2574–2580; b) A. G. MacDiarmid, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2649–2659; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2581–2590; c) A. J. Heeger, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2660–2682; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2591–2611; d) F. Würthner, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 1069–1071; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 1037–1039.
- [5] Die Struktur der 50S-Untereinheit des Ribosoms wurde kürzlich mit einer Auflösung von 2.4 Å aufgeklärt: N. Ban, P. Nissen, J. Hansen, P. B. Moore, T. A. Steitz, *Science* **2000**, *289*, 905–920. Die Molekülstrukturen dieser Untereinheit und seiner Komplexe mit zwei Substratanaloga zeigten, dass das Ribosom die Wirkungsweise eines Ribozyme hat: P. Nissen, J. Hansen, N. Ban, P. B. Moore, T. A. Steitz, *Science* **2000**, *289*, 920–930. Neuere Übersichten zur Struktur des Ribosoms: E. Westhof, N. Leontis, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 1651–1655; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1587–1591; D. M. J. Lilley, *ChemBioChem* **2001**, *2*, 31–35.
- [6] D. Philp, J. F. Stoddart, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1242–1286; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1154–1196.
- [7] R. P. Feynman in *Miniaturization* (Hrsg.: H. D. Gilbert), Reinhold, New York, **1961**, S. 282–296.
- [8] G. M. Whitesides, J. P. Mathias, C. T. Seto, *Science* **1991**, *254*, 1312–1319.
- [9] G. Schmid, *Clusters and Colloids*, VCH, Weinheim, 1994.
- [10] U. Kreibig, *Optical Properties of Metal Clusters*, Springer, New York, 1995.
- [11] H. Weller, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1159–1161; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1079–1081.
- [12] M. Antonietti, C. Göltner, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 944–964; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1079–1081.
- [13] A. P. Alivisatos, *Science* **1996**, *271*, 933–937.
- [14] D. L. Feldheim, C. D. Keating, *Chem. Soc. Rev.* **1998**, *27*, 1–12.
- [15] A. N. Shipway, E. Katz, I. Willner, *ChemPhysChem* **2000**, *1*, 19–52.
- [16] F. Remacle, R. D. Levine, *ChemPhysChem* **2001**, *2*, 21–36.
- [17] M. Bruchez, Jr., M. Moronne, P. Gin, S. Weiss, A. P. Alivisatos, *Science* **1998**, *281*, 2013–2015.
- [18] W. C. W. Chan, S. M. Nie, *Science* **1998**, *281*, 2016–2018.
- [19] M. Grundmann, *Physica E* **1999**, *5*, 169.
- [20] R. E. Dunin-Borkowski, M. R. McCartney, R. B. Frankel, D. A. Bazyliński, M. Postai, P. R. Buseck, *Science* **1998**, *282*, 1868–1870.
- [21] S. Sun, C. B. Murray, D. Weller, L. Folks, A. Moser, *Science* **2000**, *287*, 1989–1992.
- [22] A. Eychmüller, *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 6514–6528.
- [23] A. P. Alivisatos, *Science* **2000**, *289*, 736–737.
- [24] R. F. Service, *Science* **1997**, *277*, 1036–1037.
- [25] C. M. Niemeyer, *Angew. Chemie* **1997**, *109*, 603–606; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 585–587.
- [26] C. A. Mirkin, T. A. Taton, *Nature* **2000**, *405*, 626–627.
- [27] H. Dugas, *Bioorganic Chemistry*, Springer, New York, 1989.
- [28] U. Diederichsen, T. K. Lindhorst, B. Westermann, L. A. Wessjohann, *Bioorganic Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, 1999.
- [29] S. S. Ghosh, P. M. Kao, A. W. McCue, H. L. Chappelle, *Bioconjugate Chem.* **1990**, *1*, 71–76.
- [30] A. Bardea, A. Dagan, I. Ben-Dov, B. Amit, I. Willner, *Chem. Commun.* **1998**, 839–840.
- [31] F. Patolsky, K. T. Ranjit, A. Lichtenstein, I. Willner, *Chem. Commun.* **2000**, 1025–1026.
- [32] H. Matoussi, J. M. Mauro, E. R. Goldman, G. P. Anderson, V. C. Sundar, F. V. Mikulec, M. G. Bawendi, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 12142–12150.
- [33] R. L. Letsinger, R. Elghanian, G. Viswanadham, C. A. Mirkin, *Bioconjugate Chem.* **2000**, *11*, 289–291.
- [34] W. Shenton, S. A. Davies, S. Mann, *Adv. Mater.* **1999**, *11*, 449–452.
- [35] C. D. Keating, K. M. Kovaleski, M. J. Natan, *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 9404–9413, zit. Lit.
- [36] J. B. Broderick, M. J. Natan, T. V. O'Halloran, R. P. Van Duyne, *Biochemistry* **1993**, *32*, 13771–13776.
- [37] I. D. G. MacDonald, W. E. Smith, *Langmuir* **1996**, *12*, 706–713.
- [38] B. N. Rospondowski, K. Kelly, C. R. Wolf, W. E. Smith, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 1217–1225.
- [39] R. Mahtab, J. P. Rogers, C. J. Murphy, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 9099–9100.
- [40] R. Mahtab, J. P. Rogers, C. P. Singleton, C. J. Murphy, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7028–7032.
- [41] R. Mahtab, H. H. Harden, C. J. Murphy, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 14–17.
- [42] S. Connolly, D. Fitzmaurice, *Adv. Mater.* **1999**, *11*, 1202–1205.
- [43] D. E. Safer, L. Bolinger, J. S. Leigh, *J. Inorg. Biochem.* **1986**, *26*, 77–91.
- [44] B. Dubertret, M. Calame, A. J. Libchaber, *Nat. Biotechnol.* **2001**, *19*, 365–370.
- [45] A. P. Alivisatos, K. P. Johnsson, X. Peng, T. E. Wilson, C. J. Loweth, M. P. Bruchez, Jr., P. G. Schultz, *Nature* **1996**, *382*, 609–611.
- [46] C. T. Dameron, R. N. Reese, R. K. Mehra, A. R. Kortan, P. J. Carroll, M. L. Steigerwald, L. E. Brus, D. R. Winge, *Nature* **1989**, *338*, 596–597.
- [47] W. Bae, R. Abdullah, D. Henderson, R. K. Mehra, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1997**, *237*, 16–23.
- [48] R. Kho, C. L. Torres-Martinez, R. K. Mehra, *J. Colloid Interface Sci.* **2000**, *227*, 561–566.
- [49] „Lumineszierende CdTe-Nanoteilchen als Markierungssubstanzen in der klinischen Chemie“: K. Hoppe, A. Eychmüller, H. Weller, A. Böttcher, A. Götz, G. Schmitz, Poster P146, 99. Hauptversammlung der Deutschen Bunsengesellschaft für Physikalische Chemie (Würzburg, Deutschland, 1–3. Juni, 2000).
- [50] M. Brust, D. Bethell, D. J. Schiffrin, C. Kiely, *Adv. Mater.* **1995**, *7*, 795–797.
- [51] C. M. Niemeyer, W. Bürger, J. Peplies, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2391–2395; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2265–2268.
- [52] P. C. Weber, D. H. Ohlendorf, J. J. Wendoloski, F. R. Salemme, *Science* **1989**, *243*, 85–88.
- [53] M. Wilchek, E. A. Bayer, *Methods Enzymol.* **1990**, *184*, 51–67.
- [54] B. K. Sinha, C. F. Chignell, *Methods Enzymol.* **1979**, *62*, 295–308.
- [55] U. Piran, W. J. Riordan, *J. Immunol. Methods* **1990**, *133*, 141–143.
- [56] T. Sano, M. W. Pandori, X. M. Chen, C. L. Smith, C. R. Cantor, *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 28204–28209.
- [57] T. Sano, C. R. Cantor, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*, 3180–3184.
- [58] G. O. Reznik, S. Vajda, C. L. Smith, C. R. Cantor, T. Sano, *Nat. Biotechnol.* **1996**, *14*, 1007–1011.
- [59] T. G. M. Schmidt, J. Koepke, R. Frank, A. Skerra, *J. Mol. Biol.* **1996**, *255*, 753–766.
- [60] T. Sano, G. O. Reznik, P. Szafranski, C. M. Niemeyer, S. Vajda, C. L. Smith, C. M. Mello, D. L. Kaplan, M. Rusckowski, D. J. Hnatowich, C. R. Cantor, *Proceedings of the 50th Anniversary Conference of the Korean Chemical Society* (Yonsei University, Seoul, May 24–25, 1996), S. 359–363.
- [61] T. Sano, S. Vajda, C. R. Cantor, *J. Chromatogr. B* **1998**, *715*, 85–91.
- [62] S. Mann, W. Shenton, M. Li, S. Connolly, D. Fitzmaurice, *Adv. Mater.* **2000**, *12*, 147–150.
- [63] C. Kessler, *Mol. Cell. Probes* **1991**, *5*, 161–205.
- [64] J. Chevalier, J. Yi, O. Michel, X. M. Tang, *J. Histochem. Cytochem.* **1997**, *45*, 481–491.
- [65] A. Knappik, A. Plueckthun, *BioTechniques* **1994**, *17*, 745–761.
- [66] R. G. Chubet, B. L. Brizzard, *BioTechniques* **1996**, *20*, 136–141.
- [67] S. R. Whaley, D. S. English, E. L. Hu, P. F. Barbara, A. M. Belcher, *Nature* **2000**, *405*, 665–666.
- [68] Übergangsmetallkomplexe, die mehrere Kupferionen enthalten, binden spezifisch an komplementäre Muster aus Histidinresten auf der Oberfläche von Proteinen: M. A. Fazal, C. R. Bidhan, S. Sun, S. Mallik, K. R. Rodgers, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6283–6290.

- [69] Nanomechanische Funktionseinheit auf Basis des ionenabhängigen B-Z-Konformationsüberganges einer kurzen DNA-Doppelhelix: C. Mao, W. Sun, Z. Shen, N. C. Seeman, *Nature* **1999**, *397*, 144–146; zur ionischen Schaltung von Nanopartikeln durch DNA-Supercoiling, siehe Lit. [86]; eine Anordnung von SFM-Cantilevern wurde genutzt, um DNA-Hybridisierung in ein nanomechanisches Signal zu übersetzen: J. Fritz, M. K. Baller, H. P. Lang, H. Rothuizen, P. Vettiger, E. Meyer, H. Guntherodt, C. Gerber, J. K. Gimzewski, *Science* **2000**, *288*, 316–318; molekulare Pinzette aus DNA, die durch die Zugabe von Einzelstrang-DNA geöffnet und geschlossen werden kann: B. Yurke, A. J. Turberfield, A. P. Mills, Jr., F. C. Simmel, J. L. Neumann, *Nature* **2000**, *406*, 605–608.
- [70] R. K. Soong, G. D. Bachand, H. P. Neves, A. G. Olkhovets, H. G. Craighead, C. D. Montemagno, *Science* **2000**, *290*, 1555–1558.
- [71] J. K. Lanyi, A. Pohorille, *Trends Biotechnol.* **2001**, *19*, 140–144.
- [72] K. E. Drexler, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1981**, *78*, 5275–5278.
- [73] N. C. Seeman, *J. Theor. Biol.* **1982**, *99*, 237–247.
- [74] K. E. Drexler, *Nanosystems: Molecular Machinery, Manufacturing, and Computation*, Wiley, New York, **1992**.
- [75] N. C. Seeman, *Trends Biotechnol.* **1999**, *17*, 437–443.
- [76] C. M. Niemeyer, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2000**, *4*, 609–618.
- [77] C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, R. C. Mucic, J. J. Storhoff, *Nature* **1996**, *382*, 607–609.
- [78] R. C. Mucic, J. J. Storhoff, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 12674–12675.
- [79] G. P. Mitchell, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 8122–8123.
- [80] S.-J. Park, A. A. Lazarides, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2993–2996; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2909–2912.
- [81] J. J. Storhoff, A. A. Lazarides, R. C. Mucic, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, G. C. Schatz, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 4640–4650.
- [82] S.-J. Park, A. A. Lazarides, C. A. Mirkin, P. W. Brazis, C. R. Kannewurf, R. L. Letsinger, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 4003–4006; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3845–3848.
- [83] C. M. Niemeyer, M. Adler, B. Pignataro, S. Lenhert, S. Gao, L. F. Chi, H. Fuchs, D. Blohm, *Nucleic Acids Res.* **1999**, *27*, 4553–4561.
- [84] C. M. Niemeyer, M. Adler, S. Gao, L. F. Chi, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 3183–3187; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3055–3059.
- [85] C. M. Niemeyer, *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 3188–3195.
- [86] C. M. Niemeyer, M. Adler, S. Lenhert, S. Gao, H. Fuchs, L. F. Chi, *ChemBioChem* **2001**, *2*, 260–265.
- [87] S. Gao, L. F. Chi, S. Lenhert, B. Ancykowsky, C. M. Niemeyer, M. Adler, H. Fuchs, *ChemPhysChem* **2001**, *2*, 384–388.
- [88] B. Pignataro, L. F. Chi, S. Gao, B. Ancykowsky, C. M. Niemeyer, M. Adler, H. Fuchs, *Appl. Phys. A* **2001**, *2*, eingereicht.
- [89] J. J. Storhoff, C. A. Mirkin, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 1849–1862.
- [90] Mit DNA-Oligomeren funktionalisierte Polymere wurden genutzt, um durch Nucleinsäurehybridisierung Nanopartikel-Aggregate (K. J. Watson, S.-J. Park, J.-H. Im, S. T. Nguyen, C. A. Mirkin, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5592–5593) oder Proteinnetzwerke (R. B. Fong, Z. Ding, C. J. Long, A. S. Hoffman, P. S. Stayton, *Bioconjugate Chem.* **1999**, *10*, 720–725) herzustellen.
- [91] C. M. Niemeyer, T. Sano, C. L. Smith, C. R. Cantor, *Nucleic Acids Res.* **1994**, *22*, 5530–5539.
- [92] C. J. Loweth, W. B. Caldwell, X. Peng, A. P. Alivisatos, P. G. Schultz, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1925–1929; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1808–1812.
- [93] L. Cusack, S. N. Rao, D. Fitzmaurice, *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 202–207.
- [94] D. Fitzmaurice, S. N. Rao, J. A. Preece, J. F. Stoddart, S. Wenger, N. Zaccheroni, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1220; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1147–1150.
- [95] D. Fitzmaurice, S. N. Rao, J. A. Preece, J. F. Stoddart, S. Wenger, N. Zaccheroni, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 6252–6257.
- [96] a) M. Brust, M. Walker, D. Bethell, D. J. Schiffrin, R. J. Whyman, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, 801; b) R. S. Ingram, M. J. Hostetler, R. W. J. Murray, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9175–9178; c) J. Liu, R. Xu, A. E. Kaifer, *Langmuir* **1998**, *14*, 7337–7339; d) A. K. Boal, V. M. Rotello, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 734–735; e) A. K. Boal, F. Ilhan, J. E. DeRouchey, T. Thurn-Albrecht, T. P. Russell, V. M. Rotello, *Nature* **2000**, *404*, 746–748; siehe auch Lit. [94] und [95].
- [97] V. M. Mirsky, T. Hirsch, S. A. Piletsky, O. S. Wolfbeis, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1191; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1108.
- [98] a) SAM-Kolloide mit Oberflächen-gebundenen Ru-Katalysatorgruppen zeigen eine Kombination von homogenen und heterogenen Eigenschaften in der ringöffnenden Metathesepolymerisation: M. Bartz, J. Küther, R. Sesharadi, W. Tremel, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2646–2649; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1998**, *37*, 2466–2468; b) Die photochemische Reaktivität von SAM-Kolloid-gebundenen Stilbengruppen unterscheidet sich beträchtlich von Stilbenen, die an planaren Oberflächen immobilisiert sind: J. Hu, J. Zhang, F. Liu, K. Kittredge, J. K. Whitesell, M. A. Fox, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1464–1470; c) 2 nm Goldpartikel, die mit thiolierten Neoglykоконjugat-Einheiten funktionalisiert sind, können als Modellsysteme für polyvalente Rezeptor-Ligand-Wechselwirkungen verwendet werden: J. M. de la Fuente, A. G. Barrientos, T. C. Rojas, J. Rojo, J. Cañada, A. Fernández, S. Penadés, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2318–2321; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2258–2261; d) Cyclodextrin-modifizierte Nanopartikel: J. Liu, S. Mendoza, E. Roman, M. J. Lynn, R. L. Xu, A. E. Kaifer, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 4304–4305.
- [99] C. M. Niemeyer, B. Ceyhan, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3685–3688; *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 3798–3801.
- [100] U. B. Sleytr, P. Messner, D. Pum, M. Sara, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1098–1120; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1034–1054.
- [101] W. Shenton, D. Pum, U. B. Sleytr, S. Mann, *Nature* **1997**, *389*, 585–587.
- [102] S. Dieluweit, D. Pum, U. B. Sleytr, *Supramol. Sci.* **1998**, *5*, 15–19.
- [103] M. Mertig, R. Kirsch, W. Pompe, H. Engelhardt, *Eur. Phys. J.* **1999**, *D9*, 45–48.
- [104] S. R. Hall, W. Shenton, H. Engelhardt, S. Mann, *ChemPhysChem* **2001**, *2*, 184–186.
- [105] Ein gentechnisch verändertes alpha-Hemolysin-Membranprotein wurde mit einem DNA-Oligonucleotid funktionalisiert, das selektiv innerhalb der etwa 4 nm großen Kavität des Proteins gebunden ist. Die entstandenen DNA-Nanoporen wurden für die sequenzspezifische Detektion komplementärer DNA verwendet: S. Howorka, S. Cheley, H. Bayley, *Nat. Biotechnol.* **2001**, *19*, 636–639. Ähnliche Nanoporen wurden genutzt, um zwei verschiedene Cyclodextrine simultan zu binden. Hierdurch könnten neuartige Multianalytenserren hergestellt werden: L. Q. Gu, S. Cheley, H. Bayley, *Science* **2001**, *291*, 636–640.
- [106] E. J. Gibbs, I. Tinoco, Jr., M. F. Maestre, P. A. Ellinas, R. F. Pasternack, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1988**, *157*, 350–358.
- [107] R. F. Pasternack, J. I. Goldsmith, S. Szep, E. J. Gibbs, *Biophys. J.* **1998**, *75*, 1024–1031.
- [108] R. F. Pasternack, E. J. Gibbs, P. J. Collings, J. C. dePaula, L. C. Turzo, A. Terracina, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 5873–5878.
- [109] J. L. Seifert, R. E. Connor, S. A. Kushon, M. Wang, B. A. Armitage, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 2987–2995.
- [110] M. Wang, G. L. Silva, B. A. Armitage, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9977–9986.
- [111] A. M. Cassel, W. A. Scrivens, J. M. Tour, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 1670–1672; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1528–1531.
- [112] M. Y. Ono, E. M. Spain, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 7330–7334.
- [113] T. Blessing, J.-S. Remy, J.-P. Behr, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8519–8520.
- [114] A. D. Miller, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 1862–1880; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1768–1785.
- [115] J. L. Coffer, S. R. Bigham, R. F. Pinizzotto, H. Yang, *Nanotechnology* **1992**, *3*, 69–76.
- [116] S. R. Bigham, J. L. Coffer, *Colloids Surf. A* **1995**, *95*, 211–219.
- [117] J. L. Coffer, S. R. Bigham, X. Li, R. F. Pinizzotto, Y. G. Rho, R. M. Pirtle, I. L. Pirtle, *Appl. Phys. Lett.* **1996**, *69*, 3851–3853.
- [118] J. L. Coffer, *J. Cluster Sci.* **1997**, *8*, 159–179.
- [119] E. Braun, Y. Eichen, U. Sivan, G. Ben-Yoseph, *Nature* **1998**, *391*, 775–778.
- [120] J. Richter, R. Seidel, R. Kirsch, M. Mertig, W. Pompe, J. Plaschke, H. K. Schackert, *Adv. Mater.* **2000**, *12*, 507–510.
- [121] J. Richter, M. Mertig, W. Pompe, I. Monch, H. K. Schackert, *Appl. Phys. Lett.* **2001**, *78*, 536–538.
- [122] L. C. Ciacchi, W. Pompe, A. De Vita, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7371–7380.

- [123] T. Torimoto, M. Yamashita, S. Kuwabata, T. Sakata, H. Mori, H. Yoneyama, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 8799–8803.
- [124] A. Kumar, M. Pattarkine, M. Bhadbhade, A. B. Mandale, K. N. Ganesh, S. S. Datar, C. V. Dharmadhikari, M. Sastry, *Adv. Mater.* **2001**, *13*, 341–344.
- [125] E. Di Mauro, C. P. Hollenberg, *Adv. Mater.* **1993**, *5*, 384–386.
- [126] W. Han, S. M. Lindsay, R. E. Dlakic, R. E. Harrington, *Nature* **1997**, *386*, 563.
- [127] J. Shi, D. E. Bergstrom, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 70–72; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 111–113.
- [128] H. Kuhn, V. V. Demidov, M. D. Frank-Kaminetskii, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1544–1547; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1446–1449.
- [129] M. S. Shchepinov, K. U. Mir, J. K. Elder, M. D. Frank-Kamenetskii, E. M. Southern, *Nucleic Acids Res.* **1999**, *27*, 3035–3041.
- [130] M. Scheffler, A. Dorenbeck, S. Jordan, M. Wüstefeld, G. v. Kiedrowski, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 3514–3518; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 3312–3315.
- [131] Y. Aharonov, D. Bohm, *Phys. Rev.* **1959**, *115*, 485.
- [132] N. D. Chasteen, P. M. Harrison, *J. Struct. Biol.* **1999**, *126*, 182–194.
- [133] S. Mann, J. V. Banister, R. J. P. Williams, *J. Mol. Biol.* **1986**, *188*, 225.
- [134] F. Funk, J.-P. Lenders, R. R. Crichton, W. Schneider, *Eur. J. Biochem.* **1985**, *152*, 167–172.
- [135] I. G. Macara, T. G. Hoy, P. M. Harrison, *Biochem. J.* **1972**, *126*, 151–162.
- [136] D. M. Lawson, P. J. Artymiuk, S. J. Yewdall, J. M. A. Smith, J. C. Livingstone, A. Treffry, A. Luzzago, S. Levi, P. Arosio, G. Cesareni, C. D. Thomas, W. V. Shaw, P. M. Harrison, *Nature* **1991**, *349*, 541–544.
- [137] F. C. Meldrum, V. J. Wade, D. L. Nimmo, B. R. Heywood, S. Mann, *Nature* **1991**, *349*, 684–687.
- [138] F. C. Meldrum, B. R. Heywood, S. Mann, *Science* **1992**, *257*, 522–523.
- [139] K. K. W. Wong, T. Douglas, S. Gider, D. D. Awschalom, S. Mann, *Chem. Mater.* **1998**, *10*, 279–285.
- [140] M. Li, K. W. K. Wong, S. Mann, *Chem. Mater.* **1999**, *11*, 23–26.
- [141] W. Shenton, S. Mann, H. Cölfen, A. Bacher, M. Fischer, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 456–459; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 442–444.
- [142] L. Stryer, *Biochemistry*, Freeman, New York, **1988**.
- [143] G. Stubbs in *The Viruses*, Vol. 1 (Hrsg.: A. Mc Pherson, F. Jurnak), Wiley, New York, **1984**, S. 149–202.
- [144] W. Shenton, T. Douglas, M. Young, G. Stubbs, S. Mann, *Adv. Mater.* **1999**, *11*, 253–256.
- [145] K. K. W. Wong, S. Mann, *Adv. Mater.* **1996**, *8*, 928.
- [146] T. Douglas, M. Young, *Nature* **1998**, *393*, 152–155.
- [147] T. Douglas, M. Young, *Adv. Mater.* **1999**, *11*, 679–681.
- [148] Beispiele für die Charakterisierung biomolekulärer Systeme mittels SFM: a) Übersicht: H. G. Hansma, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2001**, *52*, 71–92; b) enzymatische Prozessierung von Nucleinsäuren: S. Kasas, N. H. Thomson, B. L. Smith, H. G. Hansma, X. S. Zhu, M. Guthold, C. Bustamante, E. T. Kool, M. Kashlev, P. K. Hansma, *Biochemistry* **1997**, *36*, 461–468; c) Mobilität von DNA-Fragmenten auf festen Substraten: M. Argaman, R. Golan, N. H. Thomson, H. G. Hansma, *Nucleic Acids Res.* **1997**, *25*, 4379–4384; d) Kristallisation von Transfer-RNA: J. D. Ng, Y. G. Kuznetsov, A. J. Malkin, G. Keith, R. Giege, A. McPherson, *Nucleic Acids Res.* **1997**, *25*, 2582–2588; e) Charakterisierung von DNA-Nanostrukturen: X. Yang, L. A. Wenzler, J. Qi, X. Li, N. C. Seeman, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 9779–9786; E. Winfree, F. Liu, L. A. Wenzler, N. C. Seeman, *Nature* **1998**, *394*, 539–544; zur Charakterisierung von supramolekularen DNA-Protein-Konjugaten, siehe Lit. [83, 84]; f) eine verbesserte Auflösung mit dem SFM kann durch Verwendung von Kohlenstoffnanoröhren als Messspitzen erreicht werden: H. Dai, J. H. Hafner, A. G. Rinzler, D. T. Colbert, R. E. Smalley, *Nature* **1996**, *384*, 147–151; C. L. Cheung, J. H. Hafner, C. M. Lieber, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 3809–3813. Die Nanoröhren können kovalent modifiziert werden (S. S. Wong, E. Joselevich, A. T. Woolley, C. L. Cheung, C. M. Lieber, *Nature* **1998**, *394*, 52–55), sodass spezifische chemische oder biologische Wechselwirkungen bei der Aufnahme der Zielstrukturen auftreten. Hierdurch können z. B. DNA-Sequenzen spezifisch nachgewiesen werden: A. T. Woolley, C. Guillemette, C. Li Cheung, D. E. Housman, C. M. Lieber, *Nat. Biotechnol.* **2000**, *18*, 760–763; g) Die Funktionalisierung der SFM-Spitzen mit Phospholipase A ermöglicht eine nanostrukturierte Hydrolyse von stabilisierten Dipalmitoylphosphatidylcholin-Doppelschichten: H. Clausen-Schaumann, M. Grandbois, H. E. Gaub, *Adv. Mater.* **1998**, *10*, 949–952.
- [149] Neuere Übersichten: a) Engel, H. E. Gaub, D. J. Muller, *Curr. Biol.* **1999**, *9*, 133–136; a) Janshoff, M. Neitzert, Y. Oberdörfer, H. Fuchs, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 3346–3374; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3229–3355.
- [150] Neuere Übersichten zur Oberflächen-Plasmonen-Resonanz Analytik: a) J. M. Brockman, B. P. Nelson, R. M. Corn, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2000**, *51*, 41–63; b) C. Williams, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2000**, *11*, 42–46; c) R. L. Rich, D. G. Myszka, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2000**, *11*, 54–61.
- [151] Neuere Übersichten: a) H. Kneipp, I. Itzkan, R. R. Dasari, M. S. Feld, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2957–2975; b) A. Campion, P. Kambhampati, *Chem. Soc. Rev.* **1998**, *27*, 241–250.
- [152] M. A. Hayat, *Colloidal Gold: Principles, Methods, and Applications*, Academic Press, New York, **1989**.
- [153] C. D. Keating, K. M. Kovaleski, M. J. Natan, *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 9414–9425.
- [154] L. He, M. J. Natan, C. D. Keating, *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 5348–5355.
- [155] X. Dou, T. Takama, Y. Yamaguchi, K. Hirai, H. Yamamoto, S. Doi, Y. Ozaki, *Appl. Opt.* **1998**, *37*, 759–763.
- [156] J. Kreuter in *Microcapsules and Nanoparticles in Medicine and Pharmacy* (Hrsg.: M. Donbrow), CRC, Boca Raton, **1992**.
- [157] D. E. Safer, J. Hainfeld, J. S. Wall, J. E. Reardon, *Science* **1982**, *218*, 290–291.
- [158] J. F. Hainfeld, F. R. Furuya, *J. Histochem. Cytochem.* **1992**, *40*, 177–184.
- [159] J. F. Hainfeld, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 11064.
- [160] O. D. Velev, E. W. Kaler, *Langmuir* **1999**, *15*, 3693–3698.
- [161] J. Zhao, R. W. Henkens, J. Stonehurner, J. P. O'Daly, A. L. Crumbliss, *J. Electroanal. Chem.* **1992**, *327*, 109–119.
- [162] Y. Xiao, H.-X. Ju, H.-Y. Chen, *Anal. Chim. Acta* **1999**, *391*, 73–82.
- [163] F. Patolsky, T. Gabriel, I. Willner, *J. Electroanal. Chem.* **1999**, *479*, 69–73.
- [164] L. A. Lyon, M. D. Musick, M. J. Natan, *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 5177–5183.
- [165] L. He, M. D. Musick, S. R. Nicewarner, F. G. Salinas, S. J. Benkovic, M. J. Natan, C. D. Keating, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9071–9077.
- [166] S. Schultz, D. R. Smith, J. J. Mock, D. A. Schultz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 996–1001.
- [167] A. P. Alivisatos, *Pure Appl. Chem.* **2000**, *72*, 3–9.
- [168] Europium wird häufig als Markierung für zeitverzögerte Fluoreszenz-Immunoassays eingesetzt. Übersicht: I. Hemmila, S. Dakubu, V. M. Mukkala, H. Siitari, T. Lovgren, *Anal. Biochem.* **1984**, *137*, 335–343. Die Markierung erfolgt entweder mit Eu-Chelaten: A. Scorilas, A. Bjartell, H. Lilja, C. Moller, E. P. Diamandis, *Clin. Chem.* **2000**, *46*, 1450–1455, oder -Cryptaten: G. Mathis, *Clin. Chem.* **1995**, *41*, 1391–1397. Zeitverzögerte Fluoreszenzmessungen mit Nanopartikel-gebundenen Lanthanid-Chelaten wurden kürzlich in der quantitativen Histochemie eingesetzt: V. Vaisanen, H. Harma, H. Lilja, A. Bjartell, *Luminescence* **2000**, *15*, 389–397.
- [169] E. Smythe, G. Warren, *Eur. J. Biochem.* **1991**, *202*, 689–699.
- [170] M. Han, X. Gao, J. Z. Su, S. M. Nie, *Nat. Biotechnol.* **2001**, *19*, 631–635.
- [171] S. Pathak, S. K. Choi, N. Arnheim, M. E. Thompson, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 4103–4104.
- [172] K. Riwotzki, H. Meyssamy, H. Schnablegger, A. Kornowski, M. Haase, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 574–578; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 573–576.
- [173] Die Detektion von Nucleinsäuren in homogener Lösung mit kolloidalen Goldpartikeln kann durch nachfolgende Adsorption der Aggregate auf Filtermembranen verbessert werden: a) R. Elghanian, J. J. Storhoff, R. C. Mucic, R. L. Letsinger, C. A. Mirkin, *Science* **1997**, *277*, 1078–1081; b) J. J. Storhoff, R. Elghanian, R. C. Mucic, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 1959–1964; c) R. A. Reynolds, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3795–3796.
- [174] T. A. Taton, R. C. Mucic, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 6305–6306.
- [175] J. Reichert, A. Csaki, J. M. Köhler, W. Fritzsche, *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 6025–6029.

- [176] R. Möller, A. Csaki, J. M. Köhler, W. Fritzsche, *Nucleic Acids Res.* **2000**, *28*, E91.
- [177] C. M. Niemeyer, B. Ceyhan, S. Gao, L. F. Chi, S. Peschel, U. Simon, *Colloid Polym. Sci.* **2001**, *279*, 68–72.
- [178] A. Csaki, R. Moller, W. Straube, J. M. Kohler, W. Fritzsche, *Nucleic Acids Res.* **2001**, *29*, E81–81.
- [179] S. Han, J. Lin, F. Zhou, R. L. Vellanoweth, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2000**, *279*, 265–269.
- [180] Auch Teilchen anderer Morphologie wurden durch DNA-Hybridisierung angeordnet: a) Goldnanodrähte: J. K. N. Mbindyo, B. D. Reiss, B. R. Martin, C. D. Keating, M. J. Natan, T. E. Mallouk, *Adv. Mater.* **2001**, *13*, 249–254; b) Goldnanostäbe: E. Dujardin, L. B. Hsin, C. R. C. Wang, S. Mann, *Chem. Commun.* **2001**, 1264–1265.
- [181] T. A. Taton, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, *Science* **2000**, *289*, 1757–1760.
- [182] Neuere Übersichtsartikel über die DNA-Mikroarray-Technologie: a) D. H. Blohm, A. Guiseppi-Elie, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2001**, *12*, 41–49; b) C. M. Niemeyer, D. Blohm, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 3039–3043; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2865–2869; c) E. M. Southern, K. Mir, M. Shchepinov, *Nat. Genet.* **1999**, *21*, 5–9; siehe auch die Sammlung von Übersichtsartikeln, die im Supplement dieser Ausgabe von *Nature Genetics* und in der Januar Ausgabe von *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2001**, 5 erschienen sind.
- [183] T. A. Taton, G. Lu, C. A. Mirkin, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5164–5165.
- [184] L. Lin, H. Zhao, J. Li, J. Tang, M. Duan, L. Jiang, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2000**, *274*, 817–820.
- [185] S. B. Han, J. Q. Lin, M. Satjapipat, A. J. Baca, F. M. Zhou, *Chem. Commun.* **2001**, 609–610.
- [186] X. D. Su, S. F. Y. Li, S. J. O'Shea, *Chem. Commun.* **2001**, 755–756.
- [187] G. R. Souza, J. H. Miller, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6734–6735.
- [188] I. Willner, F. Patolsky, J. Wasserman, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 1913–1916; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 1861–1864.
- [189] Neuere Übersichten zur Gene-Gun-Technologie: a) M. T. Lin, L. Pulkkinen, J. Uitto, K. Yoon, *Int. J. Dermatol.* **2000**, *39*, 161–170; b) siehe auch Lit. [156]; c) Beispiele zur biolistischen Transfektion: A. Udvardi, I. Kufferath, H. Grutsch, K. Zatloukal, B. Volc-Platzer, *J. Mol. Med.* **1999**, *77*, 744–750; S. Kuriyama, A. Mitoro, H. Tsujinoue, T. Nakatani, H. Yoshiji, T. Tsujimoto, M. Yamazaki, H. Fukui, *Gene Ther.* **2000**, *7*, 1132–1136; B. Wetterauer, K. Salger, P. Demel, H. Koop, *Biochim. Biophys. Acta* **2000**, *1499*, 139–143; V. B. Vassilev, L. H. Gil, R. O. Donis, *Vaccine* **2001**, *19*, 2012–2019; d) DNA-Transfektion mit SiO₂-Nanopartikeln: C. Kneuer, M. Sameti, U. Bakowsky, T. Schiestel, H. Schirra, H. Schmidt, C. M. Lehr, *Bioconjugate Chem.* **2000**, *11*, 926–932.
- [190] Neuere Übersichten zur DNA-Vaccinierung: S. Gurunathan, D. M. Klinman, R. A. Seder, *Annu. Rev. Immunol.* **2000**, *18*, 927–974; D. J. Shedlock, D. B. Weiner, *J. Leukocyte Biol.* **2000**, *68*, 793–806; E. F. Fynan, R. G. Webster, D. H. Fuller, J. R. Haynes, J. C. Santoro, H. L. Robinson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, *90*, 11478–11482; Überblick über Methoden der genetischen Vaccinierung: T. W. Dubensky, M. A. Liu, J. B. Ulmer, *Mol. Med.* **2000**, *6*, 723–732; Immunisierung von Mäusen mit kovalent an Aluminiumoxid-Nanopartikel gekoppelten Peptidomeren: A. Frey, N. Mantis, P. A. Kozlowski, A. J. Quayle, A. Bajardi, J. J. Perdomo, F. A. Robey, M. R. Neutra, *Vaccine* **1999**, *17*, 3007–3019.
- [191] a) A. Jordan, P. Wust, R. Scholz, B. Tesche, H. Fähling, T. Mitrovincs, T. Vogl, J. Cervos-Navarro, R. Felix, *Int. J. Hyperthermia* **1996**, *12*, 705–722; b) A. Jordan, P. Wust, R. Scholz, T. Mitrovincs, H. Fähling, J. Gellermann, T. Vogl, J. Cervos-Navarro, R. Felix, *Int. J. Hyperthermia* **1997**, *13*, 587–605; c) A. Jordan, R. Scholz, P. Wust, T. Schiestel, H. Schmidt, R. Felix, *J. Magn. Magn. Mater.* **1999**, *194*, 185–196; d) A. Jordan, R. Scholz, P. Wust, H. Fähling, *J. Magn. Magn. Mater.* **1999**, *201*, 413–419.
- [192] Beispiele für sequenzspezifische Bindung und Krümmung von DNA durch Proteine: a) S. Becker, B. Groner, C. W. Müller, *Nature* **1998**, *394*, 145–151; b) N. C. Horton, J. J. Perona, *J. Mol. Biol.* **1998**, *277*, 779–787; c) D. N. Paolella, Y. Liu, A. Schepartz, *Biochemistry* **1997**, *36*, 779–787; d) *DNA-Protein Interactions* (Hrsg.: D. M. J. Lilley), IRL/Oxford University Press, New York, **1995**.
- [193] K. Luger, A. W. Maeder, R. K. Richmond, D. F. Sargent, T. J. Richmond, *Nature* **1997**, *389*, 251–260.
- [194] J. L. Workman, R. E. Kingston, *Ann. Rev. Biochem.* **1998**, *67*, 549–579.
- [195] D. S. Goodsell, M. L. Kopka, D. Cascio, R. E. Dickerson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, *90*, 2930–2934.
- [196] I. Brukner, S. Susic, M. Dlakic, A. Savic, S. Pongor, *J. Mol. Biol.* **1994**, *236*, 26–32.
- [197] L. A. Gearheart, H. J. Ploehn, C. J. Murphy, *J. Phys. Chem. B* **2000**, eingereicht.
- [198] Übersichten: a) *Biomineralization: Chemical and Biological Perspectives* (Hrsg.: S. Mann, J. Webb, R. J. P. Williams), VCH, Weinheim, **1989**; b) S. Mann, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 3532–3548; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3392–3406; c) zur Strukturbiologie der entwickelnden dentalen Matrix, siehe: A. G. Fincham, J. Moradian-Oldak, J. P. Simmer, *J. Struct. Biol.* **1999**, *126*, 270–299; d) zur biomimetischen Herstellung keramischer Mesostrukturen unter Verwendung selbstorganisierter Amphiphile und Polymere, siehe: D. M. Dabbs, I. A. Aksay, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2000**, *51*, 601–622.
- [199] F. E. Round, R. M. Crawfod, D. G. Mann, *The Diatoms: Biology and Morphology of the Genera*, Cambridge University Press, Cambridge, **1990**.
- [200] N. Kroger, R. Deutzmann, M. Sumper, *Science* **1999**, *286*, 1129–1132.
- [201] N. Kroger, R. Deutzmann, C. Bergsdorf, M. Sumper, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 14133–14138.
- [202] a) Neuere Übersicht: R. N. Ben, *ChemBioChem* **2001**, *2*, 161–166; Beispiele zur molekularen Struktur von Antifrostproteinen: b) S. P. Graether, M. J. Kuiper, S. M. Gagne, V. K. Walker, Z. Jia, B. D. Sykes, P. L. Davies, *Nature* **2000**, *406*, 325–328; c) S. P. Graether, C. I. DeLuca, J. Baardsnes, G. A. Hill, P. L. Davies, Z. Jia, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 11842–11847; d) W. Gronwald, M. C. Loewen, B. Lix, A. J. Daugulis, F. D. Sonnichsen, P. L. Davies, B. D. Sykes, *Biochemistry* **1998**, *37*, 4712–4721; e) A. Cheng, K. M. Merz, *Bioophys. J.* **1997**, *73*, 2851–2873; f) Z. Jia, C. I. DeLuca, H. Chao, P. L. Davies, *Nature* **1996**, *384*, 285–288.
- [203] Übersichten: a) D. Schüler, R. B. Frankel, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1999**, *52*, 464–473; c) M. Sarikaya, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 14183–14185; d) zum Magnetorezeptor der Vertebraten, siehe: C. E. Diebel, R. Proksch, C. R. Green, P. Neilson, M. M. Walker, *Nature* **2000**, *406*, 299–302.
- [204] C. T. Dameron, B. R. Smith, D. R. Winge, *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 17355–17360.
- [205] C. T. Dameron, D. R. Winge, *Trends Biotechnol.* **1990**, *8*, 3–6.
- [206] R. Joerger, T. Klaus, C. G. Granqvist, *Adv. Mater.* **2000**, *12*, 407–409.
- [207] S. K. Lower, M. F. Hochella, Jr., T. J. Beveridge, *Science* **2001**, *292*, 1360–1363.
- [208] J. F. Banfield, S. A. Welch, H. Zhang, T. Thomson Ebert, R. L. Penn, *Science* **2000**, *289*, 751–754.
- [209] a) M. Kam, D. Perl-Treves, R. Sfez, L. Addadi, *J. Mol. Recognit.* **1994**, *7*, 257–264; b) N. Kessler, D. Perl-Treves, L. Addadi, *FASEB J.* **1996**, *10*, 1435–1442; c) D. Perl-Treves, N. Kessler, D. Izhaky, L. Addadi, *Chem. Biol.* **1996**, *3*, 567–577; d) D. Izhaky, L. Addadi, *Adv. Mater.* **1998**, *10*, 1009; e) D. Izhaky, L. Addadi, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 869–874.
- [210] D. Kadereit, J. Kuhlmann, H. Waldmann, *ChemBioChem* **2000**, *1*, 145–169.
- [211] M. Famulok, G. Mayer, M. Blind, *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 591–599.
- [212] *Nat. Biotechnol.* **2000**, *18*, Supplement IT 56–58.
- [213] R. F. Service, *Science* **1999**, *285*, 184–185.
- [214] K. C. Nicolaou, D. Vourloumis, N. Winssinger, P. S. Baran, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 47–126; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 44–122.
- [215] K. Matsuura, M. Hibino, Y. Yamada, K. Kobayashi, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 357–358.
- [216] S. M. Waybright, C. P. Singleton, K. Wachter, C. J. Murphy, U. H. F. Bunz, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1828–1833.
- [217] J. E. Gestwicki, L. E. Strong, L. L. Kiessling, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 4741–4744; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 4567–4570.
- [218] K. C. Grabar, J. E. Deutsch, M. J. Natan, *J. Polym. Prepr.* **1995**, *69*–70.
- [219] W.-L. Shaiu, D. D. Larson, J. Vesenka, E. Henderson, *Nucleic Acids Res.* **1993**, *21*, 99–103.
- [220] S. K. Chopra, J. C. Martin, *Heteroat. Chem.* **1991**, *2*, 71–79.

- [221] Seit dem Einreichen dieses Manuskriptes wurden weitere Fortschritte in diesem schnell wachsenden Forschungsgebiet erzielt: a) DNA-Nanopartikel-Konjugate: DNA-modifizierte superparamagnetische 3 nm große Eisenoxidpartikel, die sich in Gegenwart komplementärer Einzelstrang-DNA anordnen, könnten als magnetische Nanosensoren eingesetzt werden: L. Josephson, J. M. Perez, R. Weissleder, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 3304–3306; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3204–3206; durch Dip-Pen-Nanolithographie erzeugte Muster aus Mercaptohexadecansäure wurden zur Immobilisierung von DNA-Oligomeren genutzt, um Goldnanopartikel orthogonal anzuordnen, die mit komplementären Oligonukleotiden modifiziert waren: L. M. Demers, S.-J. Park, T. A. Taton, Z. Li, C. A. Mirkin, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 3161–3163; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3071–3073; DNA-modifizierte Ag/Au-Kern/Schale-Partikel: Y. W. Cao, R. Jin, C. A. Mirkin, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7961–7962; die Transkription von DNA wird durch mit einer kationischen Monolage stabilisierte Goldcluster inhibiert: C. M. MacIntosh, E. A. Esposito, A. K. Boal, J. M. Simard, C. T. Martin, V. M. Rotello, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7626–7629; b) Protein- und biomimetisch funktionalisierte Goldnanopartikel: Charakterisierung von Protease-beschichteten Goldpartikeln: A. Gole, C. Dash, C. Soman, S. R. Sainkair, M. Rao, M. Sastry, *Bioconjug. Chem.* **2001**, *12*, 684–690; Lectin-induzierte Aggregation von α -Lactosyl- ω -mercapto-poly(ethyleneglycol)-modifizierten Goldnanopartikeln: H. Otsuka, Y. Akiyama, Y. Nagasaki, K. Kataoka, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 8226–8230; Elastin-Biopolymer-beschichtete Goldpartikel: N. Nath, A. Chilkoti, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 8197–8202; Resorcinaren-Tetrathiole wurden als Linkergruppen für die Organisation von größeren Goldnanoteilchen verwendet: B. Kim, S. L. Tripp, A. Wei, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7955–7956; SFM Cantilever-basierte nanomechanischen Sensoreinheiten (Lit. 69) wurden zur Detektion von Krebszell-Antigenen (G. Wu, R. H. Datar, K. M. Hansen, T. Thundat, R. J. Cote, A. Majumdar, *Nat. Biotechnol.* **2001**, *19*, 856–860) und Einzelnukleotid-Polymorphismen (K. M. Hansen, H. F. Ji, G. Wu, R. Datar, R. Cote, A. Majumdar, T. Thundat, *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 1567–1571) eingesetzt. Systematische DNA-Hybridisierungsexperimente ergaben, dass die nanomechanische Bewegung der Cantilever durch Änderungen in der Konfigurationsentropie und der intermolekularen Energetik der biomolekularen Wechselwirkung verursacht wird: G. Wu, H. Ji, K. Hansen, T. Thundat, R. Datar, R. Cote, M. F. Hagan, A. K. Chakraborty, A. Majumdar, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 1560–1564.