

Lichtgesteuerte Bindung und Freisetzung von DNA aus einem ternären supramolekularen Komplex**

Siva Krishna Mohan Nalluri, Jens Voskuhl, Jelle B. Bultema, Egbert J. Boekema und Bart Jan Ravoo*

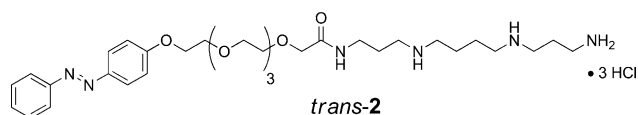
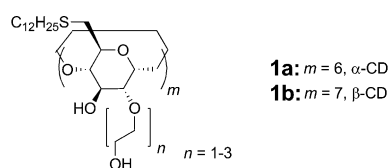
Eine der bedeutendsten Entwicklungen in der supramolekularen Chemie ist der Fortschritt von allgemeingültigen Prinzipien molekularer Erkennung und Selbstorganisation hin zu Anwendungen in der Medizin und den Materialwissenschaften. Die Behandlung von genetischen Defekten durch die Gentherapie ist eine wichtige Herausforderung in der modernen Medizin. So wurden beispielsweise kationische Amphiphile,^[1] Polymere^[2] und Dendrimere^[3] in der Form von „Lipoplexen“ und „Polyplexen“ auf ihre Eigenschaft hin untersucht, DNA und RNA zu transfizieren. Es wurden bereits zahlreiche Ansätze beschrieben, die verschiedenste Transfektionssysteme mit einem Freisetzungsmechanismus beinhalteten. Zu diesen gehören die pH-abhängige Freisetzung,^[4] die reduktive Spaltung von Disulfiden^[5] und auch die lichtinduzierte Dissoziation kovalenter Bindungen.^[6]

Die lichtgesteuerte Freisetzung von DNA und RNA aus einem Transportsystem ist der eleganteste Weg, um Effizienz, milde Bedingungen und einen Verzicht auf Additive zu kombinieren. So können photolabile Ester durch Bestrahlung mit Licht einer Wellenlänge von 350 nm leicht abgebaut werden.^[6,7] Es ist weiterhin bekannt, dass nichtkovalente Komplexe ebenfalls lichtempfindlich sein können. Die Azobenzole stellen eine Klasse bekannter lichtresponsiver Moleküle dar, die sich durch eine reversible Isomerisierung von *trans* nach *cis* durch Licht einer Wellenlänge von 350 nm auszeichnen. Die Isomerisierung von *cis* nach *trans* erfolgt bei einer Wellenlänge von 455 nm. Weiterhin sind auch die mit Cyclodextrinen gebildeten Einschlusskomplexe lichtresponsiv: Die lineare Struktur des apolaren *trans*-Azobenzols bildet stabile Einschlusskomplexe mit α - und β -Cyclodextrinen, während die gewinkelte *cis*-Konformation wegen ihres größeren Raumbedarfs und ihrer höheren Polarität keinen stabilen Komplex mit Cyclodextrinen (CD) bilden kann. Die lichtkontrollierte molekulare Erkennung von Cyclodextrinen durch Azobenzole wurde bereits für lichtresponsive Hydro-

gele,^[8] molekulare Shuttles,^[9] Micellen und Vesikel,^[10] Oberflächen^[11] und Wirkstofftransporter^[12] verwendet.

Hier beschreiben wir die Selbstorganisation eines ternären Systems auf der Basis einer lichtgesteuerten Cyclodextrin-Azobenzol-Wechselwirkung, das DNA reversibel binden und freisetzen kann. Die Hauptinnovation dieses nichtkovalenten Komplexes ist der lichtinduzierte Übergang zwischen einem multivalenten Bindungsmodus mit hoher Affinität und einem monovalenten Bindungsmodus mit geringer Affinität. Das ternäre System basiert auf den bekannten Doppelschichtmembranvesikeln aus amphiphilen Cyclodextrinen und der molekularen Erkennung von Gastmolekülen an der Oberfläche dieser Vesikel.^[13] Der Einschluss von funktionellen Gastmolekülen bietet eine elegante Alternative gegenüber der aufwändigen Synthese von CD-Polymeren und kationischen Amphiphilen, die bereits Anwendungsmöglichkeiten als Gentransporter zeigen konnten.^[14]

Vor kurzem haben wir ein binäres supramolekulares System bestehend aus einem divalenten Azobenzollinker und den bekannten Cyclodextrinvesikeln vorgestellt. Die lichtinduzierte *trans-cis*-Isomerisierung wurde in diesem Fall verwendet, um eine reversible Aggregation der Vesikel zu induzieren. Durch verschiedenste Methoden konnten die Aggregation bei Licht einer Wellenlänge von 455 nm und die Desaggregation bei 350 nm nachgewiesen werden.^[15] Hier beschreiben wir die lichtgesteuerte Bildung und Auflösung eines ternären Komplexes aus Vesikeln bestehend aus dem Amphiphil **1**, dem Azobenzol-Spermin-Konjugat **2** und DNA.



Das Azobenzol-Spermin-Konjugat **2** bindet an die Cyclodextrinvesikel durch die Bildung von Einschlusskomplexen mit der hydrophoben *trans*-Azobenzolgruppe und durch elektrostatische Wechselwirkungen des Sperminrests mit dem anionischen Polyphosphatrückgrat von DNA. Die Oberfläche der mit *trans*-**2** dekorierten Cyclodextrinvesikel weist eine Vielzahl protonierter Spermingruppen auf und hat somit eine hohe Affinität für die multivalente Anbindung von DNA. Es

[*] S. K. M. Nalluri, J. Voskuhl, Prof. Dr. B. J. Ravoo
Organisch Chemisches Institut und Graduate School of Chemistry
Westfälische Wilhelms-Universität Münster
Corrensstraße 40, 48149 Münster (Deutschland)

Dr. J. B. Bultema, Prof. Dr. E. J. Boekema
Department of Biophysical Chemistry, Groningen Biomolecular
Sciences and Biotechnology Institute, University of Groningen
Nijenborgh 7, 9747 AG, Groningen (Niederlande)

[**] Wir danken der Graduate School of Chemistry in Münster (Stipendium für S.K.M.N.) und der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Ra 1732/1-2). Weiterhin bedanken wir uns bei der COST Action CM0703 „Systems Chemistry“.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201103707> zu finden.

wird somit ein ternärer Komplex („supramolekularer Lipoplex“) zwischen den Cyclodextrinvesikeln, *trans*-2 und der DNA gebildet. Unter UV-Bestrahlung isomerisiert *trans*-2 zu *cis*-2, das von der Vesikeloberfläche freigesetzt wird. Als Konsequenz wird die multivalente Sperminkorona auf der Vesikeloberfläche unterbrochen, was zu einem Verlust an multivalenter Wechselwirkung zwischen den Spermingruppen und der DNA führt. Das so erhaltene monovalente Spermin wird aufgrund seiner geringen Affinität gegenüber der DNA von dieser freigesetzt. Insgesamt kommt es zu einer Auflösung des supramolekularen Komplexes, und die DNA wird effektiv durch UV-Bestrahlung freigesetzt. Weiterhin wird durch Bestrahlung mit sichtbarem Licht, aufgrund der Reiso-merisierung von *cis*-2 zu *trans*-2, eine Neubildung des ternären Komplexes beobachtet. Das lichtgesteuerte ternäre System ist schematisch in Abbildung 1 gezeigt.

Amphiphile α -CD **1a** und β -CD **1b** wurden wie bereits berichtet synthetisiert.^[13b,c] Unilamellare CD-Doppelschichtmembranvesikel mit einem Durchmesser von 100–150 nm wurden durch Extrusion einer wässrigen gepufferten Lösung (pH 7.2) aus multilamellaren Vesikeln erhalten.^[13] Die Synthese von Konjugat **2** ist in den Hintergrundinformationen beschrieben, und die Reversibilität der Photoisomerisierung von **2** ist in Abbildung S1 und S2 gezeigt. Durch isotherme Titrationskalorimetrie (ITC) von *trans*-2 mit α -CD und β -CD konnte die Wechselwirkung der hydrophoben Azobenzol-Einheit mit den Cyclodextrin-Hohlräumen belegt werden. *trans*-2 bildet Einschlusskomplexe mit α -CD mit einer Assoziationskonstante $K_a \approx 6 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ sowie auch mit β -CD ($K_a \approx 4 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$). Die erhaltenen thermodynamischen Parameter sind in Tabelle S1 zu finden.

Das ternäre supramolekulare System aus α -CD **1a**, Konjugat *trans*-2 und einem DNA-Einzelstrang (ssDNA) wurde im Folgenden im Detail untersucht. Die optische Dichte (OD600) einer 30 μM Lösung von Vesikeln aus α -CD **1a** ist niedriger als 0.05. Durch Zugabe von *trans*-2 ist keine signifikante Änderung der OD600 und des Vesikeldurchmessers zu beobachten (Abbildung 2 A und 3 A). Lediglich das ζ -Potential steigt von -26 mV für die freien Vesikel auf $+11 \text{ mV}$ durch die Zugabe von *trans*-2 (Abbildung 3 C).^[13c] Dies zeigt deutlich die Anlagerung von *trans*-2 an die Cyclodextrinvesikel und weist auf eine hohe Oberflächendichte an positiv geladenen Spermingruppen hin. Durch Zugabe der 50-mer-ssDNA zu diesem binären System aus Vesikeln aus α -CD

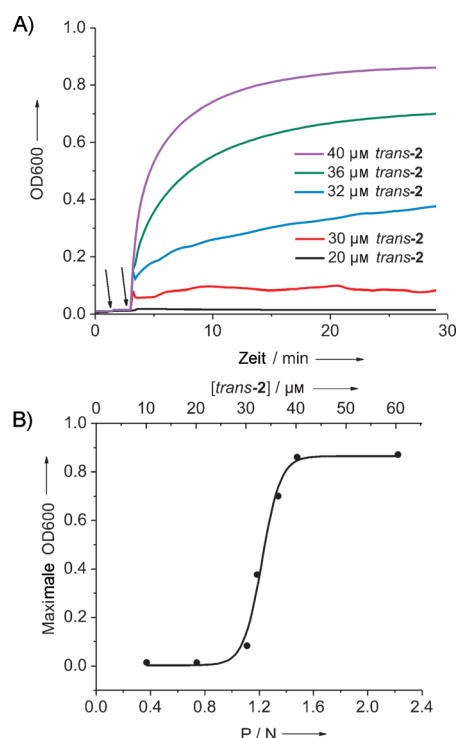


Abbildung 2. Bildung eines ternären Komplexes aus Vesikeln bestehend aus α -CD **1a**, *trans*-2 und 50-mer-ssDNA. A) Zeitabhängige Messung der OD600. B) Maximale OD600 gegen die Konzentration von *trans*-2 und P/N-Ladungsverhältnis. Konzentrationen: [**1a**] = 30 μM und [ssDNA] = 1.6 μM in wässrigem Puffer (2 mM HEPES und 10 μM EDTA bei pH 7.2).

1a und dem Konjugat *trans*-2 wird eine Zunahme der optischen Dichte (OD600) von 0.05 auf 0.9 innerhalb von 30 min beobachtet (Abbildung 2 A). Der Durchmesser der Strukturen in Lösung wächst von etwa 100 auf mehr als 1000 nm (Abbildung 3 A), was auf eine schnelle Aggregation der Vesikel in diesem ternären System hindeutet. In jeder anderen Kombination (z. B. ohne Vesikel aus **1a**, ohne Konjugat **2** und/oder ohne ssDNA) wird keine Aggregation beobachtet (Abbildung S4). Weiterhin ist das ζ -Potential dieses ternären Komplexes mit $+0.4 \text{ mV}$ als neutral zu bezeichnen; dies deutet auf die Ladungsneutralisierung zwischen der positiven

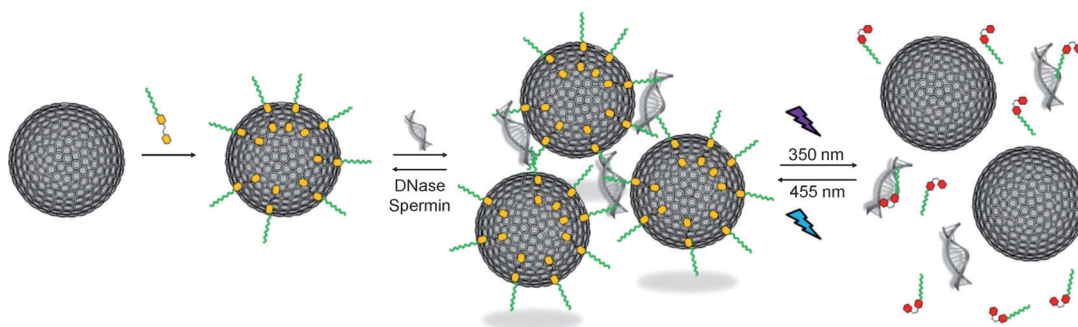


Abbildung 1. Lichtgesteuerte Bildung und Auflösung eines ternären Komplexes aus Vesikeln aus Cyclodextrinen (α -CD **1a** oder β -CD **1b**), Azobenzol-Spermin-Konjugat *trans*-2 und DNA (einem 50-mer-DNA-Einzelstrang (ssDNA) oder Lachshoden-DNA mit 2000 Basenpaaren (dsDNA)).

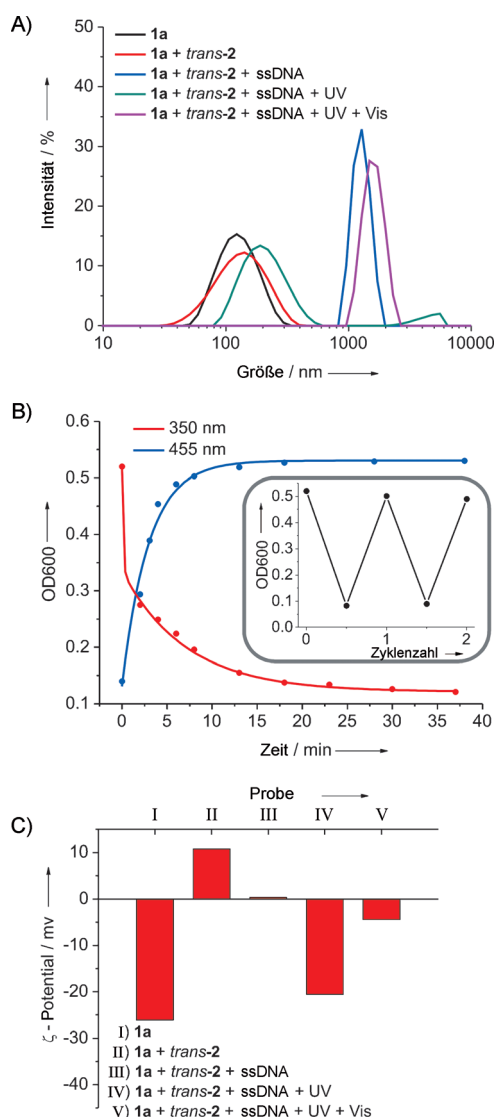


Abbildung 3. Lichtgesteuerte Bildung eines ternären Komplexes α -CD **1a** (30 μ M), Konjugat *trans*-**2** (30 μ M) und 50-mer-ssDNA (0.7 μ M). A) Lichtabhängige Größenverteilung ermittelt durch DLS. B) Zeitabhängige Ab- und Zunahme der OD600 unter wechselnder Bestrahlung mit UV-Licht (350 nm) und sichtbarem Licht (455 nm). Der Ausschnitt zeigt die reversible Bildung des ternären Komplexes über 2 Zyklen. C) ζ -Potential. Alle Messungen wurden in wässriger Pufferlösung durchgeführt (2 mM HEPES und 10 μ M EDTA bei pH 7.2).

Oberfläche der Spermin-dekorierten Vesikel und dem negativen Polyphosphatrückgrat der DNA hin (Abbildung 3C). Die Bildung des ternären Komplexes ist in der Tat abhängig von der Oberflächendichte an positiv geladenen Spermingruppen an der Vesikeloberfläche. Je weniger *trans*-**2** zu den Vesikeln aus **1a** gegeben wird, desto langsamer wird ein Maximum an OD600 beobachtet (Abbildung 2A). Die maximale optische Dichte wurde gegen die Konzentration an *trans*-**2** sowie gegen das Verhältnis von positiver (P) zu negativer (N) Ladung aufgetragen. Dieses P/N Verhältnis wurde unter folgender Annahme berechnet: 3 positive Ladungen je Spermin und 50 negative Ladungen je 50-mer-ssDNA. Wie in Abbildung 2B ersichtlich, liegt die Schwelle für die Aggregation bei einem P/N-Verhältnis von etwa 1.0.

Die Bedeutung der Ladungsneutralisierung wurde durch die Zugabe eines Überschusses an Spermin-4HCl (50 mM) bestätigt, da es unverzüglich zu einer vollständigen Auflösung des ternären Komplexes kommt (Abbildung S5). Auch die Zugabe des Enzyms DNase I (30 U ml⁻¹) führt zu einer langsamen Auflösung des ternären Komplexes (Abbildung S5). Diese Beobachtung kann durch die enzymatische Hydrolyse der gebundenen DNA erklärt werden.

Bei der UV-Bestrahlung des ternären Komplexes aus α -CD **1a**, Konjugat *trans*-**2** und 50-mer-ssDNA bei 350 nm für 40 min wird eine Abnahme der OD600 von 0.52 auf 0.12 beobachtet. Auch die durchschnittliche Partikelgröße sinkt von über 1000 auf ca. 200 nm (Abbildung 3A,B). Das ζ -Potential der erhaltenen Partikel fällt von etwa 0.4 auf -20.6 mV (Abbildung 3C). Die Bestrahlung mit UV-Licht induziert die Photoisomerisierung von *trans*-**2** zu *cis*-**2** (Abbildung S1 und S2), und durch OD600-, DLS- und ζ -Potential-Messungen wurde bestätigt, dass das ternäre System unter UV-Bestrahlung in seine Komponenten dissoziiert (CD-Vesikel, *cis*-**2** und ssDNA). Wie aus Abbildung 3B ersichtlich, ist die Dissoziation innerhalb von etwa 20 Minuten abgeschlossen. Das negative ζ -Potential ist mit der Freisetzung der Spermineinheiten von der Vesikeloberfläche zu erklären, da lediglich *trans*-**2** stabile Einschlusskomplexe mit α -CD bildet. Somit liegt das Spermin-Konjugat **2** nicht mehr in einer multivalenten Anordnung vor und wird von der DNA freigesetzt, da die monovalente Anbindung bei den verwendeten Konzentrationen zu vernachlässigen ist.^[16] Die negativ geladenen Vesikel binden aufgrund elektrostatischer Abstoßung nicht an die negativ geladene ssDNA. Somit ist zu schlussfolgern, dass die ssDNA von der Vesikeloberfläche durch UV-Bestrahlung aus diesem ternären System freigesetzt werden kann.

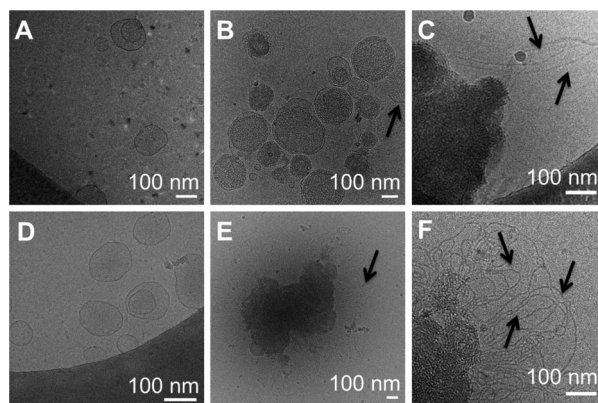


Abbildung 4. Kryo-TEM-Bilder von A) Vesikel aus α -CD **1a**. B,C) Ternärer Komplex von Vesikeln aus **1a**, *trans*-**2** und dsDNA. D) Vesikel aus β -CD **1b**. E,F) Ternärer Komplex von Vesikeln aus **1b**, *trans*-**2** und dsDNA. Die schwarzen Pfeile zeigen DNA-Stränge.

Anschließend wurde das ternäre System aus α -CD **1a**, *cis*-**2** und ssDNA mit sichtbarem Licht einer Wellenlänge von 455 nm für 40 min bestrahlt, um wieder *trans*-**2** zu erhalten. Es konnte eine Zunahme der OD600 von 0.14 auf ca. 0.53 beobachtet werden sowie auch eine Zunahme der Partikelgröße

von 200 auf 1000 nm (Abbildung 3 A,B). Das ζ -Potential steigt signifikant von -20.6 auf -4.4 mV (Abbildung 3 C). Sowohl die OD600- als auch die DLS- und ζ -Potential-Messungen sind konsistent mit der erneuten Bildung des ternären Komplexes aus Vesikeln aus **1a**, *trans*-**2** und ssDNA unter Bestrahlung mit sichtbarem Licht. Somit ermöglicht es die lichtinduzierte Bildung und Auflösung des ternären Komplexes, Oligonukleotide geringen Molekulargewichts zu binden und wieder freizusetzen. Die Reversibilität der lichtinduzierten Bildung des ternären Komplexes ist quantitativ über zwei Zyklen unter der Voraussetzung, dass die Bestrahlungszeit ausreichend ist (40 min bei 350 nm und 40 min bei 455 nm), die Vesikelkonzentration auf $30 \mu\text{M}$ beschränkt ist (max. OD600 = 0.5) und die Konzentration an ssDNA nicht höher als ca. $2.0 \mu\text{M}$ ist.

In derselben Weise wurden auch die Experimente mit Vesikeln aus β -CD **1b** (anstelle von α -CD **1a**) durchgeführt. Die Stabilität der Einschlusskomplexe von *trans*-**2** mit α - oder β -CD sind vergleichbar (siehe Tabelle S1), und die Zugabe von Konjugat *trans*-**2** und 50-mer-ssDNA führt ebenfalls zur Bildung eines lichtresponsiven ternären supramolekularen Komplexes (Abbildung S6). Auch in diesem Fall führt die Ladungsneutralisierung (P/N = 1.0) zu einer spontanen Aggregation. Die lichtinduzierte Bildung und Auflösung des ternären Komplexes ist quantitativ reversibel und ermöglicht somit die lichtgesteuerte Bindung und Freisetzung von DNA.

Auch die Wechselwirkung von CD-Vesikeln (aus α -CD **1a** oder β -CD **1b**), Konjugat *trans*-**2** und einem DNA-Doppelstrang mit 2000 Basenpaaren (dsDNA; anstelle der 50-mer-ssDNA) führt zur Bildung eines ternären Komplexes (Abbildung S7 und S8). Die durchschnittliche Partikelgröße steigt auf mehr als 1000 nm. Auch in diesem Fall hat die Komplexbildung eine Schwelle bei einem P/N-Verhältnis von 1.0 unter der Annahme, dass je *trans*-**2** 3 positive und je dsDNA 4000 negative Ladungen vorhanden sind. Das ζ -Potential des ternären Komplexes ist nahezu neutral, und die Bildung wurde mithilfe von Kryo-TEM nachgewiesen (Abbildung 4 A). Aus Abbildung 4 A,D ist ersichtlich, dass in Abwesenheit von *trans*-**2** sphärische unilamellare Vesikel mit einem Durchmesser von etwa 100 nm vorhanden sind. Durch die Zugabe von *trans*-**2** und dsDNA zu den Cyclodextrinvesikeln, kommt es zur Bildung großer Aggregate von (multilamellaren) Vesikeln und dsDNA basierend auf multivalenten nichtkovalenten Wechselwirkungen mit *trans*-**2**. Die Vesikel bilden ausgedehnte Kontaktareale, die von langen Strängen aus dsDNA umhüllt sind (Abbildung 4 B,C,E,F). Offensichtlich dient die DNA als elektrostatischer Klebstoff, der eine starke Adhäsion, Abflachung und Stapelung der Cyclodextrinvesikeln bewirkt, sodass dichte multilamellare Komplexe entstehen. Elektrostatische Komplexbildung könnte zu einer erheblichen Dehydratation der Vesikeloberfläche führen.

Anders als das lichtresponsive System, das für die Freisetzung von ssDNA beschrieben wurde, zeigt die UV-Bestrahlung des ternären Komplexes aus CD Vesikeln (α -CD **1a** oder β -CD **1b**), Konjugat *trans*-**2** und dsDNA keinerlei Einfluss auf die optische Dichte (OD600; konstant bei 0.4) und die Partikelgröße (bleibt bei etwa 1000 nm). UV-Bestrahlung des ternären Komplexes führt zu einer Abnahme des ζ -Po-

tentials von -0.42 auf -15.4 mV, was mit einer partiellen Freisetzung der positiven geladenen Spermineinheiten (*cis*-**2**) von der Vesikeloberfläche zu erklären ist. Dennoch konnte durch OD600-, DLS- und ζ -Potential-Messungen gezeigt werden, dass trotz UV-Bestrahlung der ternäre Komplex erhalten bleibt. Wir nehmen an, dass der ternäre Komplex aus Vesikeln, *trans*-**2** und dsDNA aufgrund gesteigerter Multivalenz und kinetischer Stabilität robuster ist. Zurückzuführen ist dieser Effekt auf die größere Länge der dsDNA im Vergleich zur ssDNA.^[16] Dieser Komplex bildet sich nicht reversibel und ist für die lichtgesteuerte Bindung und Freisetzung von dsDNA ungeeignet.

Abschließend ist zu sagen, dass ein lichtresponsiver ternärer Komplex durch spontane Selbstorganisation dreier Komponenten gebildet wurde: Vesikel aus amphiphilen Cyclodextrinen **1a** und **1b**, Azobenzol-Spermin-Konjugat *trans*-**2** und 50-mer-ssDNA. Die Photoisomerisierung des Azobenzols führt zu einer lichtinduzierten Bindung und Freisetzung von ssDNA. Die Hauptinnovation in diesem ternären System ist die lichtinduzierte Schaltbarkeit zwischen einer hochaffinen multivalenten Anordnung und einem schwachen monovalenten Bindungsmodus. Die Anlagerung zielspezifischer Liganden zusammen mit lichtresponsiven Konjugaten auf der Vesikeloberfläche^[13d,e] könnte zu einem vielseitigen Transportsystem für die Bindung und Freisetzung von DNA und RNA führen und somit Anwendungsmöglichkeiten in der Gentherapie eröffnen.

Eingegangen am 31. Mai 2011,
veränderte Fassung am 28. Juli 2011
Online veröffentlicht am 5. September 2011

Stichwörter: Azobenzole · Cyclodextrine · DNA · Molekulare Erkennung · Vesikel

- [1] P. L. Felgner, G. M. Ringold, *Nature* **1989**, 337, 387–388.
- [2] O. Boussif, F. Lezoualch, M. A. Zanta, M. D. Mergny, D. Scherman, J. P. Behr, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, 92, 7297–7301.
- [3] J. Haensler, F. C. Szoka, *Bioconjugate Chem.* **1993**, 4, 372–379.
- [4] a) S. Asayama, A. Maruyama, C. S. Cho, T. Akaike, *Bioconjugate Chem.* **1997**, 8, 833–838; b) P. C. Bell, M. Bergsma, I. P. Dolbnya, W. Bras, M. C. A. Stuart, A. E. Rowan, M. C. Feiters, J. B. F. N. Engberts, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 1551–1558; c) J. T. Zhang, L. S. Chua, D. M. Lynn, *Langmuir* **2004**, 20, 8015–8021; d) M. Meyer, A. Philipp, R. Oskuee, C. Schmidt, E. Wagner, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 3272–3273.
- [5] a) M. A. Gosselin, W. J. Guo, R. J. Lee, *Bioconjugate Chem.* **2001**, 12, 989–994; b) L. V. Christensen, C. W. Chang, W. J. Kim, S. W. Kim, Z. Zhong, C. Lin, J. F. J. Engbersen, J. Feijen, *Bioconjugate Chem.* **2006**, 17, 1233–1240.
- [6] a) G. Han, C. C. You, B. J. Kim, R. S. Turingan, N. S. Forbes, C. T. Martin, V. M. Rotello, *Angew. Chem.* **2006**, 118, 3237–3241; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 3165–3169; b) M. A. Kostiaainen, D. K. Smith, O. Ikkala, *Angew. Chem.* **2007**, 119, 7744–7748; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 7600–7604; c) Y. C. Liu, A. L. M. Le Ny, J. Schmidt, Y. Talmon, B. F. Chmelka, C. T. Lee, *Langmuir* **2009**, 25, 5713–5724.
- [7] a) F. Yan, L. Chen, Q. Tang, R. Wang, *Bioconjugate Chem.* **2004**, 15, 1030–1036; b) M. A. Kostiaainen, O. Kasyutich, J. J. L. M. Cornelissen, J. M. Nolte, *Nat. Chem.* **2010**, 2, 394–399.

- [8] a) I. Tomatsu, A. Hashidzume, A. Harada, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 2226–2227; b) X. Liao, G. Chen, X. Liu, W. Chen, F. Chen, M. Jiang, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 4511–4515; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 4409–4413; c) S. Tamesue, Y. Takashima, H. Yamaguchi, S. Shinkai, A. Harada, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 7623–7626; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 7461–7464; d) K. Peng, I. Tomatsu, A. Kros, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 4094–4096.
- [9] a) H. Murakami, A. Kawabuchi, K. Kotoo, M. Kunitake, N. Nakashima, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 7605–7606; b) G. Wenz, B. H. Han, A. Müller, *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 782–817.
- [10] a) Y. P. Wang, N. Ma, Z. Q. Wang, X. Zhang, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 2881–2884; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 2823–2826; b) J. Zou, B. Guan, X. J. Liao, M. Jiang, F. G. Tao, *Macromolecules* **2009**, *42*, 7465–7473.
- [11] a) A. Yabe, Y. Kawabata, H. Niino, M. Tanaka, A. Ouchi, H. Takahashi, S. Tamura, W. Tagaki, H. Nakahara, K. Fukuda, *Chem. Lett.* **1988**, 1–4; b) P. B. Wan, Y. G. Jiang, Y. P. Wang, Z. Q. Wang, X. Zhang, *Chem. Commun.* **2008**, 5710–5712.
- [12] D. P. Ferris, Y. L. Zhao, N. M. Khashab, H. A. Khatib, J. F. Stoddart, J. I. Zink, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 1686–1688.
- [13] a) B. J. Ravoo, R. Darcy, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 4494–4496; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 4324–4326; b) A. Mazzaglia, R. Donohue, B. J. Ravoo, R. Darcy, *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 1715–1721; c) P. Falvey, C. W. Lim, R. Darcy, T. Revermann, U. Karst, M. Giesbers, A. T. M. Marcelis, A. Lazar, A. W. Coleman, D. N. Reinhoudt, B. J. Ravoo, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 1171–1180; d) F. Versluis, I. Tomatsu, S. Kehr, C. Fregonese, A. W. J. W. Tepper, M. C. A. Stuart, B. J. Ravoo, R. I. Koning, A. Kros, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 13186–13187; e) J. Voskuhl, M. C. A. Stuart, B. J. Ravoo, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 2790–2796.
- [14] a) H. Gonzalez, S. J. Huang, M. E. Davis, *Bioconjugate Chem.* **1999**, *10*, 1068–1074; b) C. Ortiz Mellet, J. M. García Fernández, J. M. Benito, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 1586–1608.
- [15] S. K. M. Nalluri, B. J. Ravoo, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 5499–5502; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 5371–5374.
- [16] Durch UV-Bestrahlung wird ein photostationärer Zustand mit etwa 20% verbleibenden *trans-2* erhalten (siehe die Hintergrundinformationen). Es kann somit angenommen werden, dass in einem ladungsneutralen Komplex, bestehend aus ssDNA, nur wenige *trans-2* enthalten sind (zu wenige für multivalente Wechselwirkungen). Bei der dsDNA hingegen verbleiben hunderte von *trans-2* an der DNA, was für eine multivalente Wechselwirkung vollkommen ausreicht.