

- der auf das Pauli-Prinzip zurückzuführende Anteil der lokalen kinetischen Energiedichte $t(r)$.^[18a-c] Die ELF wird an jedem Punkt r auf den Wert $t_{ph}(\rho(r))$ für das homogene Elektronengas mit der Dichte $\rho(r)$ bezogen: $ELF = [1 + [t_p(r)/t_{ph}(\rho(r))]^2]^{-1}$.
- a) A. D. Becke, K. E. Edcombe, *J. Chem. Phys.* **1990**, *92*, 5397; b) A. Savin, A. D. Becke, J. Flad, R. Nesper, H. Preuß, H. G. von Schnering, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 421–424; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 409–412; c) A. Savin, O. Jepsen, J. Flad, O. K. Andersen, H. Preuß, H. G. von Schnering, *ibid.* **1992**, *104*, 186–188 bzw. **1992**, *31*, 187–188.
 - [19] R. F. W. Bader, *Atoms in Molecules: A Quantum Theory*, Oxford University Press, Oxford, **1990**.
 - [20] B. Silvi, A. Savin, *Nature* **1994**, *371*, 683.
 - [21] A. Savin, B. Silvi, F. Colonna, *Can. J. Chem.* **1996**, *74*, 1088.
 - [22] A. Savin, R. Nesper, S. Wengert, T. Fässler, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 1892–1918; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1808–1832.
 - [23] U. Häusermann, S. Wengert, R. Nesper, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 2150–2154; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 2069–2073.
 - [24] M. Kohout, A. Savin, *Int. J. Quantum Chem.* **1996**, *60*, 875.
 - [25] Abschwächende Wirkung von d-Elektronenzuständen auf den Absolutwert der ELF: M. Kohout, A. Savin, *J. Comput. Chem.* **1998**, im Druck.

Aufbau von DNA/Fulleren-Hybrid-materialien**

Alan M. Cassell, Walter A. Scrivens und James M. Tour*

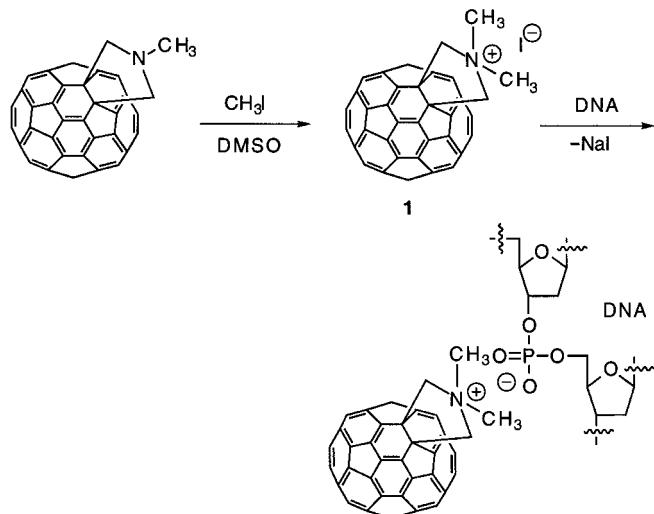
Auf biochemischem Wege lassen sich präzise dimensionierte Molekülstrukturen von 1 nm bis 10 cm Länge erhalten. Dagegen ist die Synthese exakt definierter künstlicher Molekülararchitekturen, die größer als 25 nm sind, wegen der eingeschränkten Löslichkeit, des unzureichenden Materialdurchsatzes und der Schwierigkeiten bei der Charaktersierung oft nicht erreichbar.^[1] Angesichts steigender Anforderungen von Seiten der Nanotechnologie könnten Synthesen auf Selbstorganisationsstrategien zurückgreifen, bei denen natürliche Gerüste als Schablonen für den Aufbau synthetischer Nanostrukturen genutzt werden.^[2] DNA ist als ein Gerüst auf molekularer Ebene besonders geeignet wegen ihrer regulären Struktur, ihrer Fähigkeit, sich reversibel durch H-Brücken zu organisieren, und da es recht leicht ist, Materialien mit Partikelgrößen deutlich oberhalb von 25 nm zu erhalten. Die meisten Arbeiten über DNA-Selbstorganisation haben sich bisher auf Duplex-Wechselwirkungen zwischen komplementären DNA-Strängen, auf die kovalente Anknüpfung synthetischer Einheiten an spezifische Nucleotide oder auf Intercalationsstrategien konzentriert. Es gibt nur wenige Studien zum Aufbau von Materialien durch elektrostatische Wechselwirkungen mit den Phosphatgruppen des DNA-Rückgrates.^[3] Unser Ziel war es, über diese negativ geladenen Gruppen kationische Moleküle entlang der Au-

[*] Prof. J. M. Tour, Dr. A. M. Cassell, Dr. W. A. Scrivens
Department of Chemistry and Biochemistry
University of South Carolina
Columbia, SC 29208 (USA)
Fax: (+1) 803-777-9521
E-mail: tour@psc.sc.edu

[**] Diese Arbeit wurde von der Defense Advanced Research Projects Agency und dem Office of Naval Research gefördert.

ßenseite einer DNA-Schablone möglichst in einem Schritt zu organisieren. Die Analyse großer, nanostrukturierter Materialien ist oft mühselig. Eine bemerkenswerte Ausnahme bilden Kohlenstoff-Nanoröhren, bei denen durch Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) kontrastreiche Abbildungen erhalten werden können, und zwar ohne Schwermetall-Beschichtung oder Anfärbung (wodurch die Auflösung deutlich verringert würde).^[4] Aus diesem Grund wurden Fullerene-Derivate^[5] als DNA-komplexierenden Agentien gewählt. Wir berichten hier über einen neuen und einfachen Zugang zu aus DNA/Fulleren-Hybridien aufgebauten Nanostrukturen, die unmittelbar durch TEM untersucht werden können.

Für die Komplexierung mit DNA wurde $C_{60}\text{-}N,N\text{-Dimethylpyrrolidinium-iodid}$ **1** synthetisiert (Schema 1).^[6] Molecul-



Schema 1. Die Komplexierung der DNA gelingt durch Kationenaustausch von **1** mit der DNA.

lar-Modeling-Rechnungen ergaben, daß die Komplexierung von **1'** (das iodfreie Fullerene) an aufeinanderfolgende Phosphatreste eines DNA-Rückgrates sterisch erlaubt ist (Abb. 1) und daß die Dicke des Doppelstrang-DNA/**1'**-Komplexes bei 5–6 nm liegt. DNA/**1'**-Komplexe wurden durch Mischen der DNA-Lösung mit einer Lösung von **1** in Dimethylsulfoxid erhalten. Die DNA/Fulleren-Nanoarchitekturen konnten tatsächlich in einfacher Weise durch TEM und ohne Schwermetall erhalten werden. Abbildung 2 zeigt eine Aufnahme mit hervorragendem Kontrast zwischen der komplexierten DNA und dem vom Kohlenstofffilm hervorgerufenen Hintergrund.

Anfänglich gelang es uns wegen des beträchtlichen Umfangs an Aggregation (und möglicher Superspiralisierung) nicht, Längen und Durchmesser der einzelnen Plasmide zu messen. Wir vermuteten, daß die erhöhte Aggregation teilweise von van-der-Waals-Wechselwirkungen zwischen den hydrophoben Teilen der Fullerene herrührte, die zur Wirkung kamen, sobald die Komplexe auf Wasser gegeben wurden. Wir untersuchten daraufhin eine Reihe von Tensiden hinsichtlich ihrer Fähigkeit, die anziehenden Wechselwirkungen der Fullerene in den DNA/**1'**-Komplexen abzuschwächen. Dabei wurden Tenside gewählt, die keinen Kation-Austausch

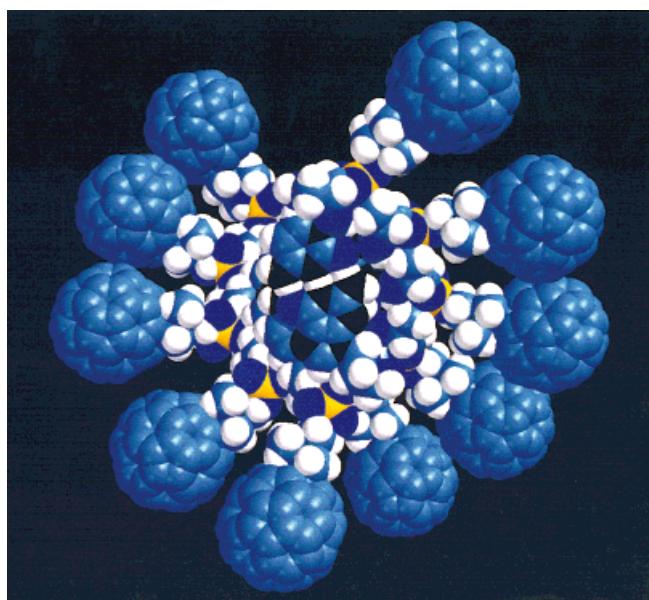


Abb. 1. Blick auf ein Kalottenmodell des Duplex-CG-Hexamers der DNA im Komplex mit **1'** entlang der Helixachse. Die Molecular-Modeling-Rechnungen wurden auf einem Silicon-Graphics-Power-Indigo2-Rechner mit dem Programm MacroModel 4.5 sowohl für die Darstellung der Struktur als auch für die Energieminimierung durchgeführt. Die Energieminimierungen wurden mit dem MM2*-Kraftfeld (**1**, DNA/**1'**-Komplex) und mit dem AMBER*-Kraftfeld (Oligonucleotide) durchgeführt. Alle Energien wurden über eine große Zahl von Iterationsschritten bis zur Konvergenz an lokalen Minima, die den Energien der Ausgangsverbindungen am nächsten lagen, minimiert.

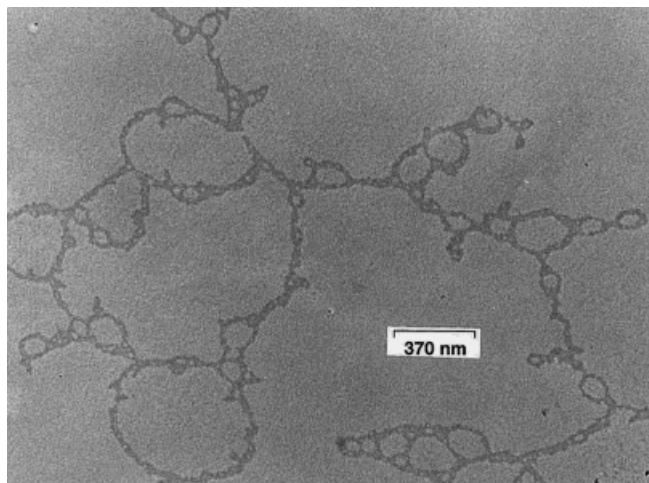


Abb. 2. Die Plasmid-DNA-Lösung (ϕ X174 RFII, ein verbreiteter Elektronenmikroskopie-Standard, zuvor entspiralisiertes Plasmid, 5386 Basenpaare (bp), $10 \mu\text{g mL}^{-1}$, 10 mM Tris(hydroxymethyl)aminomethan(Tris)-HCl, pH 8.5) wurde mit $C_{60}\text{-N,N-Dimethylpyrrolidinium-iodid}$ -Lösung (5 mM in Dimethylsulfoxid, 150 Äquiv. **1** pro Base) durch vorsichtiges Schütteln gemischt. Nach 4 h wurden $10 \mu\text{L}$ der DNA/**1'**-Komplex-Lösung auf einen Objektträger gegeben, der sich in einer Petrischale mit destilliertem Wasser befand, woraufhin sich die Lösung auf der Wasseroberfläche verteilt. Ein Kohlenstofffilm-beschichtetes TEM-Trägernetz wurde dann streifend über das Wasser geführt und die DNA/**1'**-Komplexe so absorbiert. Das Trägernetz wurde mit Filterpapier trocken getupft, 1 h bei 30°C im Vakuum getrocknet und mit einem Hitachi-H-8000-Elektronenmikroskop bei 100 keV Beschleunigungsspannung abgebildet.

mit den DNA/**1'**-Komplexen eingehen würden, beispielsweise anionische, neutrale oder zwitterionische Tenside. Die Tenside wurden zuerst auf die Wasseroberfläche aufgetragen. Dann wurden $10 \mu\text{L}$ einer DNA/**1'**-Komplex-Lösung zugegeben. Das neutrale Tensid Tween 20^[7] (ein trihydroxy-terminierter Oligoether) verursachte keine Änderung der zuvor beobachteten Struktur der DNA/**1'**-Komplexe im TEM-Bild; diese blieben also demgemäß stark aggregiert. Mit Coco-Betain (($\text{Me}_3\text{SiO})_2\text{MeSiO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$) lagen die DNA/**1'**-Komplexe voneinander getrennt vor, blieben aber jeweils kondensiert (verknäult) und stark superspiralisiert. Die besten Ergebnisse wurden mit Zonyl ($\text{CF}_3(\text{CF}_2)_8\text{CO}_2\text{Na}$), Admox 12 ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{N}(\text{CH}_3)_2\text{O}$) und Admox 14 ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{N}(\text{CH}_3)_2\text{O}$) erhalten. Jedes dieser Tenside führte zu getrennt vorliegenden Komplexen. Anstatt völlig aggregiert zu sein (wie in Abb. 2), blieben die Komplexe in einer kondensierten (und damit kompakten) Form, in der die Plasmide stark verknäult sind (Abb. 3). Interessanterweise lagen die gemessenen Strangdicken der in Abbildung 3 gezeigten Plasmide zwischen 15–30 nm. Während die Durch-

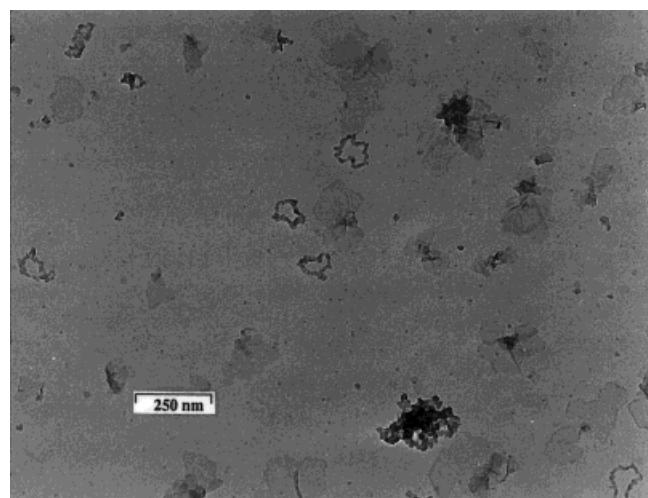


Abb. 3. Abbildung der verknäulten Plasmid-DNA (die auch für Abb. 2 benutzt wurde). Die daneben auftretenden Gebilde könnten Salze wie Tensid-Aggregate mit **1** oder Tris-HCl sein.

messer der DNA/**1'**-Ringe in Abbildung 3 zwischen 100–150 nm variierten, sollten die Durchmesser der zuvor entspiralisierten Plasmid-DNA ohne Verknäulung 580 nm betragen;^[8] der gemessene Durchmesser deutet mit 1/4–1/6 des erwarteten Wertes auf eine deutlich kompaktere Struktur. Bakterielle DNA enthält keine Histone, und darum ist dieser verknäulte Zustand bemerkenswert, denn er erinnert an die durch Histone hervorgerufene DNA-Packung in Chromatin, in dem das Solenid einen typischen Durchmesser von 30 nm aufweist.^[9] Der gleiche Effekt trat auf, als lineare DNA/**1**-Komplexe den Tensiden ausgesetzt wurden; wiederum lag ein verknäulter linearer Komplex vor (Abb. 4). Die Länge des linearen DNA/**1'**-Komplexes wurde zu ca. $0.88 \mu\text{m}$ bestimmt, seine erwartete Länge liegt bei $1.93 \mu\text{m}$. Die Verknäulung ist wahrscheinlich eine Folge intramolekularer Anziehungskräfte zwischen den Fullereneinheiten. Vermutlich lässt das Tensid gut voneinander getrennte DNA/**1'**-Strukturen auf Wasser zu,

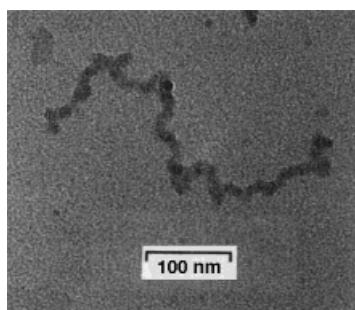


Abb. 4. Abbildung der verknäulten Plasmid-DNA (5686 bp, Länge der B-DNA 1.93 µm), die in Gegenwart von Admox 14 (10 µM) aufgetragen wurde.

weshalb überwiegend die nichtaggregierte Verbindung vorhanden ist.

In Kontrollexperimenten war es uns nicht möglich, Mischungen der DNA mit Tensiden ohne **1** abzubilden. Die Tenside komplexieren die DNA also entweder nicht, oder sie verfügen über keine ausreichende Elektronendichte, um durch TEM abgebildet zu werden. Auch der Einsatz von **1** (oder **1** und Tensid) ohne DNA führte nicht zum kontrollierten Aufbau von Nanostrukturen.

Obwohl die Komplexierung aller Phosphatgruppen sterisch erlaubt ist (siehe oben), konnte der tatsächliche Substitutionsgrad nicht bestimmt werden. Eine erschöpfende Substitution erscheint unwahrscheinlich, aber die erhebliche Verknäulung sorgt für eine ausreichende Fulleren-Dichte, um die Struktur im Detail abbilden zu können.

Mit einem von Ferrocen abgeleiteten Ammoniumsalz^[10] statt **1** erhält man einen schlechteren Bildkontrast als bei den DNA/**1'**-Komplexen. Die Fullerenderivate waren den Ferrocensalzen somit trotz des Fehlens von Metallatomen als Kontrastmittel überlegen.

DNA kann als Templat für die Organisation von Fulleren-Materialien durch elektrostatische Wechselwirkungen mit den Phosphatresten des DNA-Rückgrates genutzt werden. Da die erschöpfende Substitution aller Phosphatgruppen nicht verifiziert werden konnte, ist die genaue Struktur der hier beschriebenen DNA/Fulleren-Komplexe nicht gesichert. Jedoch bietet diese Methode einen schnellen einstufigen Zugang zu Hybrid-Nanoarchitekturen in Größenbereichen,

die mit traditionellen Synthesemethoden nicht erreichbar sind; diese und analoge Wege über DNA-Template sind also enorm nützlich. Durch die Komplexierung anderer kationischer Verbindungen mit Fullereneinheiten, die für den notwendigen Bildkontrast in der TEM-Analyse sorgen, sollten ebenfalls wohlgeordnete Nanostrukturen erhalten werden können. Durch intramolekulare Vernetzung der Fullerene entlang des DNA-Rückgrates sollten starrere Polyfullerene zugänglich sein.

Eingegangen am 10. November 1997,
veränderte Fassung am 12. Februar 1998 [Z11137]

Stichwörter: DNA-Strukturen • Fullerene • Nanostrukturen

- [1] J. M. Tour, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 537–553; b) G. M. Whitesides, J. P. Mathias, C. T. Seto, *Science* **1991**, *254*, 1312–1319.
- [2] a) C. M. Niemeyer; *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 603–606; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 585–587; b) C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, R. C. Mucic, J. J. Storhoff, *Nature* **1996**, *382*, 607–609; c) A. P. Alivisatos, K. P. Johnsson, X. Peng, T. E. Wilson, C. J. Loweth, M. P. Bruchez, P. G. Schultz, *Nature* **1996**, *382*, 609–611; d) J. Chen, N. C. Seeman, *Nature* **1991**, *350*, 631–633; e) N. C. Seeman, *Acc. Chem. Res.* **1997**, *30*, 357–363.
- [3] a) D. Bach, I. R. Miller, *Biochim. Biophys. Acta* **1966**, *114*, 311–325; b) I. R. Miller, D. Bach, *Biopolymers* **1968**, *6*, 169–179; c) P. L. Felgner, T. R. Gadek, M. Holm, R. Roman, H. W. Chan, M. Wenz, J. P. Northrop, G. M. Ringold, M. Danielsen *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1987**, *84*, 7413; d) H. J. Vollenweider, J. M. Sogo, T. H. Koller *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1975**, *72*, 83–87.
- [4] G. Van Tendeloo, J. Van Landuyt, S. Amelinckx in *Fullerenes: Recent Advances in the Chemistry and Physics of Fullerenes and Related Materials* (Hrsg.: K. M. Kadish, R. S. Ruoff), Electrochemical Society, Pennington, NJ, **1994**, S. 498–513.
- [5] A. S. Buotorine, H. Tokuyama, M. Takasugi, H. Isobe, E. Nakamura, C. Hélène; *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 2526–2529; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 2462–2465.
- [6] a) M. Maggini, G. Scorrano, M. Prato, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9798–9799; b) R. Bullard-Dillard, K. E. Creek, W. S. Scrivens, J. M. Tour, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 376–385.
- [7] A. W. Jowdy, *Carol. J. Pharm.* **1952**, *33*, 465.
- [8] Der Umfang der DNA wurde durch Multiplikation der Zahl von Basenpaaren (bp), 5386, berechnet, wobei die Entfernung zwischen Basenpaaren in B-DNA (0.34 nm) verwendet wurde. Der Umfang wurde dann durch π dividiert, um den B-DNA-Durchmesser des Plasmids zu erhalten: D. Freifelder, R. DeWitt, *Gene* **1977**, *1*, 385.
- [9] C. K. Mathews, K. E. van Holde, *Biochemistry*, Benjamin/Cummings, New York, **1990**, S. 1003–1007.
- [10] J. K. Lindsay, C. R. Hauser *J. Org. Chem.* **1957**, *22*, 355.