

DNA als Gerüst zur Bildung von Aggregaten aus Gold-Nanokristallen**

Colin J. Loweth, W. Brett Caldwell, Xiaogang Peng,
A. Paul Alivisatos* und Peter G. Schultz*

Wenn man aus metallischen, magnetischen oder halbleitenden Nanokristallen Aggregate mit programmierbaren Abständen zwischen zwei oder mehreren verschiedenen Nanokristallen herstellen könnte, ließen sich die physikalischen Eigenschaften dieser neuartigen Strukturen systematisch untersuchen.^[1] In mehreren Berichten werden Methoden beschrieben, wie man mit Hilfe kleiner Moleküle^[2] oder nanometerdimensionierter Template^[3] sowie durch Kristallisation^[4] Nanokristalle anordnen kann. Kürzlich wurde auch über Methoden berichtet, bei denen Nanokristalle mit Hilfe von Biopolymeren zu Aggregaten angeordnet wurden.^[5] Demnach können z.B. Nanokristalle aus Au, die mit komplementären Einzelstrang-DNAs (ssDNAs) derivatisiert sind, nach DNA-Hybridisierung regelmäßige Anordnungen bilden.^[6] In einer vorläufigen Mitteilung konnten wir zeigen, wie mit ssDNA modifizierte Nanokristalle homodimere und homotrimere Aggregate bilden können.^[7] Im folgenden beschreiben wir nun die Synthese von heterodimeren und heterotrimeren „Nanokristallmolekülen“, in denen die Abstände von Au-Nanokristallen mit einem Durchmesser von 5 und 10 nm über Watson-Crick-Basenpaarungen gesteuert werden, sowie die erste Charakterisierung der optischen Eigenschaften dieser Aggregate.

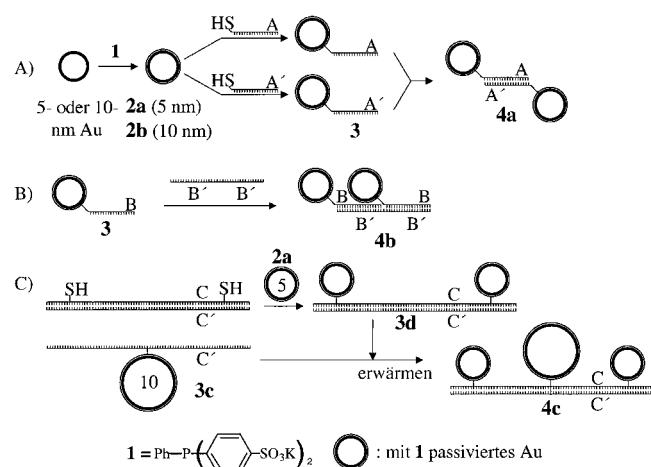
Da die DNA wohldefinierte Sekundär- und Tertiärstrukturen bildet und in ihrer Größe den Nanokristallen gleichkommt, ist sie ein ideales Templat zur Bildung von Nanokristallmolekülen. Hierzu muß man allerdings zuerst die Nanokristalle mit Liganden komplexieren, die sie in wäßrigen Pufferlösungen stabilisieren. Danach gilt es, die ssDNA ortsspezifisch mit solchen Gruppen zu modifizieren, die dann

kovalent an die komplexierten Nanokristalle binden können, so daß sich die dabei entstehenden Konjugate mit komplementärer ssDNA wirksam hybridisieren lassen. Darüber hinaus sind auch Reinigungsmethoden nötig, um die nanokristallinen Moleküle von ihren Vorstufen und unerwünschten höheren Aggregaten abzutrennen.

Nanokristalle aus Gold kann man durch Komplexierung mit Dikalium-bis(*p*-sulfonatophenyl)phenylphosphoran-Dihydrat **1** stabilisieren.^[8] Mit **1** komplexierte Goldnanokristalle mit einem Durchmesser von 5 oder 10 nm (→ **2a** bzw. **2b**) aggregieren in wäßrigen Pufferlösungen nicht und überstehen auch eine mehrfache Ausfällung mit NaCl. **2a** und **2b** reagieren auf Salzkonzentrationen entsprechend ihrer Größe unterschiedlich: Die 5 nm großen Nanokristalle bleiben in 0.3 M NaCl und 1 mM MgCl₂ unverändert, die 10 nm großen fallen in NaCl-Lösungen mit Konzentrationen über 0.15 M aus und aggregieren in 1 mM MgCl₂ irreversibel. Sowohl **2a** als auch **2b** sind im pH-Bereich von 3–9 in Lösung stabil, ebenso, wenn man sie in wäßrigen Pufferlösungen kurze Zeit erhitzt (95 °C). Da **2a** und **2b** in Agarosegel wandern und auch bei wiederholten Cyclen von Trennung und Isolierung stabil bleiben, wurde in der vorliegenden Arbeit hauptsächlich die Elektrophorese zur analytischen und präparativen Trennung benutzt.

Thiolgruppen, die an das 5'-Ende oder an die C5-Position von 2'-Deoxyuridinnucleotiden in der ssDNA angeheftet werden, dringen durch die Ligandhülle von **2a** und **2b** und reagieren direkt mit der Oberfläche der Au-Nanokristalle.^[9] In einer typischen Modifizierungsreaktion gibt man 0.9 Äquivalente ssDNA zu einer 1–10 µM Lösung der Nanokristalle **2a** oder **2b**.^[10] Sind die 5 und 10 nm großen Au-Nanokristalle mit weniger als einem Äquivalent kurzer ssDNA derivatisiert, wandern sie etwa gleich schnell durch 3%-Agarosegel wie **2a** und **2b**, sind die Nanokristalle jedoch mit längerer ssDNA (>60 Nucleotide) oder doppelsträngiger DNA (dsDNA; >40 Basenpaare) modifiziert, wandern sie merklich langsamer als **2a** und **2b**.^[11]

Drei Synthesestrategien wurden verwendet, um heterodimere und heterotrimere Nanokristallmoleküle herzustellen (Schema 1). Bei der ersten Methode entstehen aus zwei



Schema 1. Synthesestrategien A–C für die Aggregation von Nanokristallen (Einzelheiten siehe Text). A', B' und C' bezeichnen Oligonucleotidsequenzen, die komplementär zu den Sequenzen A, B bzw. C sind.

[*] Prof. A. P. Alivisatos, Dr. X. Peng

Department of Chemistry
University of California at Berkeley
and

Materials Science Division
Lawrence Berkeley National Laboratory
Berkeley, CA 94720 (USA)
Fax: (+1) 510-642-6911
E-mail: alivis@garnet.berkeley.edu

Prof. P. G. Schultz, C. J. Loweth, Dr. W. B. Caldwell

Howard Hughes Medical Institute
Department of Chemistry
University of California at Berkeley
Berkeley, CA 94720 (USA)
Fax: (+1) 510-643-6890
E-mail: pgshultz@lbl.gov

[**] Diese Arbeit wurde vom US Department of Energy (No. DE-AC03-76SF00098) und vom Office of Naval Research (Order No. N0001498F0402) gefördert. P.G.S. ist Investigator am Howard Hughes Medical Institute (HHMI). C.J.L. dankt dem HHMI für ein Doktorandenstipendium. W.B.C. dankt für ein Alexander-Hollaender-Postdoktorandenstipendium, das vom DOE finanziert und vom Oak Ridge Institute for Science and Education erteilt wurde.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.wiley-vch.de/home/angewandte/> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.

komplementären 5'-ssDNA/Nanokristall-Konjugaten doppelsträngige Nanokristallmoleküle (Schema 1A). Auf diesem Weg gebildete Dimere und Trimere haben keinen bzw. einen Einzelstrangbruch („nick“). Bei der zweiten Methode werden die 5'-ssDNA/Nanokristall-Konjugate auf einem nicht modifizierten Templatstrang angeordnet (Schema 1B), wobei Dimere und Trimere mit einer bzw. zwei Einzelstrangbrüchen entstehen. Nach der dritten Methode können Trimere ohne Einzelstrangbrüche synthetisiert werden. Hierzu werden zwei komplementäre Oligonukleotide mit einer oder zwei Thiolgruppen an der C5-Position von Deoxyuridin-nucleotiden hergestellt. Mit diesen Oligonukleotiden lassen sich drei Nanokristalle colinear an einer Seite der Doppelhelix anordnen, wobei sich mindestens zehn Basenpaare der dsDNA auf jeder Seite der modifizierten Nucleotide befinden (Schema 1C). In einer typischen Reaktion zur Aggregatbildung nach einer der ersten beiden Methoden wurde das Konjugat **3** direkt mit der komplementären ssDNA behandelt, an der entweder bereits andere Nanokristalle hafteten (Schema 1A) oder die als Nanokristall-freies Templat zur Lösung gegeben wurde (Schema 1B). Diese Mischungen wurden dann ein bis vier Tage bei Raumtemperatur inkubiert. Für eine nach Schema 1C synthetisierte Anordnung wurde die zwei Thiolgruppen tragende ssDNA vor der Zugabe von Au-Nanokristallen mit komplementärer, nicht thiolierter ssDNA hybridisiert. So läßt sich die Bildung eines 1:1-Chelatkomplexes zwischen der flexiblen, thiolierten ssDNA und einem einzelnen Au-Nanokristall verhindern. Um das Trimer **4c** zu erhalten, wurde das Produkt **3d** elektrophoretisch gereinigt und dann mit **3c** inkubiert. Alle gewünschten Produkte erhielt man nach der Reinigung der Reaktionsmischungen durch präparative Elektrophorese auf Agarosegel (3–4%). Die Au-Nanokristalle sind als rote Banden auf dem Agarosegel mit bloßem Auge zu erkennen. Zur Isolierung der Produkte ließ man die gewünschten Banden elektrophoretisch in Glasfaser-Mikrofilter mit einer Dialysemembran wandern.

Die dimeren und trimeren Nanokristallmoleküle, die man nach diesen drei Organisationsstrategien erhielt, wurden durch Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) charakterisiert. Eine TEM-Aufnahme eines zweifach gereinigten 5-nm-Homodimers (Schema 1B) zeigt, daß mehr als 90 % der Au-Nanokristalle in dieser Aufnahme als Dimere vorliegen (Abbildung 1). Um zu überprüfen, inwieweit sich der Ab-

stand zwischen den Nanokristallen in dimeren Anordnungen programmieren läßt, wurden TEM-Aufnahmen aus drei Gruppen von 10-nm-Homodimeren (Schema 1A) mit dsDNA-Sequenzen zwischen 18 und 38 Basenpaaren statistisch ausgewertet. Aus jeder dieser Gruppe von Dimeren wurden 100 Proben gemessen; der mittlere Abstand zwischen zwei Nanokristallen von Rand zu Rand betrug 1.2 nm (mit Meßwerten zwischen 0 und 6 nm), 1.5 nm (Meßwerte zwischen 0 und 6 nm) und 5.8 nm (Meßwerte zwischen 0 und 15 nm) für die Sequenzen mit 18, 28 bzw. 38 Basenpaaren. Die Länge der dsDNAs zwischen den Nanokristallen für die Sequenzen mit 18, 28 und 38 Basenpaaren berechnet sich zu 6.1, 9.5 bzw. 12.9 nm. Die hohe Streubreite der experimentellen Werte für die Abstände zwischen den Nanokristallen liegt in erster Linie in der Flexibilität der 1 nm langen 5'-Linkerarme begründet. Doch auch eine Biegung der dsDNA, die Affinität eines Au-Nanokristalls zu einem benachbarten^[12] und die Auftragung der Nanokristallmoleküle auf TEM-Netze kann die Abstände beeinflussen.

Repräsentative Aufnahmen von Homodimeren, Heterodimeren, Homotrimeren und Heterotrimeren, wie sie nach Schema 1A und 1B synthetisiert wurden und einen Einzelstrangbruch in ihrer Struktur aufweisen, sind in den Abbildungen 2A–F gezeigt. Bei den TEM-Aufnahmen der Trimere sieht man colineare bis dreieckige Anordnungen der Partikel (Abbildungen 2C–F), was wiederum auf die Flexibilität hinweist. Im Vergleich zu den Abbildungen 2C–F zeigt die Gruppe von Aufnahmen eines nach Schema 1C synthetisierten Heterotrimers (Abbildung 2G) eine viel einheitlichere Anordnung der Partikel. Dies stützt die Hypothese, daß Einzelstrangbrüche wesentlich zur Flexibilität solcher DNA-Nanokristallanordnungen beitragen, die nach Schema 1A oder 1B synthetisiert wurden.

Die optischen Eigenschaften der Au-Nanokristalle und ihrer Aggregate sind abhängig von der Größe, der Gestalt und/oder dem Abstand zwischen den Nanokristallen. Bei größeren, mit Hilfe von DNA hergestellten Aggregaten aus Au-Nanokristallen treten im optischen Spektrum deutliche Änderungen auf, die von den kollektiven elektronischen Wechselwirkungen der Nanokristalle herrühren.^[6] Für den Fall, daß der Abstand zwischen zwei Nanokristallen in einem Au-Nanokristallpaar kleiner wird als die Summe ihrer Radien, sagt die allgemeine Mie-Theorie voraus, daß die Plasmonbande leicht rotverschoben, weniger intensiv und verbreitert sein sollte. Ist der Abstand zwischen den Au-Nanokristallen hingegen größer als die Summe ihrer Radien, dann erwartet man lediglich eine leichte Verbreiterung der Signale infolge ihrer elektronischen Wechselwirkung ohne bemerkenswerte Rotverschiebung.^[13] An den normierten UV/Vis-Spektren des monomeren, mit DNA modifizierten 10-nm-Goldpartikels **3** und des 10-nm-Homodimers **4a**^[14] läßt sich für das Dimer eine Abnahme der Absorption bei 520 nm und eine gewisse Verbreiterung der Bande zu längeren Wellenlängen feststellen (Abbildung 3). Zieht man die beiden Spektren voneinander ab, zeigt sich für das Dimer die größte Zunahme der Absorption bei 582 nm (Einschub in Abbildung 3). Da im optischen Spektrum des Homodimers **4a** die Auswirkungen einer Aggregatbildung gering sind, sind die Nanokristallpaare in Lösung möglicherweise mehr als 5 nm voneinander entfernt.

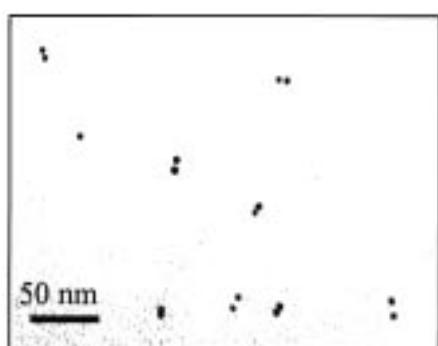


Abbildung 1. Eine typische TEM-Aufnahme eines 5-nm-Homodimers, das nach der Strategie in Schema 1B hergestellt wurde; mehr als 90 % des Au findet sich bei dieser Aufnahme in dimeren Strukturen.

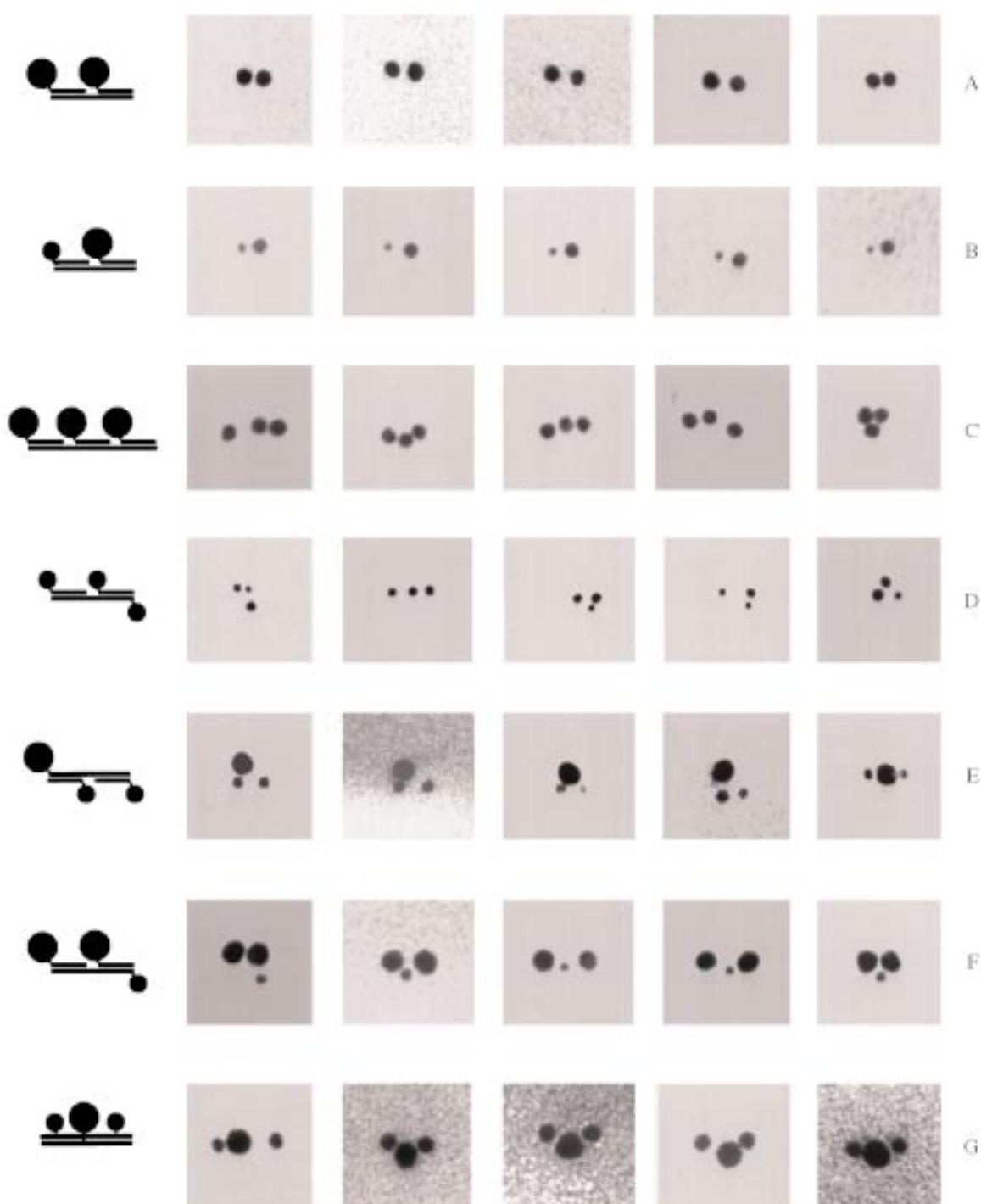


Abbildung 2. Schematische Darstellungen und repräsentative TEM-Aufnahmen von spezifischen Nanokristallmolekülen. Zur den Synthesestrategien siehe Schema 1. A) 10-nm-Homodimer, Synthesestrategie B; B) 10-nm/5-nm-Heterodimer, Strategie B; C) 10-nm-Homotrimer, Strategie B; D) 5-nm-Homotrimer, Strategie A; E) 10-nm/5-nm/5-nm-Heterotrimer, Strategie A; F) 5-nm/10-nm/10-nm-Heterotrimer, Strategie A; G) 5-nm/10-nm/5-nm-Heterotrimer, Strategie C.

In der vorliegenden Arbeit wurden mit Hilfe von DNA spezielle, unregelmäßige Anordnungen von Nanokristallen gezielt synthetisiert. Die Struktur dieser Anordnungen ist nicht mechanisch starr, selbst dann nicht, wenn die verwendete DNA keine Einzelstrangbrüche aufweist. Wir schließen daraus, daß man mit dieser Kombination von Linkermolekülen und Duplex-DNA nicht genügend mechanische Starrheit gewinnt, um eine exakte Anordnung der Nanokristalle zueinander zu erzielen. In manchen Fällen mag die

Möglichkeit zur Festlegung der Sequenz von Nanokristallen ohne strukturelle Starrheit wünschenswert sein. So könnten katalytische und photoaktive Systeme ein einfaches Aneinanderreihen mehrerer Nanokristalle erfordern. Weit mehr Anwendungen benötigen hingegen gezielt einstellbare Abstände zwischen den Nanokristallen, was sehr wahrscheinlich mit Oligonucleotidtemplaten erreicht werden kann, die man aus antiparallelen Double-crossover-Bausteinen aufbauen kann.^[15]

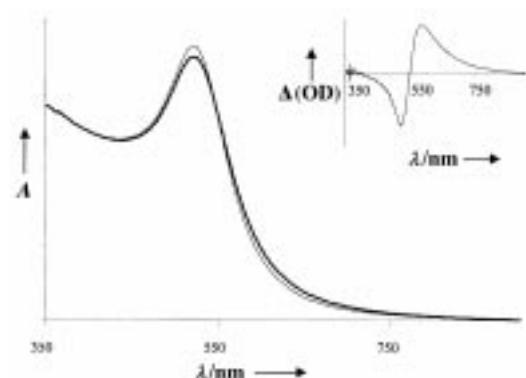


Abbildung 3. UV/Vis-Spektren des 10-nm-Au-ssDNA-Konjugats **3** (dünne Linie) und des 10-nm-Homodimers **4a** (dicke Linie), die mit Hilfe einer dsDNA mit 18 Basenpaaren aggregiert wurden. Einschub: Subtraktion des Monomer-Spektrums vom Dimer-Spektrum nach Normierung beider Spektren bei 450 und 900 nm.

Experimentelles

Allgemeine Vorschrift: Gold-Nanokristalle mit einem Durchmesser von 5 und 10 nm wurden von Ted Pella (Redding, CA), das Salz **1** wurde von Strem Chemicals (Newburyport, MA), die Agarose wurde von Gibco (Gaithersburg, MD) und alle biologischen Puffer wurden von Sigma Chemical (St. Louis, MO) bezogen. Das Wasser wurde mit einem Millipore-System gereinigt. Es wurden Mikrokonzentratoren von Amicon (Beverly, MA) eingesetzt. Zur Entsalzung durch Fast Protein Liquid Chromatography (FPLC) wurde eine Superdex-75-HR-10/30-Säule verwendet (3 mm 2,2'-Bis(hydroxymethyl)-2,2'-nitrilotris(ethanol) (Bis-Tris), 1 mM Ethylenediamintetraessigsäure (EDTA), pH 6.5).

Komplexierung von Gold: In einer typischen Reaktion wurden 5 oder 10 nm große Au-Nanokristalle in einer wäßrigen Lösung (100 mL) bei Raumtemperatur mit einem großen Überschuß an **1** (10–20 mg) mehr als 10 h gerührt. Die Nanokristalle wurden ausgefällt, indem man so lange festes NaCl zur Reaktionslösung gab, bis deren Farbe von Burgunderrot nach Blau umschlug. Dann wurde die Probe zentrifugiert (500 × g). Der Überstand wurde verworfen, und die Nanokristalle wurden in einer wäßrigen Lösung von **1** (25 mg in 100 mL Wasser) gelöst. Dann gab man Methanol zu, bis die Farbe von Rot nach Blau umschlug. Zentrifugieren und Dekantieren wurden wiederholt und die Nanokristalle anschließend in der wäßrigen Lösung von **1** aufgelöst.

Oligonucleotidsynthese: Die DNA wurde in einem 391A-PCRmate von Applied Biosystems synthetisiert. Alle für die automatisierte Synthese verwendeten Reagenzien wurden von Glen Research (Sterling, VA) bezogen, darunter das 5'-Thiol-modifizierte C6 zur Synthese von 5'-thiolerter DNA (Schema 1 A, B) und das aminomodifizierte C6dT zur Synthese des trimeren Systems mit internen Thiolgruppen (Schema 1 C). Die DNA wurde mit der intakten 5'-Tritylschutzgruppe (Trityl = CPh₃) synthetisiert und mit Umkehrphasen-HPLC an einer C18-Säule (218TP54, Vydac Technologies) mit einem Acetonitrilgradienten (1 % pro Minute) in 50 mM Triethylammoniumacetat (TEAA, pH 7.0) über einen Zeitraum von 30 min gereinigt. Nach der Reinigung wurde aus der nicht thiolierten DNA die Tritylschutzgruppe mit 80proz. wäßriger AcOH (v/v; 30 min) abgespalten. Von der 5'-Thiol-modifizierten DNA wurde die Tritylschutzgruppe wie folgt abgespalten: 20 nmol des Oligonucleotids wurden in 100 mM TEAA (pH 6.5) mit einer 1 M AgNO₃-Lösung (4 µL) gemischt; nach 30 min bei Raumtemperatur wurde 1 M 1,4-Dithiothreitol (DTT, 8 µL) zugegeben, woraufhin sich ein gelber Niederschlag bildete; nach dem Zentrifugieren wurde eine NAP-5-Säule mit dem Überstand beladen und die DNA mit 3 mM Bis-Tris und 1 mM EDTA (pH 6.5) eluiert. Zum Abschluß wurde die Lösung der Thiol-modifizierten Oligonucleotide vor der weiteren Verwendung durch FPLC entsalzt. Die Thiolkonzentration in den entsalzten Lösungen wurde durch Titration mit 5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoësäure) bestimmt.

DNA-Sequenzen: Abbildung 1: 5'-XCAGTCAGGCAGTCAGTCA-3', 5'-TGACTGACTGCCTGACTGTTGACTGCCTGACTG-3';^[7] Ab-

bildung 2 A, B: 5'-XATGGCAACTATAACCGCGCTAGAGTCGTTT-3' (Oligo 1), 5'-XCTAACCGCACAGCCTATCGACCATGCT-3', 5'-AG-CATGGTCGATAGGAAACGACTCTAGCGC-3';^[16] Abbildung 2C: (Oligo 1), 5'-AAACGACTCTAGCGCAAACGACTCTAGCGCAAAC-GACTCTAGCGC-3'; Abbildung 2D–F: 5'-XCGCTAGAGTCGTTT-3', 5'-XAAACGACTCTAGCGCTAAACGACTCTAGCGC, mit X = 5'-Thiol; Abbildung 2G: 5'-GGCATGGTCYACGTCACGCTAGTCAGTC-ATCTTGCACTAAGTCCTTGAGAACGTCACGCTAGTCAGTC-YACTCTAGCGC-3', 5'-GCGCTAGAGTATCACTGACTAGCGTGAC-GTTCTCAAGGACYTAGTGAAGATGACTGACTAGCGTGACG-TAGACCATGCC-3', wobei Y für aminomodifiziertes dT steht. Komplementäre Dimere: 5'-XTGACTGACTGCCTGACTG-3', 5'-XCAGTCAGTCAGTCA-3'; 5'-XAGCATGGTCGATAGGCTGTGCGGATTAG-3', 5'-XCTAACCGCACAGCCTATCGGACCATGCT-3'; 5'-XAC-GTCACGCTAGTCAGTCATCTGCACTATGTCCTGA-3', 5'-XTCA-AGGACATAGTGAAGATGACTGACTAGCGTGACGT-3' mit X = 5'-Thiol.

Bildung von Aggregaten von Nanokristallmolekülen (Schema 1 A und 1 B): Thiolierte ssDNA (0.9 Äquiv.) wurde zu 1–10 µM **2a** bzw. **2b** in 100 mM wäßrige NaCl-Lösungen gegeben und bei Raumtemperatur über 1 h inkubiert, dabei entstand das Oligonucleotid-Nanokristall-Konjugat **3**. Dieses wurde im einen Fall mit äquimolaren Mengen eines komplementären Oligonucleotidstranges gemischt, an das Nanokristalle gebunden waren, im anderen Fall waren keine Nanokristalle an den Oligonucleotidstrang gebunden. Diese Mischungen wurden dann bei Raumtemperatur 1–4 d inkubiert.

Bildung von Aggregaten von Nanokristallmolekülen (Schema 1 C): Zwei komplementäre 80mer-Stränge wurden nach Schema 1 C synthetisiert. Das Oligonucleotid C hatte zwei aminomodifizierte dT-Reste, C' hingegen nur einen. Außerdem wurde ein in seiner Sequenz zu C' identisches Oligonucleotid synthetisiert, das allerdings keine modifizierten Basen enthielt. Die gereinigten, mit Aminogruppen modifizierten Oligonucleotide (500 nmol) wurden in einer wäßrigen 100 mM NaH₂PO₄-Lösung (250 µL, pH 7.5) suspendiert, hierzu wurde eine 20 mM Lösung (50 µL) von 3-(2-Pyridylthio)propionsäure-N-hydroxysuccinimidester (Aldrich) in DMSO gegeben und die Mischung bei Raumtemperatur 4 h inkubiert.^[17] Die Reaktionsmischung wurde dann durch FPLC entsalzt, durch Umkehrphasen-HPLC mit einem Acetonitrilgradienten (0.5 % pro Minute) in 50 mM TEAA (pH 7) über einen Zeitraum von 30 min gereinigt, anschließend lyophilisiert und dann in einer 100 mM NaH₂PO₄-Lösung (pH 7.5) suspendiert. Die modifizierten Oligonucleotide wurden durch Zugabe von 1 M DTT (20 µL) innerhalb von 30 min entschützt und danach durch FPLC entsalzt. Das entschützte Oligonucleotid C' wurde direkt mit 1–10 µM 10-nm-Au-Nanokristallen in 0.1 M wäßriger NaCl-Lösung versetzt, das Oligonucleotid C hingegen wurde zuerst 30 min mit nichtmodifiziertem C' hybridisiert und dann mit 5-nm Au-Partikeln (10 Äquiv.) in 0.1 M wäßriger NaCl-Lösung versetzt. Die Konjugate von Strang C' mit jeweils einem einzigen 10 nm großen Au-Nanokristall und des Doppelstrangs C mit je zwei 5 nm großen Au-Partikeln wurden auf 3%-Agarosegel gereinigt und isoliert. Mit Microcon 100 wurden die gereinigten Konjugate in wäßriges 0.1 M TEAA (pH 6.5, 0.05 M NaCl) überführt. Äquimolare Mengen beider Konjugate wurden gemischt, 5 min auf 95 °C erhitzt und dann langsam auf Raumtemperatur abgekühlt. Die trimeren Produkte, die man in einer Ausbeute von ungefähr 30 % bezogen auf **3c** erhielt, wurden auf 4%-Agarosegel gereinigt.

Reinigung der Nanokristallmoleküle: Die Analyse und Isolierung der gewünschten Strukturen erfolgten mit Agarosegel (3–4%). Puffer aus Tris-Borat-EDTA (1X-TBE) diente als Laufmittel und Glycerin als Puffer (6X) zum Auftragen auf das Gel.^[18] Die Proben wurden wie folgt isoliert: Nach der Elektrophorese wurde das Gel vor der gewünschten Bande aufgeschnitten und ein Glasfaser-Mikrofilter (Whatman GF/C) mit einer Dialysemembran (Spectra/Por, MWCO: 10000) auf der Rückseite eingeführt. Danach ließ man die Bande elektrophoretisch in das Papier hineinwandern. Filter und Membran wurden dann mit dem Filter nach unten in ein 0.5-mL-Eppendorf-Röhrchen gebracht, das am Boden mit 26-Gauge-Nadeln durchlöchert war. Dieses Röhrchen wird dann in ein 1.5-mL-Eppendorf-Röhrchen gesteckt und 1 min zentrifugiert (14000 × g). Mit Spritzenfiltern (Millipore, 0.45 µm) wurden die restlichen Glasfasern aus der so erhaltenen Lösung entfernt. Typische Ausbeuten betrugen 30–40 % für die Dimere und 20–30 % für die Trimere bezogen auf das Nanokristall-Ausgangsmaterial.

TEM-Messungen: Die Proben wurden mit einem Jeol-100CX-Instrument bei 80 kV vermessen. Dazu wurden mit einer Formvar-Schicht überzogene Kupfernetze (400 mesh) einem Argonplasma ausgesetzt (30 s bei 50 mTorr) und anschließend mit den Lösungen der Nanokristallmoleküle (0.1–0.01 µm) 1 min in Kontakt gebracht. Überschüssige Lösung wurde dann mit einem Docht aufgesaugt, und die Netze wurden an der Luft getrocknet. Die Durchmesser der 5 nm Nanokristalle in Abbildung 2D–G sind wegen der Kontrastunterschiede, die aus der uneinheitlichen Dicke der zur Vermessung der Proben benötigten Formvar-Schicht resultieren, nicht einheitlich.

UV/Vis-Messungen: UV/Vis-Spektren wurden mit einem HP8453 UV/Vis-Spektrometer in maskierten 40- oder 100-µL-Quarzküvetten aufgenommen. Die Monomer- und Dimerbanden wurden aus der gleichen Spur im Gel in 1X-TBE-Puffer aufgenommen. Typischerweise wurden die Dimere noch ein zweites Mal gereinigt. Die Spektren der Proben mit dem Monomer und dem Dimer wurden aufgenommen, nachdem sie mit 1X verdünnt worden waren, so daß beide Proben bei 520 nm eine ähnliche, aber nicht notwendigerweise gleiche Absorption aufwiesen. Um die Spektren des Dimers mit dem des Monomers vergleichen und voneinander abziehen zu können, wurden sie bei 450 und 900 nm normiert.

Eingegangen am 21. Dezember 1998 [Z12812]

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1808–1812

Stichwörter: DNA-Strukturen • Gold • Selbstorganisation

- [1] a) A. P. Alivisatos, *Science* **1996**, *271*, 933–937; b) A. P. Alivisatos, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 13226–13239.
- [2] a) X. Peng, T. E. Wilson, A. P. Alivisatos, P. G. Schultz, *Angew. Chem. Int. Engl.* **1997**, *109*, 113–115; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 145–147; b) L. Cusack, R. Rizza, A. Gorelov, D. Fitzmaurice, *Angew. Chem. Int. Engl.* **1997**, *109*, 887–890; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 848–851; c) M. Brust, D. Bethell, D. J. Schiffrin, C. J. Kiely, *Adv. Mater.* **1995**, *7*, 795–797.
- [3] a) S. M. Marinakos, L. C. Brousseau, A. Jones, D. L. Feldheim, *Chem. Mater.* **1998**, *10*, 1214–1219; b) J. R. Heath, R. S. Williams, J. J. Shiang, S. J. Wind, J. Chu, C. D'Emic, W. Chen, C. L. Stanis, J. J. Buchignano, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 3144–3149.
- [4] a) C. B. Murray, C. R. Kagan, M. G. Bawendi, *Science* **1995**, *270*, 1335–1338; b) S. A. Harfenist, Z. L. Wang, R. L. Whetten, I. Vezmar, M. M. Alvarez, *Adv. Mater.* **1997**, *9*, 817–822.
- [5] a) C. M. Niemeyer, *Angew. Chem. Int. Engl.* **1997**, *109*, 603–606; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 585–587; b) C. M. Niemeyer, W. Burger, J. Peplies, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2391–2395; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1998**, *37*, 2265–2268; c) W. Shenton, D. Pum, U. B. Sleytr, S. Mann, *Nature* **1997**, *389*, 585–587; d) E. Braun, Y. Eichen, U. Sivan, G. Ben-Yoseph, *Nature* **1998**, *391*, 775–778.
- [6] C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, R. C. Mucic, J. J. Storhoff, *Nature* **1996**, *382*, 607–609.
- [7] 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.
- [8] G. Schmid, A. Lehnert, *Angew. Chem.* **1989**, *101*, 773–4; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, *28*, 780–781.
- [9] **2a** und **2b** weisen, wenn man sie mit mit Thiol-modifizierter ssDNA in großem Überschuß mischt, die Eigenschaften der in Lit. [6] beschriebenen, mit DNA modifizierten Au-Nanokristalle auf.
- [10] Um bei der DNA-Modifikation zu hohen Ausbeuten zu gelangen, mußte der Puffer mindestens 0.1M NaCl enthalten, vermutlich weil man damit die elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen dem Phosphatgerüst der DNA und der Ligandenhülle des Nanokristalls möglichst schwach hält. Modifizierte man Gold-Nanokristalle mit weniger als 0.9 Äquivalenten ssDNA, war die Ausbeute niedrig. Gold-Nanokristalle, die man hingegen mit mehr als 0.9 Äquivalenten modifizierte, bildeten durch Quervernetzungen Aggregate, die größer waren als die gewünschten Moleküle.
- [11] Die Gelelektrophorese erwies sich zur Analyse der Zahl der ssDNAs pro Nanokristall im Vergleich zur UV-Spektroskopie wegen des großen Extinktionskoeffizienten des Phosphan-komplexierten Nanokristalls bei 260 nm als zuverlässiger Methode.

- [12] J. S. Bradley in *Clusters and Colloids* (Hrsg.: G. Schmid), VCH, New York, **1994**, S. 459–544.
- [13] U. Kreibig, *Optical Properties of Metal Clusters*, Springer, New York, **1995**, S. 155–160.
- [14] Die Spektren des Monomers und des Dimers wurden bei 450 und 900 nm normiert, da man davon ausgeht, daß sie sich bei diesen Wellenlängen nicht unterscheiden.^[13]
- [15] E. Winfree, F. Liu, L. A. Wenzler, N. C. Seeman, *Nature* **1998**, *394*, 539–544.
- [16] R. Elghanian, J. J. Storhoff, R. C. Mucic, R. L. Letsinger, C. A. Mirkin, *Science* **1997**, *277*, 1078–1081.
- [17] G. T. Hermanson, *Bioconjugate Techniques*, Academic Press, San Diego, **1996**, S. 652–654.
- [18] T. Maniatis, E. F. Frisch, J. Sambrook, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Lab, Cold Spring Harbor, NY, **1989**, Kap. 6.

Koordinationschemie von Lanthanoiden bei „hohen“ pH-Werten: Synthese und Struktur eines fünfzehnkernigen Tyrosin/Europium(III)-Komplexes**

Ruiyao Wang, Zhiping Zheng,* Tianzhu Jin und Richard J. Staples

Professor M. Frederick Hawthorne gewidmet

Design und Synthese von vielkernigen Metallkomplexen gehören fraglos zu den derzeit interessantesten Forschungsgebieten der Chemie.^[1] Derartige Komplexe sind wegen der im Nanometerbereich liegenden Molekülgrößen und der vielfältigen Redox- und magnetischen Eigenschaften der enthaltenen Metallzentren für die Herstellung von neuartigen Materialien mit vielversprechenden elektronischen, magnetischen, optischen und katalytischen Eigenschaften von Bedeutung. In der üblicherweise zur Synthese vielkerniger Metallkomplexe genutzten Strategie verwendet man geeignete Chelatliganden, um die Hydrolyse der verwendeten metallhaltigen Reaktanten zu kontrollieren;^[2] die als Auxiliare dienenden Liganden verhindern eine übermäßige Hydrolyse – die zur Bildung nicht verwendbarer Metallhydroxide und/oder -oxide führen würde –, so daß vielkernige Metallkomplexe endlicher Größen kristallisiert und strukturell charakterisiert werden können. Viele verschiedene Ligan-

[*] Prof. Dr. Z. Zheng, Dr. R. Wang

Department of Chemistry, The University of Arizona
Tucson, AZ 85721 (USA)
Fax: (+1) 5206218407
E-mail: zhiping@u.arizona.edu

Prof. T. Jin
College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University
Beijing 100871 (China)

Dr. R. J. Staples
Department of Chemistry and Chemical Biology, Harvard University
12 Oxford Street, Cambridge, MA 02138 (USA)

[**] Diese Arbeit wurde vom Staat Arizona, von der University of Arizona, von den National Institutes of Health (1S10RR11937-01) sowie von der chinesischen National Natural Science Foundation unterstützt. Wir danken den Professoren J. H. Enemark und F. A. Walker für hilfreiche Hinweise.