

## Nanotechnologie

### Oligofunktionale Konjugate aus DNA und Gold-Nanopartikeln\*\*

Christof M. Niemeyer,\* Bülent Ceyhan und  
Pompi Hazarika

Professor Manfred T. Reetz zum 60. Geburtstag gewidmet

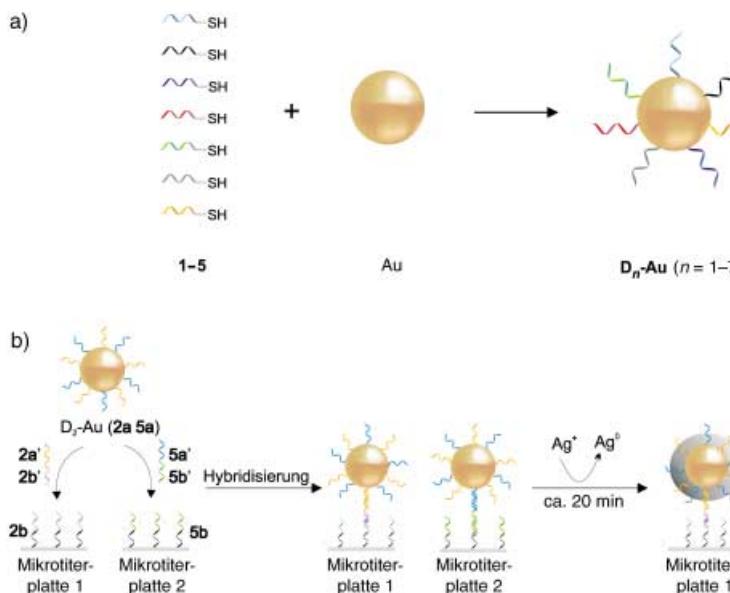
Hybrid-Konjugate aus anorganischen Nanopartikeln und Biomolekülen, wie Proteinen oder Nucleinsäuren, werden gegenwärtig intensiv untersucht, um als Bausteine für den selbstorganisierten Aufbau funktioneller Nanoeinheiten eingesetzt zu werden.<sup>[1]</sup> DNA-Moleküle spielen in diesem Ansatz wegen ihres enormen Informationsgehaltes und der damit verbundenen hochspezifischen Erkennung von komplementären Nucleinsäuren eine besondere Rolle. So wurden mit DNA funktionalisierte Gold-Nanopartikel bereits genutzt, um nanostrukturierte Materialien aufzubauen<sup>[2]</sup> oder zur Analytik von Nucleinsäuren<sup>[3]</sup> und Proteinen.<sup>[4]</sup> Diese Studien wurden mit Partikelkonjugaten durchgeführt, die lediglich eine Art von DNA-Oligomeren enthalten<sup>[5]</sup> und deshalb hinsichtlich ihrer Fähigkeit, komplementäre Nucleinsäuresequenzen zu erkennen, als monofunktional bezeichnet werden können. Wir berichten hier über die Herstellung und Charakterisierung von oligofunktionalen Konjugaten aus Gold-Nanopartikeln und DNA, die mehr als eine DNA-Sequenz enthalten (**D<sub>n</sub>-Au** in Schema 1). Die Indexzahl in **D<sub>n</sub>-Au** gibt die Zahl verschiedener DNA-Oligomer-Sequenzen an, die mit dem Nanoteilchen verknüpft sind, und reicht von  $n=1$  (monofunktional) bis  $n=7$  (heptafunktional). Die oligofunktionalen Partikel lassen sich als „vielseitige Teilchen“ betrachten, da sie mit mehr als einer komplementären

[\*] Prof. Dr. C. M. Niemeyer, Dipl.-Chem. B. Ceyhan, P. Hazarika  
Universität Dortmund, Fachbereich Chemie  
Biologisch-Chemische Mikrostrukturtechnik  
Otto-Hahn-Straße 6, 44227 Dortmund (Deutschland)  
Fax: (+49) 231-755-7082  
E-mail: cmn@chemie.uni-dortmund.de

[\*\*] Diese Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) im Schwerpunktprogramm 1072 unterstützt. Wir danken Martina Reibner für ihre Hilfe bei den AAS-Messungen.



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



**Schema 1.** Schematische Darstellung a) der Synthese oligofunktionaler Konjugate  $D_n$ -Au am Beispiel des heptafunctionalen  $D_7$ -Au aus den Sequenzen 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4a und 5a, b) der DNA-vermittelten Immobilisierung difunktionaler DNA-Nanopartikel  $D_2$ -Au, bestehend aus den Sequenzen 2a und 5a, sowie des anschließenden Silberentwicklungsschritts.

Nucleinsäure hybridisieren können. Die Hybridisierungseigenschaften der  $D_n$ -Au-Nanoteilchen und der monofunktionalen Konjugate sind nahezu identisch. Darüber hinaus sind die verschiedenen Oligonucleotide wegen der Spezifität der Watson-Crick-Basenpaarung individuell und selektiv addressierbar, sodass sie ein orthogonales Kupplungssystem auf der Oberfläche der Teilchen darstellen. So lassen sich beispielsweise einzelne Sequenzen gezielt für die spezifische Anknüpfung an DNA-modifizierte Oberflächen oder die Kupplung mit DNA-markierten molekularen und kolloidalen Bausteinen nutzen.

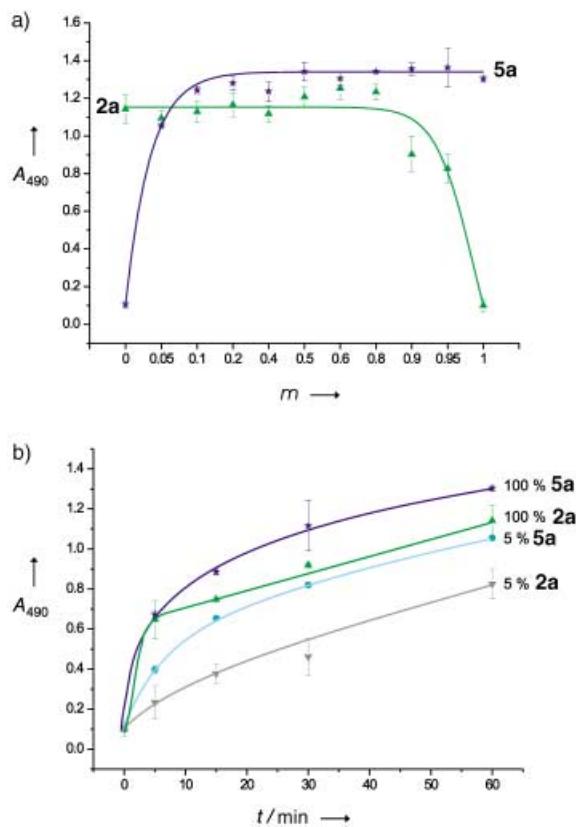
Die oligofunktionalen DNA-Au-Konjugate  $D_n$ -Au wurden nach der Methode von Mirkin et al.<sup>[6]</sup> aus Citratstabilisierten Gold-Nanoteilchen und den am 3'- oder 5'-Ende mit Thiolgruppen versehenen DNA-Oligonucleotiden 1-5 (Tabelle 1) hergestellt. Um die Durchführbarkeit unseres

Konzeptes zu überprüfen, synthetisierten wir zunächst difunktionalen  $D_2$ -Au-Konjugate, indem eine äquimolare Mischung zweier thiolierter Oligonukleotide, beispielsweise 2a und 5a, eingesetzt wurde. Die absolute Zahl der DNA-Oligomere in den hierbei entstandenen  $D_2$ -Au-Konjugaten wurde experimentell mit der von Demers et al.<sup>[7]</sup> beschriebenen Methode bestimmt. Die Ergebnisse zeigten, dass 2a und 5a jeweils etwa die Hälfte der insgesamt 260 Oligonukleotide ausmachten (Abbildung S1a in den Hintergrundinformationen). Die Hybridisierungseigenschaften dieser  $D_2$ -Au(2a 5a)-Konjugate wurde durch eine Festphasen-Hybridisierung quantifiziert (Schema 1b). Hierzu wurden biotinylierte Fänger-Oligomere (2b und 5b) in Streptavidin-beschichteten Mikrotiterplatten immobilisiert und mit einem komplementären Linker-Oligonukleotid (2a' 2b' bzw. 5a' 5b') abgesättigt. Dadurch wurde ein einzelsträngiger 5'-Überhang erzeugt, der komplementär zu den Au-Partikel gebundenen Oligomeren war. Nach der Hybridisierung von  $D_2$ -Au(2a 5a) wurden die immobilisierten Partikel einem Silberentwicklungsschritt unterworfen. Der dabei entstehende Silberspiegel war durch Absorptionsmessungen bei 490 nm quantifizierbar.<sup>[4,8]</sup> Die so erhaltenen Signalintensitäten von  $D_2$ -Au(2a 5a) entsprachen denen der monofunktionalen Konjugate, die nur 2a oder 5a enthielten (Abbildung S1b in den Hintergrundinformationen). Weitere Untersuchungen mit anderen difunktionalen Konjugaten, beispielsweise  $D_2$ -Au(2a 1a),  $D_2$ -Au(2a 3a) oder  $D_2$ -Au(2a 4a), führten zu ähnlichen Ergebnissen. Dies zeigt, dass durch die zweite Sequenz auf der Partikeloberfläche weder die Oberflächenbelegung noch die Hybridisierungseigenschaften beeinflusst werden (Abbildung S1 in den Hintergrundinformationen).

Um den Einfluss der Oberflächenbelegung auf die Hybridisierungseigenschaften der difunktionalen Konjugate näher zu untersuchen, synthetisierten wir verschiedene  $D_2$ -Au(2a 5a)-Konjugate, indem zur Beschichtung der Goldteilchen Mischungen der Oligomere verwendet wurden, in denen das Verhältnis 2a:5a zwischen 100:0 und 0:100 lag. Die Bestimmung der absoluten Zahl der zwei DNA-Oligomere in den  $D_2$ -Au(2a 5a)-Konjugaten ergab, dass ihr Anteil an der Oberflächenbelegung dem in der Beschichtungslösung entsprach (Abbildung S2 in den Hintergrundinformationen). Die Hybridisierungseigenschaften dieser  $D_2$ -Au(2a 5a)-Konjugate wurden durch Festphasen-Hybridisierung untersucht. Abbildung 1a ist zu entnehmen, dass die Hybridisierungseffizienz nicht, wie man aufgrund der graduellen Erhöhung der Belegungsdichte erwarten könnte, langsam ansteigt, sondern dass die Signalintensität bereits bei relativ geringen Oberflächenbelegungen (weniger als 20%) maximal ist. Die Belegungsdichte beträgt etwa  $(27 \pm 4) \text{ pmol cm}^{-2}$  und ent-

**Tabelle 1:** In dieser Arbeit verwendete Oligonukleotid-Sequenzen.

Verbindung	Sequenz
1a	5'-TCT CAA CTG GTA-SH-3'
1b	5'-HS-CGC ATT CAG GAT-3'
2a	5'-AAG ACC ATC CTG-SH-3'
2b	5'-HS-GGT GAA GAG ATC-3'
3a	5'-GAA GAC TGG GAA T-SH-3'
4a	5'-GCA CTT GAG AGC-SH-3'
5a	5'-TTC GGA TCC CGG-SH-3'
1a' 1b'	5'-TAC GAG TTG AGA ATC CTG AAT GCG-3'
2a' 2b'	5'-CAG GAT GGT CTT GAT CTC TTC ACC-3'
5a' 5b'	5'-CCG GGA TCC GAA TTC AAG CTT CGA-3'
1a' 2b'	5'-TAC GAG TTG AGA GAT CTC TTC ACC-3'
3a' 2b'	5'-ATT CCC AGT CTT CGA TCT CTT CAC C-3'
4a' 2b'	5'-GCT CTC AAG TGC GAT CTC TTC ACC-3'
5a' 2b'	5'-CCG GGA TCC GAA GAT CTC TTC ACC-3'
2a' 1b'	5'-CAG GAT GGT CTT ATC CTG AAT GCG-3'



**Abbildung 1.** Festphasen-Hybridisierung difunktionaler **D<sub>2</sub>-Au(2a5a)**-Konjugate, die unterschiedliche Mengen der Oligomere **2a** und **5a** enthalten. Die Hybridisierung wurde in Mikrotiterplatten gemessen, die zwei komplementäre Fänger-Oligomere enthielten: biotinyliertes **2b** mit dem Linker **2a'2b'** (zur Bindung von **2a**) und biotinyliertes **5b** mit dem Linker **5a'5b'** (zur Bindung von **5a**). Die Signalintensitäten wurden im Anschluss an die Silberentwicklung durch Absorptionsmessungen bei 490 nm erhalten. a) Signalintensitäten in Abhängigkeit von der Belegungsdichte  $m$  von **2a** (grün) und **5a** (blau). Die Belegungsdichten  $m=0$  und  $m=1$  repräsentieren die monofunktionalen Konjugate **D<sub>1</sub>-Au**, die lediglich **2a** bzw. **5a** enthalten, während  $m=0.05\text{--}0.95$  difunktionale Konjugate **D<sub>2</sub>-Au** mit unterschiedlichen Anteilen an **2a** und **5a** entsprechen. Die Signale wurden nach 60 min Hybridisierung erhalten. Es ist zu beachten, dass die Hybridisierungseffizienz der **D<sub>2</sub>-Au**-Konjugate erst bei sehr geringen Belegungsdichten unter 20% deutlich abnimmt. b) Zeitabhängige Hybridisierungskurven monofunktionaler **D<sub>1</sub>-Au**- und difunktionaler **D<sub>2</sub>-Au**-Konjugate. Letztere enthalten das hybridisierende Oligomer in einer niedrigen Belegungsdichte von 5%. Man beachte, dass die Steigung der Kurven im Falle der monofunktionalen **D<sub>1</sub>-Au**-Konjugate deutlich steiler ist.

spricht damit einer Zahl von nur etwa 60 komplementären Oligonucleotiden, die die Immobilisierung in Gegenwart von etwa 230 nichtkomplementären Oligomeren vermitteln. Diese im Vergleich zu den monofunktionalen Konjugaten etwas unerwartete Hybridisierungscharakteristik wird durch die Tatsache erklärt, dass aufgrund elektrostatischer Abstößung nur etwa 10% der partikelgebundenen Oligomere hybridisieren können.<sup>[7]</sup> Offensichtlich ist es also für die Hybridisierung unwesentlich, wenn annähernd 90% der Oligomere eine andere Sequenz haben.

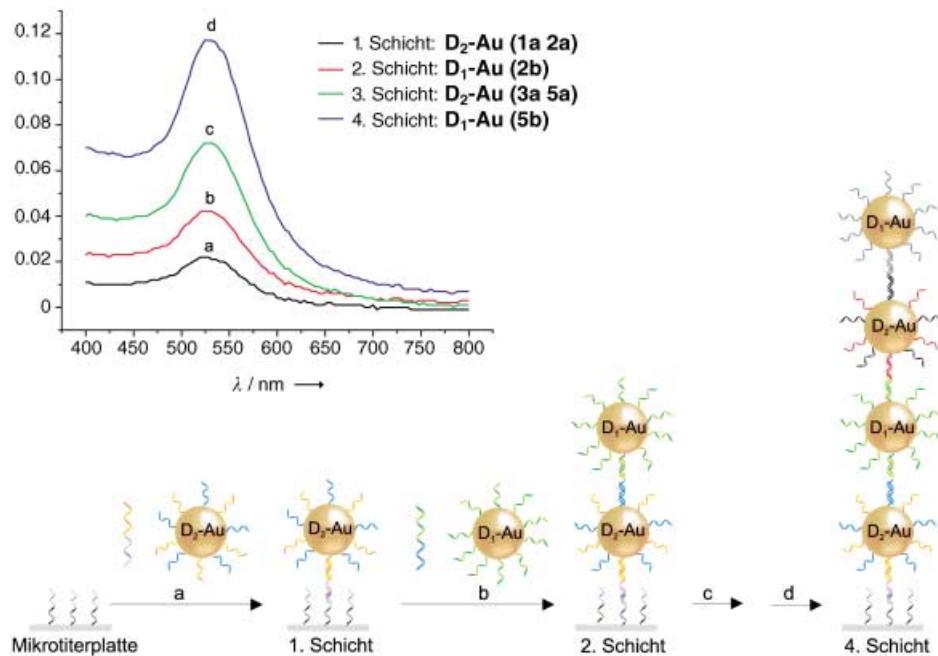
Aus Abbildung 1a lässt sich auch entnehmen, dass sich die maximalen Signalintensitäten der Sequenzen **2a** und **5a**

unterscheiden. Dieser Unterschied in der Hybridisierungseffizienz, also der Menge an Material, die pro Zeiteinheit durch Nucleinsäure-Hybridisierung immobilisiert wird, korreliert nicht mit der thermodynamischen Stabilität der entsprechenden Duplexstrukturen. Der Unterschied lässt sich vielmehr einer sequenzabhängigen Bildung von intra- und intermolekularen Oligomerstrukturen zuschreiben, die wiederum die Hybridisierungskinetik und die Stabilität der entsprechenden Doppelhelices beeinflussen.<sup>[9]</sup>

Um monofunktionalen **D<sub>1</sub>-Au**- mit difunktionalen **D<sub>2</sub>-Au**-Konjugaten zu vergleichen, die mit nur 5% des hybridisierenden Oligomers belegt waren, wurden zeitabhängige Hybridisierungsuntersuchungen durchgeführt. Wie in Abbildung 1b dargestellt, bewirkt die geringere Oberflächenbelegung eine geringere Steigung der Bindungskurve als bei den monofunktionalen Teilchen. Dies legt nahe, dass die Hybridisierungskinetik durch die geringe Konzentration der hybridisierenden Oligomere auf der Partikeloberfläche deutlich verlangsamt wird. Zusätzliche Untersuchungen mit analogen difunktionalen **D<sub>2</sub>-Au**-Konjugaten, die sowohl 12mer- wie auch 24mer-kodierende Sequenzen enthielten, erbrachten ähnliche Ergebnisse (Abbildung S3 in den Hintergrundinformationen). Dies bestätigt, dass nur sehr geringe Oberflächenbelegungen benötigt werden, um die effiziente Hybridisierung der Partikel zu gewährleisten.

Um die Funktionalität der zwei verschiedenen Bindungsstellen der difunktionalen Partikel zu überprüfen, bauten wir mithilfe der Konjugate **D<sub>2</sub>-Au(1a2a)** und **D<sub>2</sub>-Au(3a5a)** oberflächengebundene Partikelschichten auf (Abbildung 2). Die Sequenz **1a** in **D<sub>2</sub>-Au(1a2a)** wurde für die Herstellung einer ersten Partikelschicht auf der Oberfläche genutzt. Anschließend wurde die Sequenz **2a** als Verbindung zu einer zweiten Lage aus monofunktionalen **D<sub>1</sub>-Au(2b)**-Partikeln verwendet. Im nächsten Schritt wurde die Sequenz **3a** in **D<sub>2</sub>-Au(3a5a)**-Konjugaten genutzt, um eine dritte Schicht abzuscheiden. Schließlich wurde die Sequenz **5a** in **D<sub>2</sub>-Au(3a5a)** als Verknüpfung zu einer vierten Schicht aus **D<sub>1</sub>-Au(5b)** verwendet. Jedes der Konjugate wurde über individuelle Linker hybridisiert, deren Sequenzen nur eine einzige Verknüpfungsart zuließen. UV/Vis-Messungen zeigten, dass der Aufbau jeder weiteren Schicht mit einer linearen Erhöhung der Absorption bei 526 nm einherging (Abbildung 2). In Kontrolluntersuchungen, in denen der Schichtaufbau ohne Linker oder mit nichtkomplementären Linkern durchgeführt wurde, konnte kein solcher Absorptionsanstieg beobachtet werden (Abbildung S4 in den Hintergrundinformationen). Daraus lässt sich schließen, dass die Spezifität der DNA-Basenpaarung in difunktionalen Konjugaten aus DNA und Au-Nanopartikeln unbeeinflusst bleibt.

Wir möchten darauf hinweisen, dass die Verwendung oligofunktionaler Konjugate, wie **D<sub>2</sub>-Au**, grundsätzlich eine deutlich höhere Flexibilität beim rationellen Aufbau von Multischichtaggregaten ermöglicht, denn durch geeignete Sequenzauswahl lässt sich die unerwünschte Wechselwirkung einer Schicht mit irgendeiner darunter liegenden Schicht einfach und wirkungsvoll unterbinden. Dies steigert die Komplexität der Aggregate, die aus monofunktionalen Partikeln zugänglich sind, welche üblicherweise zum Aufbau von Nanopartikelschichten eingesetzt werden.<sup>[8,10]</sup>



**Abbildung 2.** Aufbau oberflächengebundener Partikelschichten durch DNA-Hybridisierung von mono- und difunktionalen DNA-Gold-Konjugaten in Mikrotiterplatten. Diagramm: Absorptionsmessungen nach jeder neu aufgebauten Schicht. Zunächst wurde eine oberflächengebundene Partikelschicht durch aufeinanderfolgende Hybridisierung des Linkers **1a'1b'** und des Konjugates **D<sub>2</sub>-Au(1a2a)** am biotinylierten Fänger-Oligomer der Sequenz **1b** erzeugt (a). Die nachfolgenden Hybridisierungen umfassten den Linker **2a'2b'** und **D<sub>1</sub>-Au(2b)** (b), den Linker **2b'3a'** und **D<sub>2</sub>-Au(3a5a)** (c) sowie den Linker **5a'5b'** und **D<sub>1</sub>-Au(5b)** (d). Die Bildung der Partikelschichten wurde photometrisch im Bereich zwischen 400–800 nm mit einem Mikrotiterplatten-Lesegerät verfolgt.

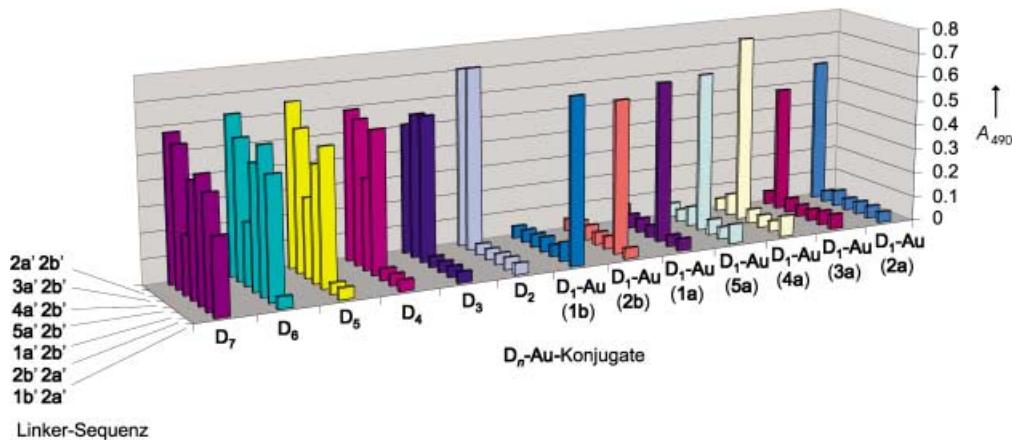
Die interessanten Hybridisierungseigenschaften der difunktionalen **D<sub>2</sub>-Au**-Konjugate motivierten uns zu untersuchen, ob auch ein höherer Funktionalisierungsgrad der Nanoteilchen erreicht werden kann, wenn man zur Belegung der Goldkolloide mit DNA entsprechende stöchiometrische Mischungen aus drei oder mehr thiolierten Oligonukleotiden verwendet. Wir synthetisierten deshalb oligofunktionale **D<sub>n</sub>-Au**-Konjugate ( $n=1-7$ ) aus verschiedenen Kombinationen der DNA-Oligomere **1a-5a** (Abbildung 3). Die im Falle des pentafunktionalen Konjugates **D<sub>5</sub>-Au** durchgeführte Überprüfung der absoluten Belegungsdichten ergab, dass durchschnittlich etwa 63 Oligomere jeder Sequenz vorhanden waren. Dies entspricht einem Anteil von 20 % an den  $317 \pm 20$  Oligomeren pro Partikel (Abbildung S5 in den Hintergrundinformationen). Die erfolgreiche Festphasen-Hybridisierung der **D<sub>n</sub>-Au**-Konjugate belegte die Funktionsfähigkeit aller Sequenzen (Abbildung 3). Selbst beim heptafunktionalen Konjugat **D<sub>7</sub>-Au** wurden nur zwei der insgesamt sieben vorhandenen Sequenzen durch die anderen Oligomere deutlich beeinflusst: Während die Hybridisierungseffizienz von fünf Sequenzen mehr als 85 % der entsprechenden Monokonjugate entsprach, fielen die Signale der Oligomersequenzen **1b** und **4a** auf etwa 40 % der Signale der entsprechenden Monokonjugate ab. Die Verringerung der Hybridisierungseffizienz dürfte auf individuelle sequenzspezifische Eigenschaften dieser Oligomere zurückzuführen sein, die durch eine systematische Optimierung der Sequenzauswahl einfach umgehbar sein sollten.

Wir haben hier über ein neues Konzept zur Herstellung hochfunktionalisierter „vielseitiger“ DNA-Gold-Nanoteil-

chen berichtet und gezeigt, dass die Modifizierung der Partikel mit bis zu sieben verschiedenen Oligomeren zur Bildung eines komplexen orthogonalen Kupplungssystems führt, in dem einzelne Oligomere wegen der hochspezifischen Nucleinsäure-Basenpaarung selektiv adressierbar sind. Hierdurch lassen sich einzelne Sequenzen beispielsweise spezifisch mit DNA-markierten molekularen und kolloidalen Komponenten functionalisieren, sodass komplexe „Bottom-up“-Synthesen biomolekular functionalisierter Nanoteilchen möglich werden. Der hier vorgestellte Ansatz ist nicht nur einfach, robust und effizient, er sollte auch neue Anwendungen von DNA- und Protein-modifizierten Nanoteilchen ermöglichen. Beispielsweise könnten oligofunktionale DNA-Nanoteilchen in den Materialwissenschaften zur Herstellung oberflächengebundener Heterostrukturen eingesetzt werden, die aus verschiedenartigen Metall- und Halbleiterteilchen bestehen.<sup>[11]</sup> Die oligofunktionale DNA-Partikel könnten auch in den Lebenswissenschaften als biomolekulare Hybridsonden zur Detektion von Proteinen und Nucleinsäuren eingesetzt werden.<sup>[14]</sup> Darüber hinaus ist unser Konzept vollständig kompatibel mit dem DNA-vermittelten Aufbau von nanostrukturierten Proteinkonjugaten, die gegenwärtig für den Aufbau von oligovalenten Rezeptoren, Multienzymen, Lichtsammelkomplexen und anderen biomolekularen Funktionseinheiten untersucht werden.<sup>[12]</sup>

### Experimentelles

Die DNA-modifizierten Gold-Kolloide wurden nach der Methode von Mirkin et al.<sup>[6]</sup> aus Citrat-stabilisierten Gold-Nanopartikeln (ICN, Durchmesser ( $23.6 \pm 5.3$ ) nm) und thiolmodifizierten-DNA-Oligo-



**Abbildung 3.** Festphasen-Hybridisierung oligofunktionaler  $D_n$ -Au-Konjugate ( $n=1-7$ ):  $D_1$ -Au(1a),  $D_1$ -Au(1b),  $D_1$ -Au(2a),  $D_1$ -Au(2b),  $D_1$ -Au(3a),  $D_1$ -Au(4a),  $D_1$ -Au(5a),  $D_2$ -Au(2a3a),  $D_3$ -Au(2a3a4a),  $D_4$ -Au(2a3a4a5a),  $D_5$ -Au(1a2a3a4a5a),  $D_6$ -Au(1a2a2b3a4a5a) und  $D_7$ -Au(1a1b2a2b3-a4a5a).

meren (Thermo Hybaid) hergestellt. Für die Bestimmung der Oberflächenbelegung wurden 5'-Fluorescein-markierte und 3'-Thiol-funktionalisierte Oligonukleotide zur Herstellung der Partikelkonjugate verwendet. In einem typischen Ansatz wurde für die Synthese eines difunktionalen DNA-Au-Konjugats eine Mischung zweier Oligonukleotide im gewünschten Verhältnis zu einer wässrigen Lösung der Nanopartikel gegeben. Die Endkonzentration an Oligonukleotiden betrug 4  $\mu$ M. Oligofunktionale DNA-Partikel wurden auf die gleiche Weise aus den entsprechenden Mischungen mehrerer Oligonukleotide hergestellt.

Die Festphasen-Hybridisierungsexperimente wurden in Streptavidin-beschichteten Mikrotiterplatten durchgeführt, in deren Kavität biotinylierte Fänger-Oligonukleotide gebunden waren,<sup>[9]</sup> die einen  $dT_{12}$ -Spacer zwischen Biotingruppe und kodierender Sequenz enthielten. Die Sequenzen sind in Tabelle 1 aufgelistet. Die immobilisierten Fänger-Oligomere (z.B. 5'-Biotin- $dT_{12}$ -2b) wurden 30 min mit 50  $\mu$ L eines Linkers (z.B. 2a'2b', 200 nm in Tris-Puffer mit 300 mM NaCl) inkubiert. Anschließend wurden 50  $\mu$ L des DNA-Partikel-Konjugates (z.B.  $D_1$ -Au(2a), 0.04 nm in Tris-Puffer mit 300 mM NaCl) zum immobilisierten Linker gegeben und 60 min inkubiert. Im Anschluss an die Hybridisierung wurde eine Silberentwicklung mit Silver-Enhancer-Kits (Sigma Aldrich oder ICN) durchgeführt und die Entwicklung des Silberspiegels photometrisch bei 490 nm verfolgt.

Für den in Abbildung 2 beschriebenen Schichtaufbau wurden 0.6 nm Lösungen der DNA-Gold-Konjugate im oben angegebenen Tris-Puffer verwendet. Nach jeder Partikel-Hybridisierung wurden die immobilisierten Konjugate mit 200 nm des entsprechenden Linkers abgesättigt (siehe Legende zu Abbildung 2). Jede Partikel-schicht wurde photometrisch mit einem Mikrotiterplatten-Lesegerät von Synergy-HT im Bereich zwischen 400 und 800 nm vermessen.

Eingegangen am 29. August 2003 [Z52744]

**Stichwörter:** Analytische Methoden · DNA · Nanostrukturen · Nucleinsäuren · Supramolekulare Chemie

- [1] C. M. Niemeyer, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 4254–4287; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 4128–4158.
- [2] J. J. Storhoff, C. A. Mirkin, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 1849–1862.
- [3] R. A. Reynolds, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3795–3796.
- [4] C. M. Niemeyer, B. Ceyhan, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 3798–3801; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3685–3688.

- [5] Nichtkodierende Oligonukleotide, beispielsweise  $dT_{12}$ -Sequenzen, wurden bereits zuvor genutzt, um die Oberflächenbelegung mit kodierenden Sequenzen zu beeinflussen: a) S. R. Nicewarner Pena, S. Raina, G. P. Goodrich, N. V. Fedoroff, C. D. Keating, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 7314–7323; b) R. Jin, G. Wu, Z. Li, C. A. Mirkin, G. C. Schatz, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 1643–1654.
- [6] J. J. Storhoff, R. Elghanian, R. C. Mucic, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 1959–1964.
- [7] L. M. Demers, C. A. Mirkin, R. C. Mucic, R. A. Reynolds, R. L. Letsinger, R. Elghanian, G. Viswanadham, *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 5535–5541.
- [8] T. A. Taton, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, *Science* **2000**, *289*, 1757–1760.
- [9] Kinetische Daten zur DNA-Hybridisierung sind selten, und es ist bislang nicht möglich, Hybridisierungseffizienz auf der Basis von Sequenzdaten vorherzusagen. Für eine Diskussion siehe: C. M. Niemeyer, W. Bürger, R. M. J. Hoedemakers, *Bioconjugate Chem.* **1998**, *9*, 168–175, zit. Lit.
- [10] Beispiele: a) T. A. Taton, R. C. Mucic, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 6305–6306; b) F. Patolsky, K. T. Ranjit, A. Lichtenstein, I. Willner, *Chem. Commun.* **2000**, 1025–1026; c) I. Willner, F. Patolsky, J. Wasserman, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 1913–1916; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 1861–1864; d) S. J. Park, T. A. Taton, C. A. Mirkin, *Science* **2002**, *295*, 1503–1506; e) A. Csaki, R. Möller, W. Straube, J. M. Köhler, W. Fritzsche, *Nucleic Acids Res.* **2001**, *29*, E81; f) R. Möller, A. Csaki, J. M. Köhler, W. Fritzsche, *Langmuir* **2001**, *17*, 5426–5430; g) C. M. Niemeyer, B. Ceyhan, S. Gao, L. F. Chi, S. Peschel, U. Simon, *Colloid Polym. Sci.* **2001**, *279*, 68–72; h) S. Peschel, B. Ceyhan, C. M. Niemeyer, S. Gao, L. F. Chi, U. Simon, *Mater. Sci. Eng. C* **2002**, *19*, 47–50; i) D. Gerion, W. J. Parak, S. C. Williamson, D. Zanchet, C. M. Michelet, A. P. Alivisatos, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 7070–7074.
- [11] Difunktionale Nanopartikel wurden als Bausteine für den selbstorganisierten Aufbau quervernetzter Partikelschichten eingesetzt: C. M. Niemeyer, B. Ceyhan, M. Noyong, U. Simon, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2003**, *311*, 995–999.
- [12] Beispiele: a) C. M. Niemeyer, T. Sano, C. L. Smith, C. R. Cantor, *Nucleic Acids Res.* **1994**, *22*, 5530–5539; b) C. M. Niemeyer, W. Bürger, J. Peplies, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2391–2395; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2265–2268; c) C. M. Niemeyer, J. Koehler, C. Wuerdemann, *ChemBioChem* **2002**, *3*, 242–245; d) neuere Übersicht: C. M. Niemeyer, *Trends Biotechnol.* **2002**, *20*, 395–401.