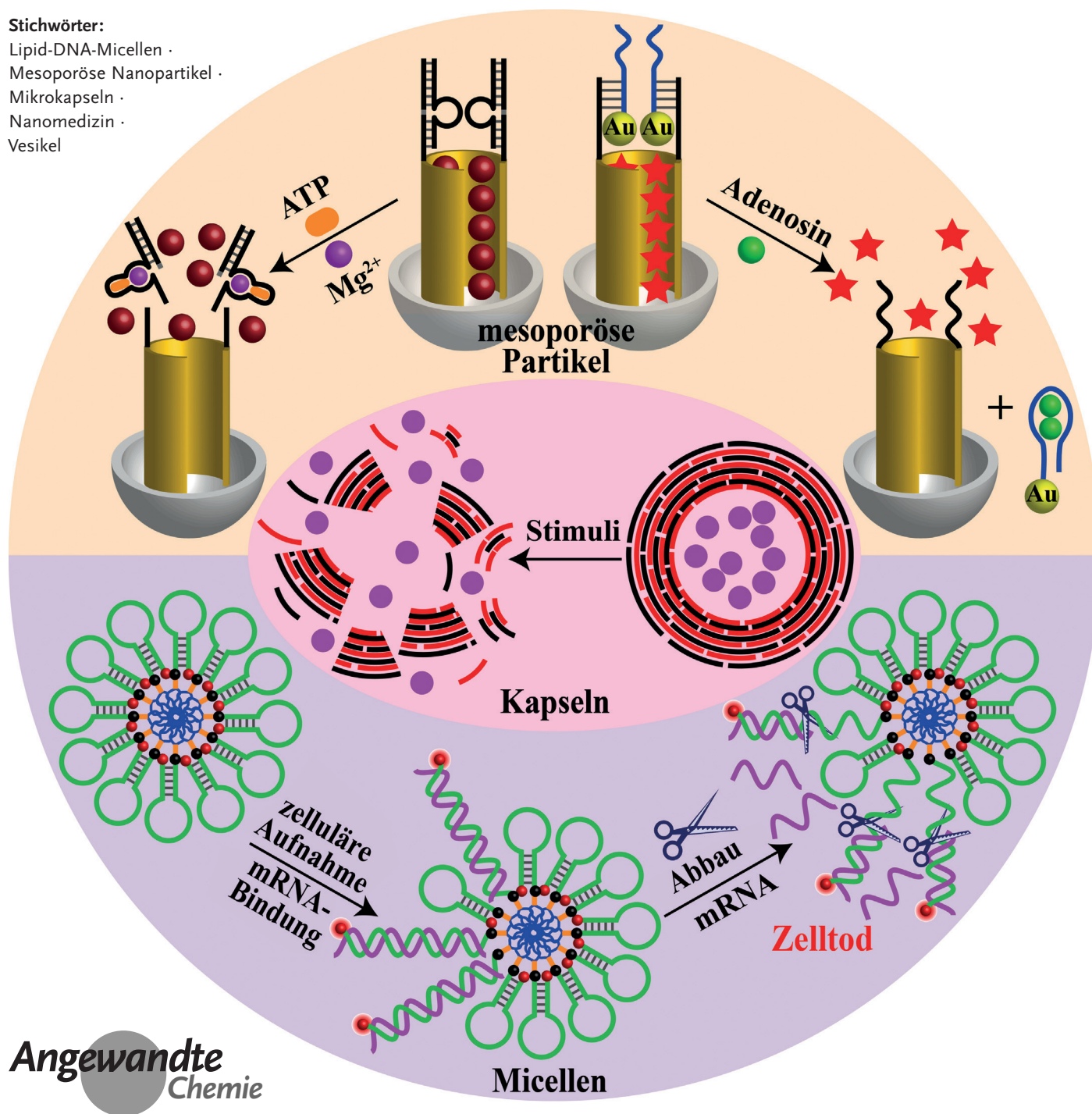


Stimuliresponsive DNA-funktionalisierte Nano- und Mikrocontainer zur schaltbaren und kontrollierten Freisetzung

Chun-Hua Lu und Itamar Willner*

Stichwörter:

Lipid-DNA-Micellen ·
Mesoporöse Nanopartikel ·
Mikrokapseln ·
Nanomedizin ·
Vesikel



Stimuliresponsive DNA-funktionalisierte Nano- und Mikrocontainer, die aus mesoporösen SiO_2 -Nanopartikeln (SiO_2 -NPs), Mikrokapseln oder Micellen/Vesikeln bestehen, fungieren als Träger zur Freisetzung von Wirkstoffen. Die in den DNA-Sequenzen gespeicherte Information liefert den Code für die Ver- und Entriegelung der wirkstoffbeladenen Poren mesoporöser SiO_2 -NPs, für den Auf- und Abbau von Mikrokapseln oder Lipid-DNA-Micellen bzw. Lipid-DNA-Vesikeln und für den gezielten Transport von Nano- und Mikrocontainern zu Krebszellen. Es werden verschiedene Trigger eingesetzt, um die in den Nano- und Mikrocontainern enthaltenen Wirkstoffe durch Entriegelung der Poren der mesoporösen SiO_2 -NPs oder durch Abbau der Container freizusetzen. Hierzu gehören schaltbare DNA-Nanostrukturen (Nukleinsäure-Haarnadeln, i-Motive, G-Quadruplexe) und die Anwendung chemischer, thermischer oder photonischer Stimuli. Außerdem werden durch DNAzyme oder Enzyme stimulierte katalytische Prozesse genutzt, um die Wirkstoffe aus den Nano- und Mikrocontainern freizusetzen.

Aus dem Inhalt

1. Einführung	12381
2. Mesoporöse Nanopartikel mit DNA-Verschlüssen	12382
3. Stimuliresponsive Mikrokapseln	12394
4. Stimuliresponsive Micellen und Vesikel als funktionelle Träger	12397
5. Zusammenfassung und Ausblick	12400

1. Einführung

Die Basensequenz von Oligonukleotiden (DNA) codiert strukturelle und funktionelle Information in ein Biopolymer. Neben den etablierten Basenpaarungen A-T und G-C, die zur Bildung doppelsträngiger Nukleinsäuren führen, läuft eine basenorientierte Selbstorganisation der Nukleinsäuren zu unterschiedlichen Nanostrukturen ab (Abbildung 1 A).^[1] DNA-Stränge, die Selbstkomplementarität aufweisen, erzeugen Haarnadelstrukturen, Cytosin(C)-reiche Stränge aggregieren unter geeigneten pH-Bedingungen zu i-Motiv-Strukturen,^[2] und Guanosin(G)-reiche Sequenzen aggregieren in Gegenwart von K^+ - oder NH_4^+ -Ionen durch Selbstorganisation zu G-Quadruplex-Nanostrukturen.^[3] Außerdem ermöglichen geeignete Basendomänen, wie T-A-T oder C-G-C, die Bildung von dreisträngigen DNA-Strukturen.^[4] In ähnlicher Weise überbrücken Metallionen Nukleotidbasen, wodurch T-Hg²⁺-T-Komplexe oder C-Ag⁺-C-Komplexe gebildet werden, und verschiedene Interkalatoren binden an DNA-Doppelstränge.^[5,6] Durch diese Komplexe erfolgt eine kooperative Stabilisierung von DNA-Doppelsträngen oder anderen Nukleinsäure-Nanostrukturen. Die unterschiedlichen Oligonukleotid-Nanostrukturen können unter geeigneten Bedingungen aufgetrennt werden: Bei doppelsträngiger DNA findet eine Strangverdrängung unter Bildung energetisch stabilisierter Strukturen statt,^[7] Haarnadel-Nukleinsäuren öffnen sich nach Hybridisierung der Nukleinsäure mit der Schleifenregion der Haarnadeln,^[8] i-Motiv-Strukturen zerfallen bei neutralem pH-Wert zu Zufallsknäueln, dreisträngige DNA-Aggregate werden bei unterschiedlichen pH-Werten getrennt, und G-Quadruplexe oder durch Metallionen überbrückte Doppelstränge werden durch ligandeninduzierte Abspaltung der die Strukturen stabilisierenden Ionen aufgetrennt.^[9,10] In ähnlicher Weise zeigen photoisomerisierbare Einheiten schaltbare Bindungseigenschaften an Doppelstrang-DNA, was zu einer schaltbaren kooperativen Stabilisierung von doppelsträngi-

gen DNA-Nanostrukturen führt. Beispielsweise interkalieren *trans*-Azobenzol-Einheiten in doppelsträngige DNA und stabilisieren so die Doppelstrangstrukturen. Die Photoisomerisierung der *trans*-Azobenzol-Stellen zu *cis*-Azobenzol-Einheiten, denen die Interkalationsaffinität zu doppelsträngiger DNA fehlt, hat eine Schwächung und schließlich die Auftrennung der doppelsträngigen Strukturen zur Folge.^[11] Oligonukleotide können auch Eigenschaften der spezifischen Erkennung zeigen. Sequenzspezifische Nukleinsäuren, die hochaffin an niedermolekulare Substrate, Makromoleküle (z. B. Proteine) und selbst an Zellen binden, sind verfügbar (Aptamere)^[12] und können mit der Methode der systematischen Evolution von Liganden durch exponentielle Anreicherung (SELEX, systematic evolution of ligands by exponential enrichment) erzeugt werden.^[13] Außerdem sind viele sequenzspezifische Nukleinsäuren bekannt, die katalytische Eigenschaften aufweisen (DNAzyme), z. B. Metallionen-unabhängige DNAzyme^[14] oder das Meerrettichperoxidase imitierende Häm/G-Quadruplex-DNAzym.^[15] Verschiedene Enzyme reagieren mit DNA (Abbildung 1 B). Polymerase repliziert in Gegenwart des dNTP-Gemischs eine mit einem DNA-Gerüst hybridisierte Primer-Nukleinsäure,^[16] sequenzspezifische Endonukleasen spalten doppelsträngige DNA-Strukturen,^[17] sequenzspezifische Nicking-Enzyme spalten ein Einzelstrang-Target in Doppelstrang-DNA-Strukturen auf,^[18] DNase baut DNA-Stränge ab, und Exonukleasen, wie Exonuklease III (Exo III), bauen das 3'-Ende eines DNA-Doppelstrangs hydrolytisch ab.^[19]

Die Möglichkeit, Strukturwechsel von DNA-Nanostrukturen mittels Stimuli aus der Umgebung oder katalytischer

[*] Dr. C. H. Lu, Prof. I. Willner
Institute of Chemistry, The Hebrew University of Jerusalem
Jerusalem 91904 (Israel)
E-Mail: willnea@vms.huji.ac.il
Homepage: <http://chem.ch.huji.ac.il/willner/>

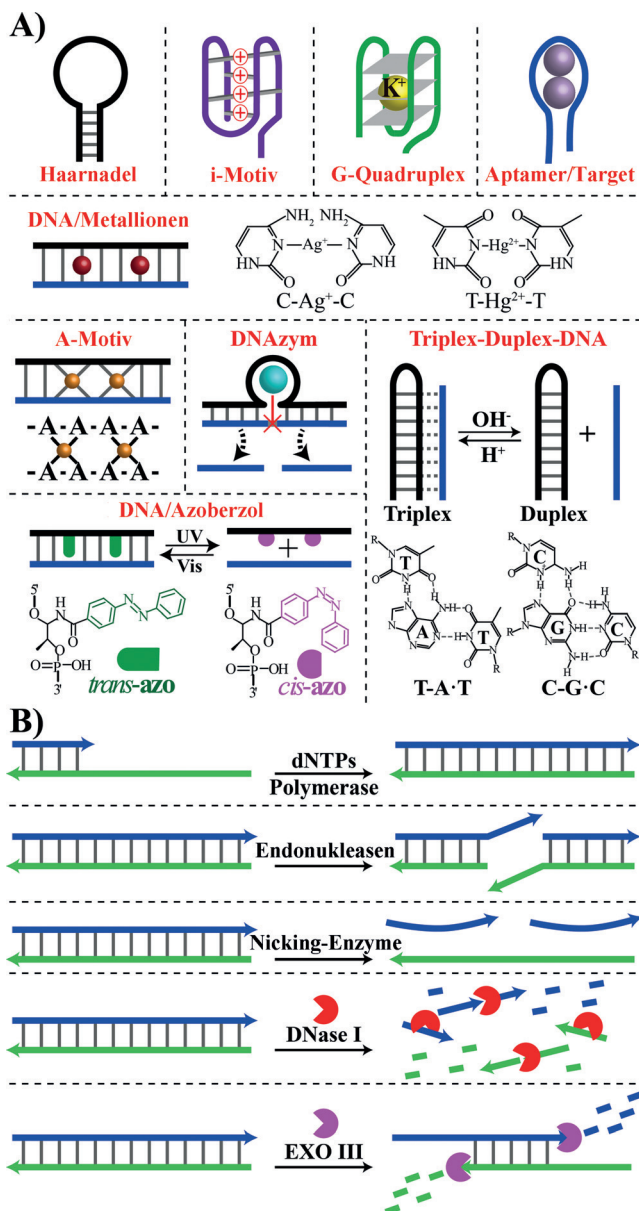


Abbildung 1. A) Selbstorganisation von DNA-Nanostrukturen und DNA-Komplexen durch Stimuli aus der Umgebung oder durch mitangelagerte Liganden oder Ionen. B) Beispiele biokatalysierter Umwandlungen, die an DNA-Nanostrukturen stattfinden.

Umwandlungen auszulösen, führt zu einem reichhaltigen Arsenal an Werkzeugen zur Beeinflussung der DNA. Die Rekonfiguration von DNA-Nanostrukturen durch Stimuli aus der Umgebung,^[20] die Erkennungseigenschaften von Aptameren,^[12] die katalytischen Funktionen von DNazymen und die biokatalytischen Reaktionen an Nukleinsäurestrukturen^[14,15] haben einen enormen Einfluss auf die Entwicklung verschiedener Themenfelder auf dem sich schnell entwickelnden Gebiet der DNA-Nanotechnologie. Bei der Entwicklung von DNA-Schaltssystemen,^[20] DNA-Maschinen,^[21] Sensorik-Plattformen mit amplifizierter DNA^[22,23] und bei der Anwendung von DNA als Funktionsmaterial für den Betrieb von Logikgatter- und Rechnerschaltkreisen^[24,25] werden diese besonderen Eigenschaften der DNA genutzt. Der vorliegende Aufsatz erörtert die Verwendung von DNA-Hybridssystemen als stimuli-responsive Träger zur kontrollierten Freisetzung von Frachten. Speziell werden stimuli-responsive DNA-funktionalisierte mesoporöse Nanopartikel (NPs), Mikro- und Nanokapseln auf DNA-Basis sowie Micellen und Vesikel, die aus Lipid-Nukleinsäure-Konjugaten bestehen, behandelt. Die Methoden zum Aufbau der stimuli-responsiven Container auf DNA-Basis, die Mechanismen für das Auslösen der Entriegelung dieser Mikro- und Nanoreservoire und der Freisetzung von Frachten sowie die zukünftigen Anwendungen dieser Systeme zur Erkennung und zur gezielten und kontrollierten Wirkstofffreisetzung in der Nanomedizin werden dargestellt.

2. Mesoporöse Nanopartikel mit DNA-Verschlüssen

Mesoporöse Partikel werden definiert als Nanopartikel, die Poren mit einem Durchmesser zwischen 2 nm und 50 nm enthalten. Viele unterschiedliche anorganische Materialien wie Kohlenstoff, TiO₂, SiO₂ und andere wurden in Form von mesoporösen Mikro- oder Nanopartikeln hergestellt.^[26,27] Diese starren mesoporösen Partikel weisen wichtige Eigenschaften auf, wie große Oberfläche und hohe Beladungskapazität, Biokompatibilität, chemische Beständigkeit und Oberflächenfunktionalitäten, die die chemische Modifizierung der Oberflächen und die Aufnahme der Partikel in die Zellen ermöglichen. Viele verschiedenartige Anwendungen



Itamar Willner promovierte 1978 an der Hebrew University in Jerusalem. Nach einem Postdoktorat (1978–1981) an der University of California, Berkeley, wechselte er an das Chemie-Institut der Hebrew University, wo er 1986 zum Professor berufen wurde. Seine Forschungsinteressen gelten der Bio- und Molekularelektronik, der Nanobiotechnologie, Sensoren und Biosensoren, der künstlichen Photosynthese und der Entwicklung stimuli-responsiver „smarter“ Materialien. Er erhielt den Israel-Preis für Chemie, den Rothschild-Preis und den EMET-Preis.

Er ist Mitglied der Israel Academy of Sciences, der Nationalen Akademie der Wissenschaften, Leopoldina, und der European Academy of Sciences and Arts.



Chun-Hua Lu absolviert gegenwärtig ein Postdoktorat im Labor von Prof. Itamar Willner am Chemie-Institut der Hebrew University in Jerusalem. 2005 erhielt er den B.S. am College of Chemistry and Chemical Engineering der Fuzhou University (China), 2011 promovierte er dort. Seine Forschungsinteressen gelten der DNA-Nanotechnologie, insbesondere DNA-Maschinen, plasmonischen Effekten in DNA/Metallnanopartikel-Strukturen und DNA-Hydrogelen.

von substratbeladenen mesoporösen Partikeln wurden vorgeschlagen, darunter Sensorik,^[28] Wirkstofffreisetzung,^[29] Bildgebung^[30] und Katalyse.^[31]

Für biomedizinische Anwendungen müssen mesoporöse NPs, speziell mesoporöse SiO₂-Nanopartikel (SiO₂-NPs), als Vehikel zur Wirkstofffreisetzung verschiedene Voraussetzungen erfüllen: 1) Die Poren müssen mit der Wirkstofffracht (oder einem Modellanalogen) beladen und mit funktionellen Einheiten, die eine unkontrollierte Freisetzung verhindern oder minimieren, verschlossen werden. 2) Die porenverschließenden Einheiten sollten durch externe Trigger oder Trigger aus der Umgebung entriegelt werden, wodurch die kontrollierte Freisetzung der Frachten ermöglicht wird. 3) Oberflächenmodifikatoren der NPs sollten den gezielten Transport der NPs zu spezifischen Zellen ermöglichen und die zelluläre Endozytose unterstützen. Die Entriegelung der Poren durch spezifische intrazelluläre Biomarker oder chemische Stoffe ist von Vorteil für die gezielte und kontrollierte Freisetzung. Tatsächlich wurden erhebliche Forschungsanstrengungen darauf gerichtet, stimuli-responsive verschlossene mesoporöse SiO₂-NPs zu entwickeln. Diese umfassen die Entriegelung der Verschlüsse durch pH-Trigger,^[32] chemische Stimuli^[33] (z. B. Glucose), die Einführung von redoxaktiven Verschlüssen^[34,35] (z. B. Disulfid- oder Chinon-Verschlüsse), die Anwendung photonischer Signale zur Entriegelung der Poren,^[36] die Nutzung thermischer^[37] oder magnetischer Felder^[38] als porenentriegelnde Trigger und den Einsatz von Enzymen als Katalysatoren für den Abbau von Verschlüssen.^[39] Die Freisetzung verschiedener Wirkstoffe wie Insulin^[40] oder von Chemotherapeutika^[41] wurde demonstriert. In einigen hervorragenden Übersichtsartikeln wurden die aktuellen Fortschritte bei Anwendungen von durch Stimuli gesteuerten mesoporösen NPs zur kontrollierten Wirkstofffreisetzung erörtert.^[42]

Nukleinsäure-funktionalisierte mesoporöse NPs weisen attraktive Merkmale für die getriggerte Wirkstofffreisetzung auf: 1) Voluminöse DNA-Nanostrukturen, die durch überbrückte Doppelstränge gebildet werden, polymerisierte DNA-Ketten (mittels Hybridisierungskettenreaktion oder polymeraseinduzierter Replikation), der Aufbau von zwei- oder dreidimensionalen DNA-Strukturen oder die Bildung von Aptamer-Ligand-Komplexen liefern wirksame Nanostrukturen zum Verschließen der Poren. 2) Verschiedene Trigger, darunter Strangverdrängung,^[7] pH-Wert,^[9] Liganden^[10] oder thermische Stimuli,^[43] können eine Rekonfiguration der Verschlüsse bewirken, die zur Entriegelung der Poren und zur Freisetzung der eingeschlossenen Substrate führt. 3) Die enzymatische oder DNase-katalysierte Spaltung von DNA-Verschlüssen stellt möglicherweise einen Weg dar, die Verschlüsse zu entriegeln und die in den Poren eingeschlossenen Frachten freizusetzen. 4) Sequenzspezifische Aptamere, die spezifisch an Zellen, z. B. Krebszellen, binden, oder mit Zellen verbundene Rezeptor-Biomarker, sind bekannt. Durch Modifizierung mesoporöser NPs mit derartigen Aptameren können die wirkstoffbeladenen NPs gezielt zu spezifischen Zellen transportiert und deren Endozytose und die gezielte Freisetzung des Wirkstoffs ermöglicht werden. Dieser Abschnitt befasst sich mit der Verwendung DNA-modifizierter mesoporöser NPs als funk-

nale stimuli-responsive Hybride zur kontrollierten Wirkstofffreisetzung.

Voluminöse stimuli-responsive DNA-Nanostrukturen wurden weitgehend angewendet, um Substrate in den Poren mesoporöser NPs einzuschließen und die in den Poren eingeschlossenen Stoffe in Gegenwart geeigneter Entriegelungs-Trigger freizusetzen. So wurden beispielsweise doppelsträngige DNA-Strukturen als porenverschließende Einheiten eingesetzt, und ihre Spaltung durch verschiedene Trigger wurde beschrieben.^[44] Abbildung 2A veranschaulicht die

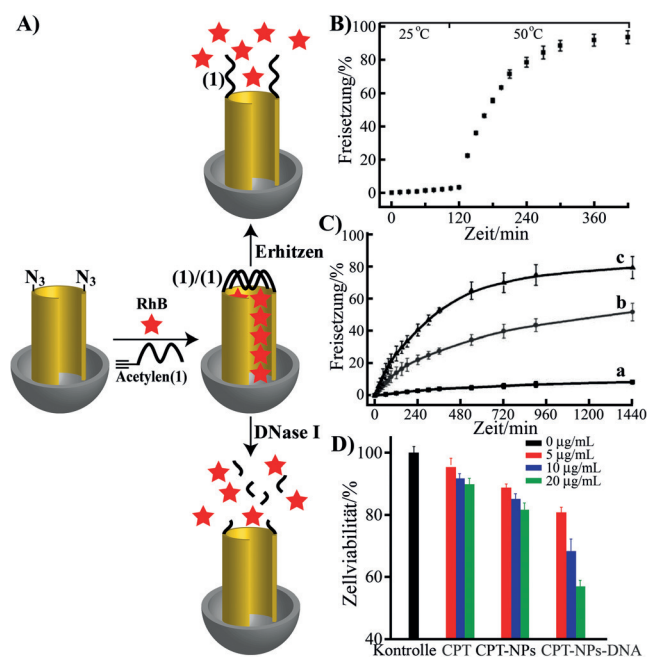


Abbildung 2. A) RhB-beladene, mit doppelsträngiger DNA verschlossene mesoporöse SiO₂-NPs als stimuli-responsive Material zur Beladung/Freisetzung. Die Entriegelung der Poren erfolgt durch die thermische Spaltung der Verschlüsseinheiten oder den hydrolytischen Abbau der Verschlüsse durch DNase I. B) Zeitabhängige, thermisch stimulierte Freisetzung der RhB-Fracht. C) Zeitabhängige Freisetzung der RhB-Fracht in Gegenwart unterschiedlicher Konzentrationen an DNase I: a) ohne Enzym; b) 10 U mL⁻¹; c) 20 U mL⁻¹. D) Lebensfähigkeit von HepG2-Krebszellen in Gegenwart CPT-beladener mesoporöser SiO₂-NPs, die verschlossen sind mit doppelsträngiger DNA, die durch intrazelluläre Enzyme entriegelt wird. Die Zellen werden mit unterschiedlichen Konzentrationen des Wirkstoffs CPT behandelt und mit verschiedenen Kontrollsystemen verglichen. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [44]. Copyright 2011 Wiley-VCH.

Entriegelung von mit doppelsträngiger DNA verschlossenen mesoporösen SiO₂-NPs, die mit Rhodamin B (RhB) als Wirkstoffmodell beladen sind, unter Anwendung von Temperatur oder enzymatischem Abbau der Verschlüsse als Entriegelungs-Trigger. Azid-funktionalisierte mesoporöse SiO₂-NPs wurden mit RhB beladen, und die Poren wurden durch Reaktion der NPs mit dem selbstkomplementären Doppelstrang der Alkin-modifizierten Nukleinsäure **1/1** mittels Klick-Chemie verriegelt. Durch die thermische Spaltung der doppelsträngigen DNA-Verschlüsseinheiten oder den enzymatischen Abbau der Einheiten in Gegenwart von DNase I wurden die Poren entriegelt, wodurch die Freiset-

zung der fluoreszierenden Fracht ausgelöst wurde, wie in Abbildung 2B bzw. C dargestellt. In ähnlicher Weise wurden die mesoporösen SiO₂-NPs mit den Tumorthapeutika Camptothecin (CPT) oder Floxuridin (FUDR) beladen und mit doppelsträngiger DNA verschlossen. In-vitro-Experimente (menschliche Leberkrebszellen; HepG2) zeigten, dass eine wirksame Aufnahme der CPT-beladenen mesoporösen SiO₂-NPs durch die Krebszellen erfolgte. Dazu wurde der fluoreszierende Wirkstoff CPT ($\lambda = 423$ nm) in die Poren gefüllt, und die Oberfläche der NPs wurde mit Fluoresceinisothiocyanat als Fluoreszenzmarker ($\lambda = 519$ nm) modifiziert. Die Fluoreszenz des Wirkstoffs und des Markers ermöglichte die Verfolgung des Ablaufs der Endozytose und der Wirkstofffreisetzung. Es wurde festgestellt, dass die mit DNA verschlossenen, CPT-beladenen mesoporösen SiO₂-NPs gut in die Krebszellen eingebracht wurden. Die in den Zellen vorhandenen Endonukleasen lösten daraufhin die Entriegelung und die Freisetzung des Wirkstoffs aus, was zu einer wirksamen Abtötung der Zellen führte (Abbildung 2D). In einer ähnlichen Studie wurden andere Enzyme, wie Exo III oder das Nicking-Enzym Nb.BbvCI, genutzt, um substratbeladene mesoporöse SiO₂-NPs, die mit doppelsträngigen DNA-Einheiten verschlossen waren, zu entriegeln.^[45] Diese Systeme verkörpern potenzielle Nanopartikeleinheiten zur Erkennung und Behandlung, da durch entsprechenden Aufbau der Haarnadeln ein defektes, krankheitsverursachendes Gen die Freisetzung eines Wirkstoffs (z. B. eines Chemotherapeutikums gegen Krebs) auslösen könnte.

Die Entriegelung mesoporöser SiO₂-NPs durch Rekonfiguration von DNA-Verschlässen über die Bildung eines Aptamer-Ligand-Komplexes und durch den anschließenden biokatalytischen, Exonuklease-stimulierten Abbau des gebildeten Aptamer-Komplexes wurde für die kontrollierte Freisetzung des Tumorthapeutikums CPT in Brustkrebszellen vollzogen (Abbildung 3A).^[45] Bei diesem System wurde die Tatsache genutzt, dass in Krebszellen eine Überproduktion von ATP erfolgt und dass EndoGI, ein Nicking-Enzym vom Exonuklease-Typ, in Krebszellen vorhanden ist.^[46] Demzufolge wurden die mesoporösen SiO₂-NPs mit der DNA-Haarnadelstruktur 6 funktionalisiert, die die anti-ATP-Aptamer-Sequenz (Domäne I) enthält. Der thermische Zerfall der Haarnadelstruktur zu einem Zufallsknäuel ermöglichte das Beladen der Poren mit CPT und dessen Einschluss durch Kühlen des Systems und Verschließen der Poren mit den voluminösen Haarnadeleinheiten. In Gegenwart von ATP erfolgte die Rekonfiguration der Haarnadel-Verschleusseinheit zur Struktur eines ATP-Aptamer-Komplexes, der eine aktive Domäne am 3'-Ende des Doppelstrangs enthielt, die durch das Enzym EndoGI erkannt wurde. Durch Spaltung der Doppelstrang-Domäne wurde der ATP-Ligand-Komplex aufgetrennt, der Biomarker ATP für die weitere Rekonfiguration der Haarnadeleinheiten regeneriert und schließlich die Freisetzung von CPT bewirkt. Die CPT-beladenen mesoporösen SiO₂-NPs wurden in Brustkrebszellen MDA-MB-231 und in normale Brustzellen MCF-10A eingebracht. Die Auswirkungen der CPT-beladenen NPs auf die zwei Zellarten sind in Abbildung 3B bzw. C dargestellt. Während sich die Lebensfähigkeit der Brustkrebszellen nach Behandlung der Zellen mit den wirkstoffbeladenen mesopo-

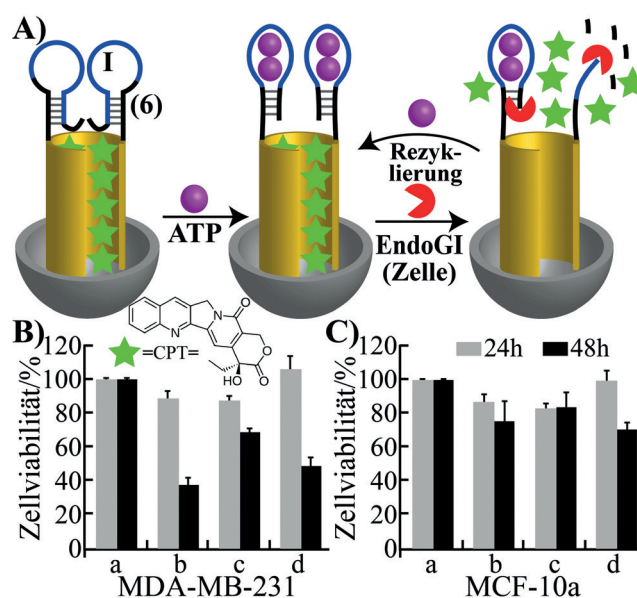


Abbildung 3. A) Untersuchung der Lebensfähigkeit von Brustkrebszellen MDA-MB-231 und von normalen Brustzellen MCF-10a, die CPT-beladenen mesoporösen SiO₂-NPs, die mit Haarnadel-DNA-Nanostrukturen verschlossen sind, ausgesetzt werden. Die Haarnadeln enthalten in der Domäne I die ATP-Aptamer-Sequenz. In Gegenwart von ATP, das in Krebszellen überexprimiert wird, und EndoGI, einem in Krebszellen vorhandenen Enzym vom Exonuklease-Typ, erfolgt die Rekonfiguration der Haarnadel-Verschleusseinheiten zu den ATP-Aptamer-Komplex-Einheiten, die durch EndoGI abgebaut werden, was zur Freisetzung von CPT führt. B) Zellviabilität von Brustkrebszellen MDA-MB-231 und C) Zellviabilität von normalen Brustzellen MCF-10A nach einer Zeitspanne von 24 h (grau dargestellt) und 48 h (schwarz dargestellt): a) unbehandelte Zellen; b) mit CPT-beladenen mesoporösen SiO₂-NPs behandelte Zellen; c) mit freiem CPT behandelte Zellen; d) mit Oligomycin behandelte Zellen (zur Hemmung der ATP-Produktion), in Gegenwart CPT-beladener mesoporöser SiO₂-NPs. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [45]. Copyright 2013 American Chemical Society.

rösen SiO₂-NPs über eine Zeitspanne von 48 h um 65 % verringerte, sank die Lebensfähigkeit der normalen Zellen nach Behandlung mit den wirkstoffbeladenen mesoporösen SiO₂-NPs unter ähnlichen Bedingungen nur um 20 %. Diese Ergebnisse gehen konform mit der Überproduktion von ATP in den Krebszellen, die zu einer erhöhten Freisetzung des Wirkstoffs in den Krebszellen führt. Die Funktion von ATP bei der Entriegelung der Poren wurde weiter gestützt durch Behandlung der Zellen, die die CPT-beladenen mesoporösen SiO₂-NPs enthielten, mit Oligomycin, einem Hemmer der ATP-Bildung in Zellen.^[47] Unter diesen Bedingungen ging die Zellviabilität nur auf 50 % zurück, im Einklang mit der geringeren ATP-gesteuerten Wirkstofffreisetzung. Außerdem wurde festgestellt, dass die CPT-beladenen mesoporösen SiO₂-NPs, im Vergleich zu mit freiem CPT behandelten Zellen, einen höheren Effekt auf das Absterben von Krebszellen zeigten, vermutlich aufgrund der wirksamen Endozytose der mesoporösen SiO₂-NPs in die Krebszellen.

Bei einer anderen Methode zum Verriegeln und Entriegeln mesoporöser SiO₂-NPs mittels doppelsträngiger DNA-Strukturen wurde ein 9-Acridinamin-Interkalator als funktionelle Einheit zum Verschließen der Poren und zum Aus-

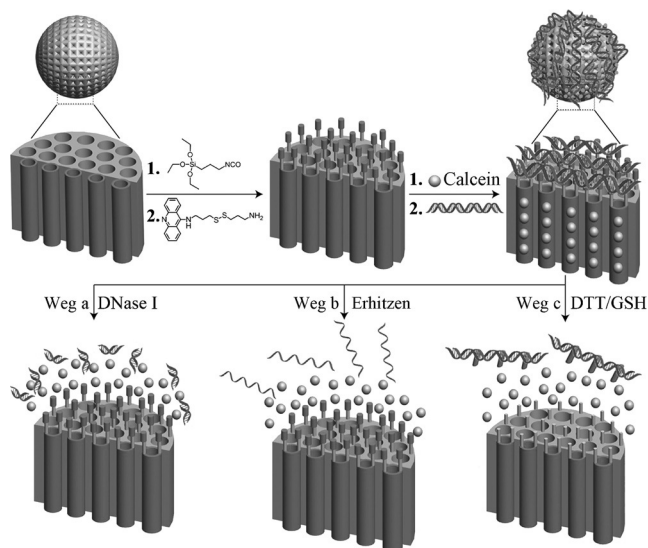


Abbildung 4. Herstellung von Calcein-beladenen mesoporösen SiO_2 -NPs, die verschlossen wurden mit oberflächenmodifizierten 9-Acridinamin-disulfid-Einheiten, die in die doppelsträngige DNA-Struktur interkalieren. Die Entriegelung der Poren und die Freisetzung der Frachten werden durch die Spaltung der Verschlüsse aus Interkalator/Doppelstrang-DNA stimuliert: Weg (a) über den Abbau der doppelsträngigen DNA durch DNase I; Weg (b) über die thermische Trennung der doppelsträngigen DNA; Weg (c) über die Thiol-vermittelte Spaltung der Disulfidbrücken, die die Interkalatoreinheiten mit den NPs verknüpfen. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [48]. Copyright 2013 Wiley-VCH.

lösen ihrer Entriegelung eingesetzt (Abbildung 4).^[48] Das 9-Acridinamin-Derivat wurde kovalent an mesoporöse SiO_2 -NPs gebunden. Es enthält die Acridinamin-Interkalator-Stelle, die an doppelsträngige DNA bindet, und eine spaltbare Disulfidbindung. Die mit 9-Acridinamin-disulfid modifizierten mesoporösen SiO_2 -NPs wurden mit Calcein beladen, und die Poren wurden mit den doppelsträngigen DNA-Einheiten über die supramolekulare Bindung der Interkalatoreinheiten an die Doppelstrang-DNA verschlossen. Die Entriegelung der Poren und die Freisetzung von eingeschlossenem Calcein wurden danach durch drei unterschiedliche Trigger stimuliert. Nach dem einen Mechanismus führte die Behandlung des Systems mit DNase I zur digestiven Spaltung des Doppelstrangs, wodurch die Verschlüsse gespalten wurden und die Calcein-Fracht freigesetzt wurde, Weg (a). Bei einem anderen Mechanismus, Weg (b), wurde die thermische Spaltung der doppelsträngigen Verschlüsseinheiten zur Freisetzung der Fracht angewendet. Ein dritter Mechanismus, die chemisch stimulierte Porenentriegelung, umfasste die Reaktion der mit Interkalator/Doppelstrang-DNA verschlossenen mesoporösen SiO_2 -NPs mit Dithiothreitol (DTT) oder biologisch aktivem Glutathion (GSH). Die Thiole lösen die reduktive Spaltung der Disulfidbrücken aus, die zur Spaltung der Verschlüsse aus Interkalator/Doppelstrang-DNA und zur Freisetzung von Calcein führt, Weg (c). Andere Methoden zum Verschließen mesoporöser SiO_2 -NPs mit Nucleinsäuren beinhalten die elektrostatische Adsorption von einzelsträngiger DNA an positiv geladene aminfunktionalisierte NPs und die Entfernung der verriegelnden DNA-

Verschlüsse durch Bildung energetisch stabilisierter Doppelstränge.^[49]

Mit DNA verschlossene Fe_3O_4 @Au-NPs mit einer mesoporösen SiO_2 -Schicht, die mit dem Tumortherapeutikum Doxorubicin (DOX) beladen waren, wurden als stimuli-responsives Nanomaterial eingesetzt, das die Lebensfähigkeit und das Wachstum von Krebszellen beeinträchtigt (Abbildung 5).^[50] Au-NPs wurden auf magnetischen oktaedrischen Fe_3O_4 -NPs abgeschieden, und die Kern@Hülle- Fe_3O_4 @Au-NPs wurden mit einer SiO_2 -Schicht überzogen, die mit einer Aminopropyltriethoxysilan-Schicht weiter modifiziert wurde (Abbildung 5 A). Die gebildeten Nanopartikel wurden zusätzlich mit einer Maleinimid-Schicht funktionalisiert. DOX

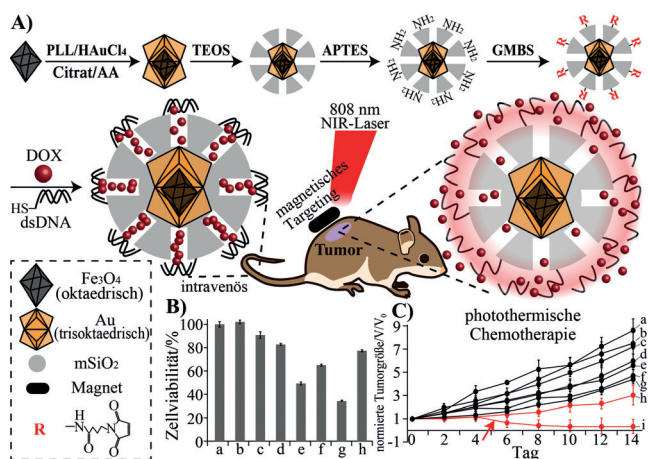


Abbildung 5. A) Herstellung und Anwendung von Fe_3O_4 @Au-Kern@Hülle-Nanopartikeln, die mit einer mesoporösen SiO_2 -Schicht überzogen, mit DOX beladen und mit einer Thiol-modifizierten doppelsträngigen DNA verschlossen wurden, zur magnetischen Lokalisation und thermischen Behandlung von Krebszellen oder HeLa-Tumoren bei Mäusen. Die magnetischen Fe_3O_4 -NPs stellen ein Hilfsmittel dar, um die wirkstofftragenden NPs mittels eines äußeren Magnetfeldes zu lenken und zu lokalisieren. Die Au-Beschichtung der NPs bildet eine plasmonische Schicht zur thermischen Spaltung der doppelsträngigen DNA-Verschlüsseinheiten und zur Freisetzung des Wirkstoffs. B) Lebensfähigkeit von HeLa-Zellen nach einer Zeitspanne von 24 h, die folgendermaßen untersucht wurde: a) Zellen ohne Zusatz; b) Zellen, die nur mit Laserbestrahlung behandelt wurden (10 min, $\lambda = 808$ nm, Laserleistung: 3 W cm^{-2}); c) Zellen in Gegenwart DOX-beladener NPs ohne Bestrahlung oder äußeres Magnetfeld; d) Zellen in Gegenwart unbeladener NPs unter Bestrahlung; e) Zellen in Gegenwart DOX-beladener NPs unter Bestrahlung und einem äußeren Magnetfeld; f) Zellen in Gegenwart unbeladener NPs unter Bestrahlung und einem äußeren Magnetfeld; g) Zellen in Gegenwart DOX-beladener NPs unter Bestrahlung und einem äußeren Magnetfeld; h) Zellen in Gegenwart von freiem DOX ($18.2 \mu\text{M}$). C) Verfolgung des zeitabhängigen Wachstums von HeLa-Tumoren bei Mäusen: a) in Gegenwart unbeladener NPs und unter einem äußeren Magnetfeld; b) Tumorbehandlung mit PBS-Puffer; c) Tumorbehandlung mit PBS-Puffer und Laserbestrahlung (30 min, $\lambda = 808$ nm, Laserleistung: 3 W cm^{-2}); d) in Gegenwart DOX-beladener NPs und unter einem äußeren Magnetfeld; e) in Gegenwart von freiem DOX; f) in Gegenwart DOX-beladener NPs unter Bestrahlung; g) in Gegenwart unbeladener NPs unter Bestrahlung und einem äußeren Magnetfeld; h) in Gegenwart DOX-beladener NPs unter Bestrahlung und einem äußeren Magnetfeld (eine Dosis DOX); i) in Gegenwart DOX-beladener NPs unter Bestrahlung und einem äußeren Magnetfeld (zwei Dosen DOX, der Pfeil zeigt den Zeitpunkt der Injektion der zweiten Dosis). Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [50]. Copyright 2014 American Chemical Society.

wurde in die Poren der mesoporösen SiO₂-Schicht gefüllt, und der Wirkstoff wurde durch die kovalente Bindung einer thiolierten doppelsträngigen Nukleinsäurestruktur an die Maleinimid-Funktionalitäten in den Poren eingeschlossen. Die resultierenden wirkstoffbeladenen NPs wurden in HeLa-Krebszellen eingebracht, und die modifizierten NPs wirkten als thermosensitive Träger für die Freisetzung des Wirkstoffs. Die Bestrahlung der HeLa-Zellen, die die NPs enthielten, mit einem Laser ($\lambda = 808$ nm) hatte eine lokalisierte Erwärmung der NPs zur Folge, die zur Spaltung der doppelsträngigen DNA-Verschlusseinheiten, Entriegelung der Poren und Freisetzung des Wirkstoffs führte. Die magnetische Lokalisation der funktionalisierten NPs und die lichtinduzierte thermische Wirkstofffreisetzung führten zu einer verbleibenden Zellviabilität von ca. 34% nach zwei Stunden magnetischer Anziehung und anschließender Laserbestrahlung über zehn Minuten, während Kontrollexperimente eine wesentlich höhere Zellebensfähigkeit zeigten (Abbildung 5 B). In ähnlicher Weise wurden mit HeLa-Tumoren infizierte Nacktmäuse einer intravenösen (i.v.) Injektion von DOX-beladenen, funktionalisierten NPs unterzogen. Thermo-responsive, wirkstoffbeladene NPs wurden durch einen äußeren Magneten zur Tumorstelle angezogen (über 30 min), danach erfolgte die Bestrahlung des Tumors ($\lambda = 808$ nm, Laserleistung: 3 W cm^{-2} , 30 min). Anschließend wurde die Auswirkung der thermischen Wirkstofffreisetzung auf das Wachstum des Tumors physikalisch verfolgt. Es wurde nachgewiesen, dass das Tumorstadium durch die wirkstoffbeladenen NPs, die durch das Magnetfeld bzw. thermisch aktiviert wurden, im Vergleich zu Kontrollsystemen, die keinen Wirkstoff freisetzen, erheblich gehemmt wurde (Abbildung 5 C). Es wurde außerdem gezeigt, dass die Dosis der i.v. injizierten funktionalisierten NPs das Ausmaß der Hemmung des Tumorstadiums beeinflusst.

Die Bildung der stimuliresponsiven supramolekularen basenspezifischen DNA-Nanostrukturen stellt ein vielseitiges Instrument zum Verschließen und Freisetzen der in mesoporösen SiO₂-NPs eingeschlossenen Frachten dar. Cytosinreiche einzelsträngige Nukleinsäure aggregiert durch Selbstorganisation bei sauren pH-Werten zur i-Motiv-Struktur. Demzufolge wurden mesoporöse SiO₂-NPs mit der C-reichen Nukleinsäure **7** funktionalisiert, und die Poren wurden bei neutralem pH-Wert mit RhB beladen. Indem die beladenen NPs einem pH von 5.0 ausgesetzt wurden, wurden die voluminösen i-Motiv-Strukturen aufgebaut, die die Poren verschlossen (Abbildung 6 A).^[51] Durch Behandlung der NPs bei pH 8.0 wurden die die Verschlüsse bildenden i-Motiv-Strukturen in Zufallsknäuel aufgetrennt, was zur Freisetzung von RhB aus den Poren führte (Abbildung 6 B). Durch periodischen Wechsel des pH zwischen 8.0 und 5.0 wurde die An/Aus-Schaltung der Freisetzung von RhB aus den Poren demonstriert (Abbildung 6 B, Einschub). In einer ähnlichen Studie^[52] wurden mesoporöse SiO₂-NPs mit der Nukleinsäure **8** funktionalisiert. Au-NPs wurden mit der C-reichen Nukleinsäure **9** modifiziert, die teilweise komplementär zu **8** ist. RhB wurde in die mit **8** funktionalisierten mesoporösen SiO₂-NPs gefüllt, und die Hybridisierung der mit **9** modifizierten Au-NPs mit dem Strang **8** ergab doppelsträngige Strukturen, wobei die Au-NPs die Poren verschlossen. Unter sauren Be-

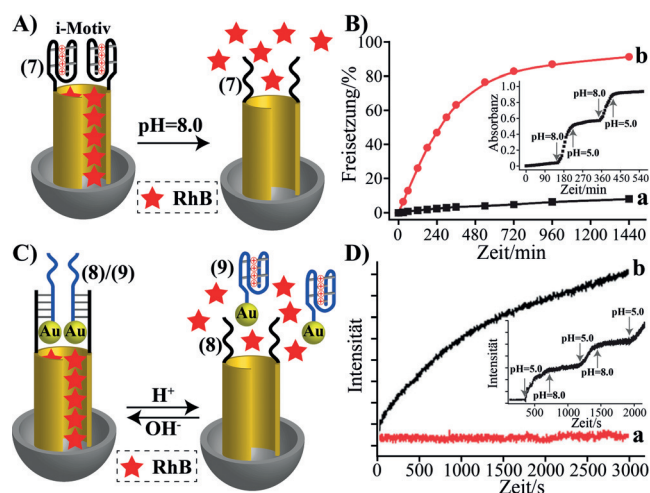


Abbildung 6. pH-Stimulierte Freisetzung von Frachten aus mesoporösen SiO₂-NPs, die mit pH-empfindlicher DNA verschlossen wurden: mit i-Motiv-Einheiten verriegelte, farbstoffbeladene mesoporöse SiO₂-NPs, die durch Aufspaltung der die Verschlüsse bildenden i-Motiv-Strukturen bei pH 8.0 entriegelt werden. B) Zeitabhängige Fluoreszenzänderung nach pH-stimulierter Entriegelung der Poren und Freisetzung der RhB-Fracht: a) Bei pH 5.0 werden die Poren durch die i-Motiv-Einheiten verriegelt. (b) Bei pH 8.0 werden die Poren entriegelt. Einschub: Schaltbare Verriegelung/Entriegelung der Poren und kontrollierte Freisetzung des Farbstoffs bei pH 5.0 bzw. 8.0. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [51]. Copyright 2011 Oxford University Press. C) Verwendung pH-responsiver doppelsträngiger DNA-Nanostrukturen, die mit Au-NPs funktionalisiert wurden, als Verschlusseinheiten für den Einschluss von RhB-Frachten in mesoporöse SiO₂-NPs. Die pH-stimulierte Entriegelung der Poren und die Freisetzung von RhB werden durch die Abtrennung der mit i-Motiv funktionalisierten Au-NPs von den Verschlusseinheiten (pH 5.0) stimuliert. D) Zeitabhängige Freisetzung des Farbstoffs, wobei: a) die Poren bei pH 8.0 mit den doppelsträngigen DNA-Nanostrukturen, die mit Au-NPs funktionalisiert sind, verriegelt werden; b) die Poren bei pH 5.0 entriegelt werden. Einschub: Schaltbare Verriegelung/Entriegelung der Poren. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [52]. Copyright 2011 Royal Society of Chemistry.

dingungen erfolgte die Rekonfiguration des Strangs **9** zur i-Motiv-Struktur, was zur Abtrennung der Au-NP-Verschlüsse und zur Freisetzung von RhB aus den Poren führte (Abbildung 6 C und D). Durch das zyklische Schalten des pH des Systems zwischen 5.0 und 8.0 wurde das System zwischen An- und Aus-Zustand der Freisetzung geschaltet (Abbildung 6 D, Einschub). Die pH-stimulierte Freisetzung der Frachten aus mesoporösen SiO₂-NPs ist von großer Bedeutung, da Krebszellen gegenüber normalen Zellen einen sauren pH-Wert aufweisen. Dementsprechend kann die gezielte und kontrollierte Freisetzung von Chemotherapeutika in Krebszellen ins Auge gefasst werden.

G-Quadruplex-Strukturen stellen eine weitere supramolekulare Anordnung von Nukleinsäuresträngen dar. Die G-Quadruplexe werden durch K⁺-Ionen stabilisiert, und K⁺-stabilisierte G-Quadruplexe liefern voluminöse Nanostrukturen zum Einschließen von Frachten in mesoporösen SiO₂-NPs. Abbildung 7 A veranschaulicht die Verwendung eines G-Quadruplexes als stimuliresponsiven Verschluss zur kontrollierten Freisetzung der RhB-Fracht.^[53] Die mesoporösen SiO₂-NPs wurden mit der thiolierten G-reichen Nukleinsäure

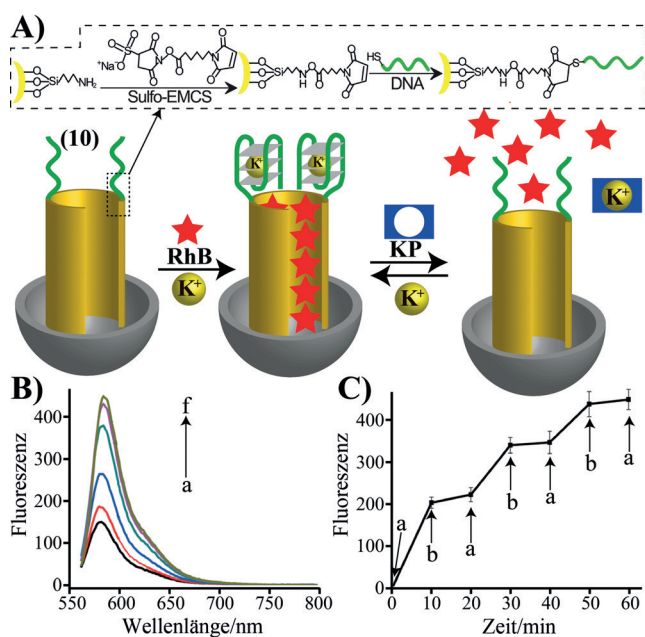


Abbildung 7. A) Herstellung von RhB-beladenen mesoporösen SiO₂-NPs, die durch K⁺-stabilisierte G-Quadruplex-Einheiten verschlossen werden. Die Entriegelung der Poren und die Freisetzung von RhB werden über die durch Kryptofix[2.2.2] induzierte Aufspaltung der G-Quadruplexe, über die Abspaltung der K⁺-Ionen, bewirkt. Die Freisetzung von RhB wird durch die zyklische Behandlung der NPs mit Kryptofix[2.2.2] bzw. K⁺-Ionen zwischen An- und Aus-Zustand geschaltet. B) Fluoreszenzspektrum von RhB, das aus den mesoporösen SiO₂-NPs freigesetzt wurde (nach einer festgelegten Zeitspanne von 1 h), nach Behandlung mit unterschiedlichen Konzentrationen an Kryptofix[2.2.2]: a) 0 mM; b) 0,5 mM; c) 1 mM; d) 5 mM; e) 10 mM; f) 50 mM. C) Schaltbare und zyklische Freisetzung von RhB aus den mit G-Quadruplexen verschlossenen Poren nach Behandlung mit: a) Kryptofix[2.2.2]; b) K⁺-Ionen. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [53]. Copyright 2014 Wiley-VCH.

10 modifiziert und danach mit RhB beladen. In Gegenwart von K⁺-Ionen erfolgte die Rekonfiguration der Stränge **10** zum K⁺-stabilisierten G-Quadruplex, der die Poren verschloss. In Gegenwart von Kryptofix[2.2.2] wurden die stabilisierenden K⁺-Ionen aus den G-Quadruplex-Einheiten abgespalten, wodurch die Freisetzung der RhB-Fracht erfolgte (Abbildung 7B). Durch stufenweise Behandlung des Systems mit K⁺-Ionen und Kryptofix[2.2.2] wurden die NPs jeweils zwischen dem verriegelten und entriegelten Zustand geschaltet (Abbildung 7C). Viele andere Nukleinsäurestränge bilden in Gegenwart geeigneter Liganden K⁺-stabilisierte Aptamer-Ligand-Komplexe in Form von G-Quadruplexen, z. B. den Aptamer-Thrombin-Komplex. Diese Komplexe wurden als Verriegelungen von mesoporösen SiO₂-NPs eingesetzt, und sie wurden ebenso durch die Zugabe von Kryptofix[2.2.2] entriegelt. Eine andere Methode zur Entriegelung der Poren mittels G-Quadruplex-Einheiten ist in Abbildung 8A veranschaulicht. Die mesoporösen SiO₂-NPs wurden mit der Nukleinsäure **11** funktionalisiert, mit unterschiedlichen Gastsustriaten beladen und durch die als Verschlüsse fungierenden Hybrid-Doppelstränge von **11** und **12** in den Poren eingeschlossen. Die Nukleinsäure **12** wurde so aufgebaut, dass sie eine G-reiche Sequenz enthält, die in den

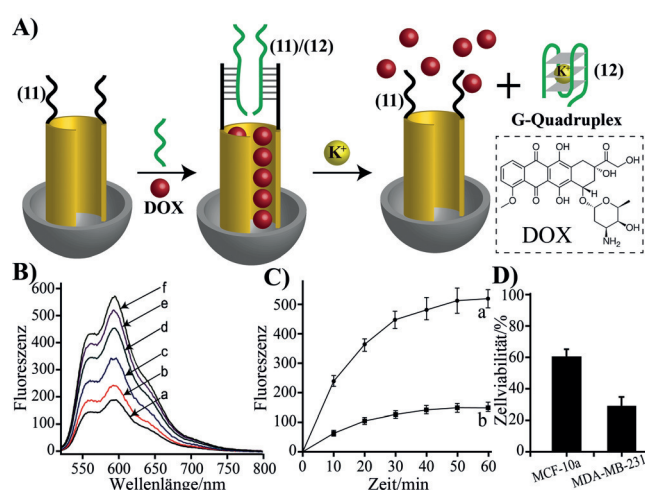


Abbildung 8. A) Herstellung von DOX-beladenen mesoporösen SiO₂-NPs, die durch die doppelsträngige Nukleinsäurestruktur **11/12** verschlossen werden, wobei der Strang **12** eine „eingeschlossene“ G-reiche Sequenz enthält, die zur Bildung eines G-Quadruplexes imstande ist. In Gegenwart von K⁺-Ionen wird der Strang **12** durch die Bildung eines K⁺-stabilisierten G-Quadruplex abgetrennt, was zur Freisetzung von DOX führt. B) Fluoreszenzspektrum von freigesetztem DOX nach Behandlung der DOX-beladenen mesoporösen SiO₂-NPs, über eine festgelegte Zeitspanne von 1 h, mit unterschiedlichen Konzentrationen an K⁺-Ionen: a) 0 mM; b) 0,5 mM; c) 1 mM; d) 5 mM; e) 10 mM; f) 50 mM. C) Zeitabhängige Fluoreszenzänderungen nach der Freisetzung von DOX aus den Poren: a) in Gegenwart von K⁺-Ionen, 10 mM; b) in Abwesenheit von K⁺-Ionen. D) Lebensfähigkeit von Brustkrebszellen MDA-MB-231 und von normalen Brustzellen MCF-10A, nach Wechselwirkung mit den mit **11/12** verriegelten, DOX-beladenen NPs über eine Zeitspanne von 18 h. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [53]. Copyright 2014 Wiley-VCH.

Doppelstrangstrukturen eingeschlossen ist. In Gegenwart von K⁺-Ionen wird der Doppelstrang durch die Bildung des K⁺-stabilisierten G-Quadruplexes getrennt, was zur Freisetzung der Fracht führt.^[53] Speziell wurde das Chemotherapeutikum Doxorubicin (DOX) in NPs gefüllt, die mit dem **11/12**-Doppelstrang verschlossen wurden, und anschließend durch die K⁺-ausgelöste Aufspaltung der G-Quadruplexe aus den Poren freigesetzt (Abbildung 8B und C). Die Zytotoxizität der DOX-beladenen NPs gegen normale Brustepithelzellen (MCF-10A) und Brustkrebszellen (MDA-MB-231) wurde mit den intrazellulären Mengen an K⁺-Ionen als Entriegelungs-Trigger untersucht. Es wurde gefunden, dass nach einer Inkubationszeit von 18 h nur ca. 40% der normalen Zellen abgetötet wurden, während unter ähnlichen Bedingungen ein Absterben von 70% der Krebszellen beobachtet wurde (Abbildung 8D). Die höhere zytotoxische Wirkung der DOX-beladenen NPs auf die Krebszellen wurde auf eine erhöhte Endozytose der NPs in diese Zellen zurückgeführt.^[53]

Eine weitere supramolekulare DNA-Nanostruktur, die als stimuliresponsiver Verschluss zur kontrollierten Freisetzung von Chemotherapeutika aus mesoporösen SiO₂-NPs verwendet wurde, sind mit einem Interkalator stabilisierte Adenosin-Quadruplexe.^[54] Dies wurde demonstriert durch die Beladung der NPs mit Indocyaningrün (ICG), einem im Nahinfrarotbereich (NIR) ansprechenden Chromophor, und mit dem Alkaloid Coralyne, das für seine chemotherapeuti-

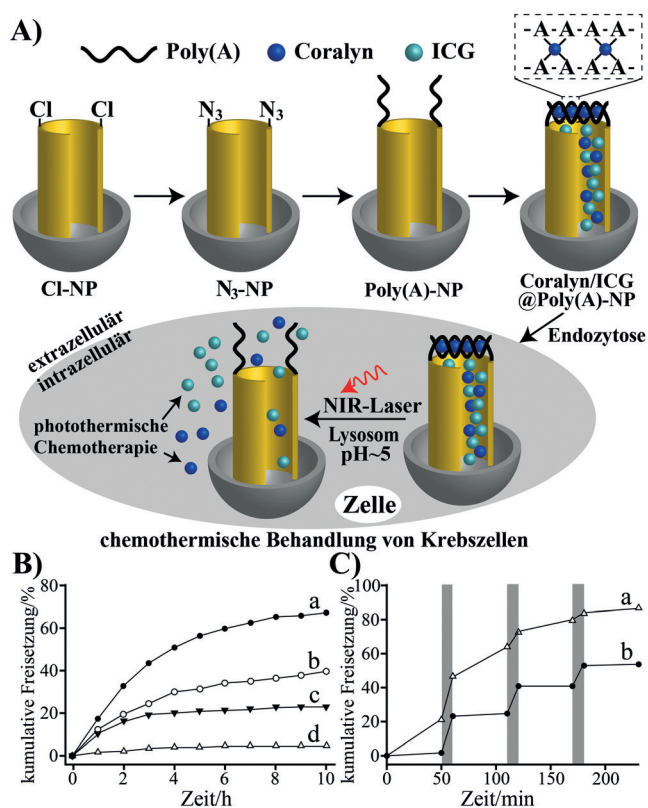


Abbildung 9. A) Herstellung von mit Coralyn und Indocyaningrün (ICG) beladenen mesoporösen SiO₂-NPs, die mit Coralyn/Poly(A)-Verschlussseinheiten verschlossen werden, sowie chemothermische Freisetzung des Wirkstoffs Coralyn durch eine Umgebung mit saurem pH-Wert und thermische Spaltung der Verschlussseinheiten durch Bestrahlung des Farbstoffs ICG, mit einem hohen Wirkungsgrad der Umwandlung von NIR-Licht in Wärme. Das Schema zeigt die Auswirkung des intrazellulären sauren pH-Wertes in Krebszellen und der Bestrahlung mit einem NIR-Laser auf die Freisetzung des Wirkstoffs Coralyn aus den NPs. B) Zeitabhängige Absorptionsänderung von freigesetztem Coralyn, nach Behandlung der mit Coralyn/Poly(A) verschlossenen mesoporösen SiO₂-NPs in unterschiedlichen pH-Umgebungen: a) pH 4.0; b) pH 5.0; c) pH 6.0; d) pH 7.0. C) Schaltbare zeitabhängige Absorptionsänderungen entsprechend der Freisetzung von Coralyn nach Entriegelung der mit Coralyn/Poly(A) verschlossenen NPs in zwei unterschiedlichen pH-Umgebungen: a) pH 5.0; b) pH 7.0. Die grauen Balken entsprechen den Zeitspannen, in denen eine kooperative thermische Entriegelung des Systems durch die Bestrahlung mit einem NIR-Laser ($\lambda = 780 \text{ nm}$, Laserleistung: 2 W cm^{-2}) erfolgt. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [54]. Copyright 2014 Royal Society of Chemistry.

sche Wirkung bekannt ist. Die Poren wurden durch die weitere Interkalation von Coralyn-Einheiten in die mit Poly(A) assoziierten Adenosin-Quadruplex-Einheiten verschlossen. Durch lokalisierte Erwärmung der Verschlüsse mittels NIR-Anregung von ICG oder durch pH-stimulierte Aufspaltung der A-Quadruplexe wurde der Wirkstoff Coralyn freigesetzt (Abbildung 9A). Die Freisetzungsraten von Coralyn bei unterschiedlichen pH-Werten und nach Erwärmung der NPs durch NIR-Anregung sind in Abbildung 9B und C dargestellt. Die potenzielle therapeutische Anwendung dieser chemothermischen, NIR-responsiven NPs wurde durch das Einbringen der NPs in Krebszellen HepG2 demonstriert. Es wurde beschrieben, dass eine Zellkultur, die 10 min mit einem

NIR-Laser bestrahlt wurde (780 nm , 2 W cm^{-2}), eine Zellviabilität von nur 23.8% nach einer Zeitspanne von 48 h aufwies, während die nicht bestrahlte Zellkultur nach dieser Zeitspanne eine Zellviabilität von ca. 60% ergab. Die wirksame chemothermische Freisetzung von Coralyn deutet darauf hin, dass durch lokale Bestrahlung des NIR-Chromophors die Freisetzung von Coralyn gezielt auf Tumoren gelenkt werden könnte.

Aptamer-modifizierte mesoporöse SiO₂-NPs wurden genutzt, um über die Bildung von Aptamer-Ligand-Komplexen die Frachten in mesoporösen SiO₂-NPs einzuschließen und die Entriegelung der Poren auszulösen.^[55] So wurden beispielsweise mesoporöse SiO₂-NPs mit den Nucleinsäuren **13** und **14** funktionalisiert, die teilweise komplementär zur ATP-Aptamer-Sequenz **15** sind (Abbildung 10A). Die mesoporösen SiO₂-NPs wurden mit dem Farbstoff Ru^{II}-Tris(bipyridin) beladen und mit dem **13 + 14/15**-Doppelstrang verschlossen. In Gegenwart von ATP als Trigger wurde das energetisch stabilisierte ATP-Aptamer gebildet, was zur Entriegelung der Poren und Freisetzung der fluoreszierenden Fracht führte. Bei einer ähnlichen Methode wurden mit den anti-Adenosin-Aptamer- oder den ATP-Aptamer-Einheiten modifizierte Au-Nanopartikel als Verschlussseinheiten der Poren eingesetzt.^[56] In Gegenwart von Adenosin oder ATP wurden durch die selektive ATP-angefasste Bildung des ATP-Aptamer-Komplexes die Poren entriegelt, wodurch die in den Poren eingeschlossenen Frachten freigesetzt wurden. So veranschaulicht Abbildung 10B die Entriegelung mesoporöser SiO₂-NPs, die mit RhB als Fluorophor beladen sind, unter Anwendung der Bildung des Adenosin-Aptamer-Komplexes als porenöffnenden Mechanismus.^[56a] Die NPs wurden mit der Nucleinsäure **16** funktionalisiert und mit RhB beladen. Anschließend wurden die Poren durch die Hybridisierung der mit **17** modifizierten Au-NPs unter Bildung der doppelsträngigen **16/17**-Verschlussseinheiten verschlossen. Die Nucleinsäure **17** enthält die anti-Adenosin-Aptamer-Sequenz, und diese war teilweise in der Doppelstrangstruktur „eingeschlossen“. In Gegenwart von Adenosin wurden die Poren durch die Abspaltung der eingeschlossenen Aptamersequenz, über die Bildung des Adenosin-Aptamer-Komplexes, entriegelt, was zur Freisetzung von RhB führte (Abbildung 10C). In ähnlicher Weise wurde die strukturelle Rekonfiguration von Haarnadelstrukturen unter Verschließen der Poren durch die Bildung eines ATP-Aptamer-Komplexes als funktionelles Motiv zur Entriegelung der Poren genutzt.^[45]

Eine Methode zur gezielten Freisetzung von Tumortheraeutika in Krebszellen ist mit der Anwendung eines spezifischen Aptamers gegen Krebs verbunden, mit dem die Wirkstoffe in den porösen Materialien eingeschlossen und die Poren durch die Bildung des spezifischen Aptamer-Ligand-Komplexes entriegelt werden.^[57] Mesoporöse SiO₂-NPs wurden mit DOX beladen und mit der einen G-Quadruplex enthaltenden DNA **18** verschlossen. DNA **18** bildet doppelsträngige Hybridisierungsverschlüsse mit den Strängen der Nucleinsäure **19**, die mit den NPs assoziiert sind. Die G-Quadruplex-Domäne I von **18** entspricht der Aptamersequenz, die an die AS1411-Rezeptorstellen bindet, die sich an Krebszellen befinden, während die Domäne II komplementär zu miR-21, einem Biomarker für die Krebszelle, ist. Die

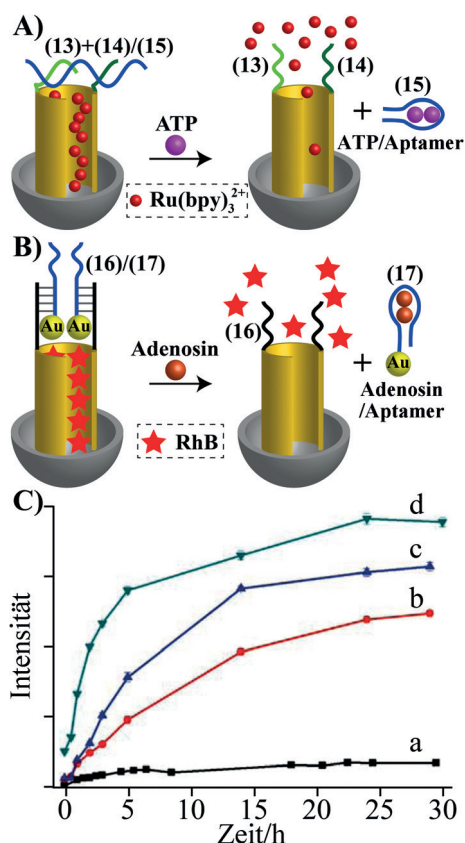


Abbildung 10. A) Herstellung von $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ -beladenen mesoporösen SiO_2 -NPs, die mit dem ATP-Aptamer-Strang **15** verschlossen werden, der die Nukleinsäuregerüste **13** und **14** miteinander verbindet. In Gegenwart von ATP werden die Verschlusseinheiten, durch Bildung des ATP-Aptamer-Komplexes, aufgespalten, was zur Freisetzung von $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ führt. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [55]. Copyright 2012 American Chemical Society. B) Herstellung von RhB-beladenen mesoporösen SiO_2 -NPs, die mit doppelsträngigen DNA-Nanostrukturen verschlossen werden, die aufgebaut sind aus der an die SiO_2 -NPs gebundenen Nukleinsäure **16** und den mit der Nukleinsäure **17** funktionalisierten Au-NPs. Der Strang **17** enthält die Adenosin-Aptamer-Sequenz. In Gegenwart von Adenosin spaltet sich der Adenosin/Au-NP-funktionalisierte Aptamer-Komplex, wodurch die Entriegelung der Poren und die Freisetzung von RhB erfolgen. C) Zeitabhängige Fluoreszenzänderung nach der Freisetzung von RhB aus den mesoporösen SiO_2 -NPs in Gegenwart unterschiedlicher Konzentrationen an Adenosin: a) 0; b) 5 mM; c) 10 mM; d) 20 mM. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [56a]. Copyright 2011 Royal Society of Chemistry.

Aptamerstelle stellt das Zielelement für die Assoziation und das Einbringen der NPs in die Krebszellen dar. Durch nachgelagerte Strangverdrängung in den Verschlüssen durch miR-21, die in der Zelle abläuft, wurden die Poren entriegelt, wodurch der Wirkstoff freigesetzt wurde (Abbildung 11 A). Die Freisetzung des Wirkstoffs wurde durch die Konzentration des Biomarkers miR-21 gesteuert (Abbildung 11 B). In einem ähnlichen System wurde Strontiumhydroxyapatit als poröses Material zur Wirkstofffreisetzung und Bildgebung von Krebszellen angewendet.^[58] In diesem System wurde DOX in die Poren von Strontiumhydroxyapatit gefüllt, und die Poren wurden mit den anti-AS1411-Rezeptor-Aptamer-Einheiten verschlossen. Das gebildete, mit dem Hybrid ver-

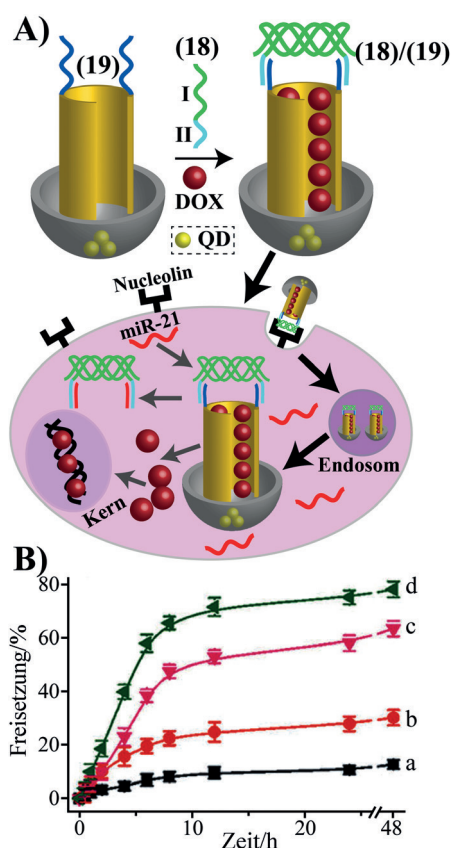


Abbildung 11. A) Herstellung von DOX-beladenen mesoporösen SiO_2 -NPs, die mit dem Aptamer AS1411 zum gezielten Transport zu Krebszellen verschlossen werden. Die Aptamer-Domäne I wird mit den Strängen II verlängert, die Komplementarität zu den mit den NPs assoziierten Strängen **19** und eine verbesserte Komplementarität zu miR-21 als Biomarker für Krebszellen aufweisen. Das Schema veranschaulicht den „smarten“ Mechanismus für die Freisetzung von DOX in Krebszellen, wobei das Aptamer AS1411 gezielt die Krebszellen ansteuert und die Endozytose der NPs in die Zellen, die intrazelluläre Entriegelung der Poren und die Freisetzung des Wirkstoffs in Gegenwart von miR-21 ermöglicht. B) Zeitabhängige Fluoreszenzänderungen nach der In-vitro-Freisetzung von DOX aus den mesoporösen SiO_2 -NPs, die mit dem Aptamer AS1411 verschlossen sind, in Gegenwart unterschiedlicher Verhältnisse von miR-21 zum Komplex **18/19**: a) ohne miR-21; b) 1:1; c) 2:1; d) 3:1. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [57]. Copyright 2014 Wiley-VCH.

schlossene Material wurde gezielt zu den Krebszellen (MCF-7) transportiert, und durch Entriegelung der Poren durch Assoziation des Aptamers an die Rezeptorstellen wurde der Wirkstoff freigesetzt.

Katalytisch wirkende Nukleinsäuren, DNAzyme, wurden zur Verriegelung und Entriegelung substratbeladener mesoporöser SiO_2 -NPs eingesetzt. Abbildung 12 A veranschaulicht das Verschließen substratbeladener mesoporöser SiO_2 -NPs mit sequenzspezifischen Metallionen-abhängigen DNAzymen und die selektive Freisetzung des eingeschlossenen Substrats über die Aktivierung der DNAzyme, in Gegenwart der entsprechenden Ionen.^[59] Die mesoporösen SiO_2 -NPs wurden mit der Ribonukleobase enthaltenden Nukleinsäure **20** modifiziert, die als Substrat entweder für das Mg^{2+} - oder das Zn^{2+} -abhängige DNAzym fungiert. Eine Gruppe von NPs

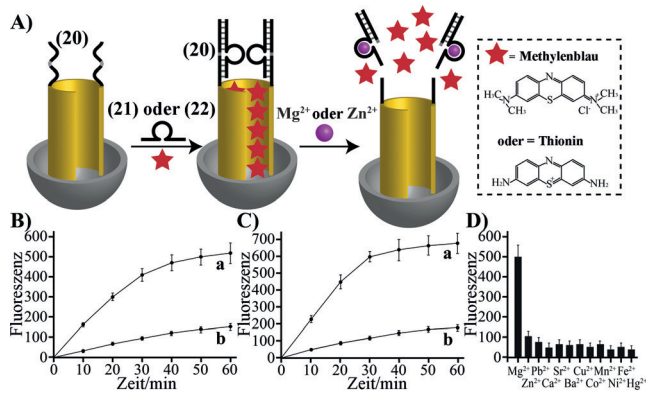


Abbildung 12. A) Beladung mesoporöser SiO_2 -NPs mit Mb^+ oder Th^+ und Verschießen der Poren mit den entsprechenden Sequenzen des Metallionen-abhängigen DNAzym und des Substrats, wobei die metallabhängigen DNAzyme Mg^{2+} - oder Zn^{2+} -abhängige DNAzyme sind und die jeweiligen Substrate kovalent an die NPs gebunden sind. Die Entriegelung der Poren verläuft über die Aktivierung der DNAzyme durch die entsprechenden Ionen, was zur Spaltung der Substrate und zur Ablösung der Verschlussseinheiten führt. B) Zeitabhängige Änderungen der Fluoreszenz nach Mg^{2+} -ausgelöster Freisetzung von Mb^+ aus mesoporösen SiO_2 -NPs, die mit dem Mg^{2+} -abhängigen DNAzym und dem Substrat verschlossen sind: a) mit Mg^{2+} , 10 mM; b) in Abwesenheit von Mg^{2+} -Ionen. C) Zeitabhängige Fluoreszenzänderung nach Zn^{2+} -ausgelöster Freisetzung von Th^+ aus mesoporösen SiO_2 -NPs, die mit dem Zn^{2+} -abhängigen DNAzym und dem Substrat verschlossen sind: a) mit Zn^{2+} , 5 mM; b) in Abwesenheit von Zn^{2+} -Ionen. D) Ergebnisse, die die selektive Freisetzung von Mb^+ aus mesoporösen SiO_2 -NPs, die mit dem Mg^{2+} -abhängigen DNAzym und dem Substrat verschlossen sind, in Gegenwart von Mg^{2+} -Ionen demonstrieren. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [59]. Copyright 2013 American Chemical Society.

wurde mit Methylblau (Mb^+) beladen und mit der Mg^{2+} -abhängigen DNAzym-Sequenz **21** verschlossen. Die zweite Gruppe von NPs wurde mit Thionin (Th^+) beladen und mit der Zn^{2+} -abhängigen DNAzym-Sequenz **22** verschlossen. In Gegenwart von Mg^{2+} - oder Zn^{2+} -Ionen wurde das jeweilige System der mit dem DNAzym verschlossenen, beladenen NPs aktiviert, was zur Freisetzung von Mb^+ (Abbildung 12B) oder Th^+ (Abbildung 12C) führte. Die Selektivität hinsichtlich der Entriegelung der Poren durch die spezifischen, als Kofaktor wirkenden Ionen, die das DNAzym aktivieren, wurde demonstriert. Abbildung 12D zeigt die Ionenselektivität der Mg^{2+} -abhängigen DNAzym-Sequenz für die Freisetzung von Mb^+ in Gegenwart hinzugegebener Mg^{2+} -Ionen. In ähnlicher Weise wurden durch die Behandlung eines Gemischs der NPs mit Mg^{2+} - und Zn^{2+} -Ionen beide Arten der NPs entriegelt, was die Freisetzung von Mb^+ und Th^+ zur Folge hatte. Die DNAzym-stimulierte Entriegelung substratbeladener mesoporöser SiO_2 -NPs wurde auf die Entwicklung pH-programmierbarer stimuliensensitiver NPs erweitert, die durch unterschiedliche Metallionen aktiviert werden (Abbildung 13A).^[60] Das Mg^{2+} -abhängige DNAzym zeigt eine hohe Aktivität bei pH 7.2 und ist inaktiv bei pH 5.2. Demgegenüber ist das UO_2^{2+} -abhängige DNAzym bei pH 7.2 inaktiv, weist aber bei pH 5.2 eine hohe Aktivität auf. Bei pH 6.0 zeigen beide DNAzyme eine mittlere Aktivität. Dementsprechend wurden zwei Klassen von mit DNAzym ver-

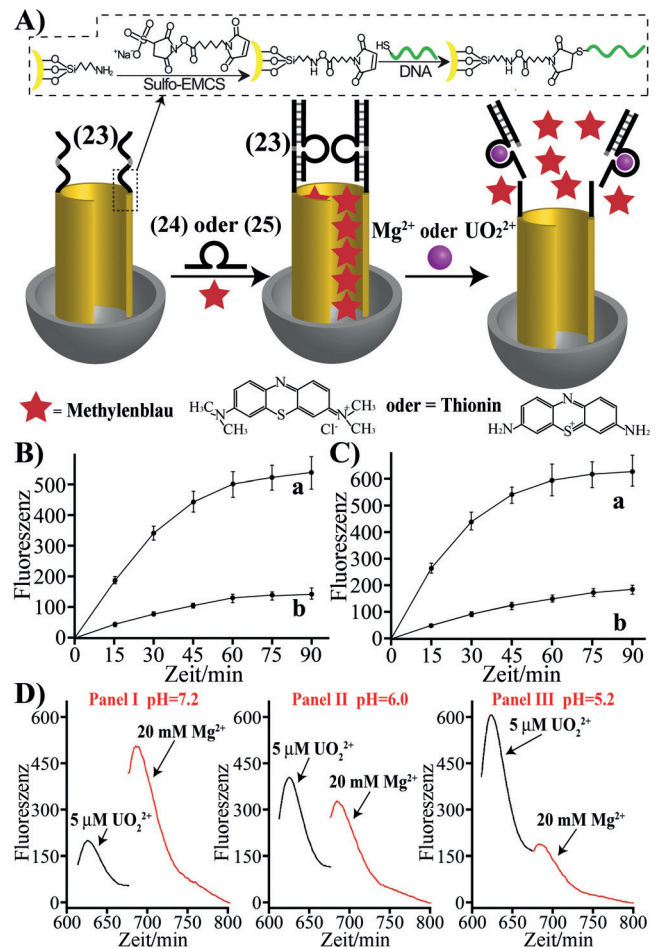


Abbildung 13. A) pH-programmierte Freisetzung von Frachten (Mb^+ oder Th^+) aus mesoporösen SiO_2 -NPs, die mit dem Metallionen-abhängigen DNAzym und dem Substrat verschlossen sind (Metallionen = Mg^{2+} und/oder UO_2^{2+}). Bei pH 7.2 wird das Mg^{2+} -abhängige DNAzym ausgelöst, was zur Freisetzung von Mb^+ führt, das UO_2^{2+} -abhängige DNAzym ist jedoch inaktiv. Bei pH 5.2 ist nur das UO_2^{2+} -abhängige DNAzym aktiv, was die Freisetzung von Th^+ zur Folge hat. Bei pH 6.0 zeigen das Mg^{2+} - und das UO_2^{2+} -abhängige DNAzym eine partielle Aktivität, wodurch beide Arten der mesoporösen SiO_2 -NPs entriegelt werden. B) Zeitabhängige Fluoreszenzänderungen nach Aktivierung mesoporöser SiO_2 -NPs, die mit dem Mg^{2+} -abhängigen DNAzym und dem Substrat verschlossen sind, bei pH 7.2 und nach Freisetzung der Mb^+ -Frachten: a) in Gegenwart von Mg^{2+} , 20 mM; b) ohne Mg^{2+} -Zusatz. C) Zeitabhängige Fluoreszenzänderungen nach Aktivierung mesoporöser SiO_2 -NPs, die mit dem UO_2^{2+} -abhängigen DNAzym und dem Substrat verschlossen sind, bei pH 5.2 und nach Freisetzung der Th^+ -Frachten: a) in Gegenwart von UO_2^{2+} , 5 μM ; b) ohne UO_2^{2+} -Zusatz. D) pH-programmierte logische Aktivierung des Gemischs von mesoporösen SiO_2 -NPs, die mit Mb^+ oder Th^+ beladen und mit der Einheit aus dem Mg^{2+} - oder UO_2^{2+} -abhängigen DNAzym und dem Substrat verschlossen wurden. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [60]. Copyright 2014 Royal Society of Chemistry.

schlossenen mesoporösen SiO_2 -NPs hergestellt. Mesoporöse SiO_2 -NPs wurden mit der Ribonukleinsäure **23** funktionalisiert, die als Substrat für das Mg^{2+} - oder das UO_2^{2+} -abhängige DNAzym diente. Eine Klasse von mesoporösen SiO_2 -NPs (Klasse I) wurde mit Mb^+ beladen und mit der Mg^{2+} -abhängigen DNAzym-Sequenz **24** verschlossen. Die zweite Klasse von mesoporösen SiO_2 -NPs (Klasse II) wurde mit Th^+ bela-

den und mit der UO_2^{2+} -abhängigen DNAzym-Sequenz **25** verschlossen (Abbildung 13A). Bei pH 7.2 und in Gegenwart von Mg^{2+} -Ionen wurde das Mg^{2+} -abhängige DNAzym aktiviert, und die mesoporösen SiO_2 -NPs der Klasse I wurden entriegelt, wodurch Mb^+ freigesetzt wurde (Abbildung 13B). Im Gegenzug führte die Behandlung der mesoporösen SiO_2 -NPs der Klasse II mit UO_2^{2+} bei pH 5.2 zur selektiven Entriegelung der NPs der Klasse II und zur Freisetzung von Th^+ (Abbildung 13C). Nachdem die zwei Klassen von NPs gemischt worden waren und das Gemisch den Mg^{2+} - und UO_2^{2+} -Ionen ausgesetzt wurde, erfolgte die Freisetzung beider Frachten (Mb^+ und Th^+). Die unterschiedliche pH-Abhängigkeit des Mg^{2+} - und UO_2^{2+} -abhängigen DNAzyms ermöglichte die pH-programmierte Freisetzung der Frachten (Abbildung 13D). Bei pH 7.2 wurden nur das Mg^{2+} -abhängige DNAzym und die Freisetzung von Mb^+ aktiviert, während bei pH 5.2 nur das UO_2^{2+} -abhängige DNAzym aktiviert wurde und die Freisetzung von Th^+ erfolgte. Demgegenüber wurden bei pH 6.0 beide DNAzyme aktiviert, und die Freisetzung von Mb^+ und Th^+ lief ab. Die programmierte Freisetzung der Frachten aus den Nukleinsäure-funktionalisierten mesoporösen NPs folgt den grundlegenden Konzepten von Logikgatter-Systemen. Tatsächlich befassten sich neuere Berichte mit dem Wechselspiel zwischen stimuliresponsiven, Nukleinsäure-funktionalisierten mesoporösen SiO_2 -NPs als Träger für die Beladung und als Funktionsbausteine für Operationen von Logikgattern.^[61]

Die katalytischen Eigenschaften von Metallionen-abhängigen DNAzymen wurden mit den Funktionen der spezifischen Erkennung von Aptameren kombiniert, um stimuli-responsive verschlossene NPs zu erhalten, die als funktionaler Wirkstoffträger zur Erkennung und Behandlung fungieren.^[59] Es wurde beschrieben, dass die Auftrennung von zwei metallabhängigen Untereinheiten durch zweifachen Nukleinsäureinschub in Gegenwart des entsprechenden Metallions als Kofaktor die katalytischen Funktionen des DNAzyms deaktiviert, vermutlich aufgrund der Flexibilität der Schleife, die die Stabilisierung der DNAzym-Struktur verhindert. Es wurde jedoch festgestellt, dass durch Verfestigung des flexiblen Einschubstrangs, z.B. durch Bildung eines Aptamer-Ligand-Komplexes, die steife Struktur der DNAzym-Schleife wiederhergestellt wird, womit die Reaktivierung der katalytischen Eigenschaften des DNAzyms ermöglicht wird (Abbildung 14A).^[59] Die allosterische Aktivierung eines DNAzyms durch einen Aptamer-Ligand-Komplex wurde demonstriert durch das Beladen der mit **20** modifizierten mesoporösen SiO_2 -NPs mit dem Modellbeladungssubstrat Mb^+ oder dem Tunorthapeutikum DOX und das Verschließen der Poren mit der Mg^{2+} -abhängigen DNAzym-Sequenz **26**, die das anti-ATP-Aptamer als funktionelle Einschubsequenz enthielt. In Gegenwart von Mg^{2+} -Ionen wurde die Freisetzung der Frachten verhindert, aufgrund der inaktiven Konformation der DNAzym-Sequenz. In Gegenwart von Mg^{2+} -Ionen und ATP wurde die aktive Schleifenstruktur des Mg^{2+} -abhängigen DNAzyms durch Bildung des ATP-Aptamer-Komplexes verfestigt, was zur Freisetzung der Frachten führte. Abbildung 14B veranschaulicht die erhöhte Freisetzung von DOX in Gegenwart von Mg^{2+} -Ionen und ATP als Stimuli. Die Tatsache, dass ATP in Krebszellen aufgrund

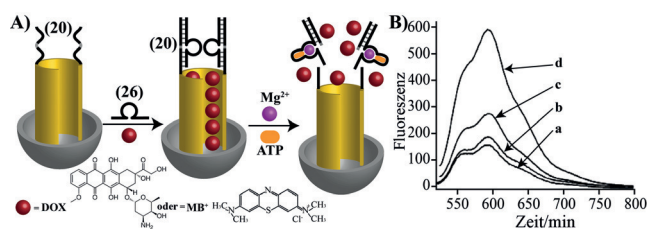


Abbildung 14. A) Herstellung von Mb^+ - oder DOX-beladenen mesoporösen SiO_2 -NPs, die mit Verschlusseinheiten aus dem mit einem ATP-Aptamer modifizierten Mg^{2+} -abhängigen DNAzym und dem Substrat verriegelt werden. Die Entriegelung der Poren und die Freisetzung der Frachten werden durch die kooperative Aktivierung des DNAzyms in Gegenwart von Mg^{2+} -Ionen und ATP ausgelöst. B) Fluoreszenzspektren entsprechend dem freigesetzten DOX, nach einer festgelegten Zeitspanne von 1 h: a) ohne Zusatz von Mg^{2+} -Ionen und ATP; b) nach Behandlung der NPs mit ATP, 100 μM ; c) nach Behandlung der NPs mit Mg^{2+} , 20 mM; d) nach Behandlung der NPs mit Mg^{2+} , 20 mM, und ATP, 100 μM . Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [59]. Copyright 2013 American Chemical Society.

ihres erhöhten Stoffwechsels überexprimiert wird, legt nahe, dass die ATP-Aptamer/DNAzym-Verschlusseinheiten einen „smarten“ Entriegelungsmechanismus zur gezielten Freisetzung des Wirkstoffs in Krebszellen ermöglichen. Das heißt, der Biomarker ATP wird durch die Trägeranopartikel erkannt, und er aktiviert bevorzugt die Freisetzung des Wirkstoffs in den Krebszellen.

Die metallabhängigen DNAzyme sind erfolgversprechende Verriegelungen für die kontrollierte Wirkstofffreisetzung aus den NPs. Verschiedene Metallionen, z.B. Cu^{2+} , werden in Krebszellen überexprimiert.^[62] Folglich könnten diese Ionen als Biomarker zur Aktivierung von DNAzymen und zur Wirkstofffreisetzung dienen. Da Krebszellen im Vergleich zu normalen Zellen eine erhöhte Acidität aufweisen,^[63] könnte außerdem die pH-Programmierung metallabhängiger DNAzyme, zur Entriegelung der Poren, einen Mechanismus zur gezielten Wirkstofffreisetzung in Krebszellen liefern.

Die optisch (photonisch) ausgelöste Entriegelung der mit DNA verschlossenen mesoporösen SiO_2 -NPs stellt eine weitere Möglichkeit dar, die kontrollierte Freisetzung von Frachten aus den NPs zu stimulieren.^[64] So wurde in einem Fall der Einsatz von photoisomerisierbaren Interkalatoren als Hilfsmittel zur Steuerung der Stabilität von doppelsträngigen DNA-Verschlusseinheiten genutzt (Abbildung 15A). Es ist bekannt, dass *trans*-Azobenzol-Einheiten in Doppelstrang-DNA-Strukturen interkalieren und diese stabilisieren. Die Photoisomerisierung der *trans*-Azobenzol-Einheiten (UV-Licht) führt zur Bildung der *cis*-Azobenzol-Einheiten, denen die Bindungsaffinität zu doppelsträngiger DNA fehlt. Im Gegenzug werden durch die entgegengesetzte Photoisomerisierung von Azobenzol von der *cis*- in die *trans*-Konfiguration (sichtbares Licht) die energetisch stabilisierten Doppelstrangstrukturen wiederhergestellt. Dementsprechend wurden mesoporöse SiO_2 -NPs mit den Nukleinsäuresträngen **27** funktionalisiert und mit Rhodamin 6G (Rh6G) beladen. Danach wurden die beladenen NPs mit der *trans*-Azobenzol-modifizierten Nukleinsäure **28**, die eine partielle Basenkomplementarität zu **27** aufweist, verknüpft. Die Hybridisierung

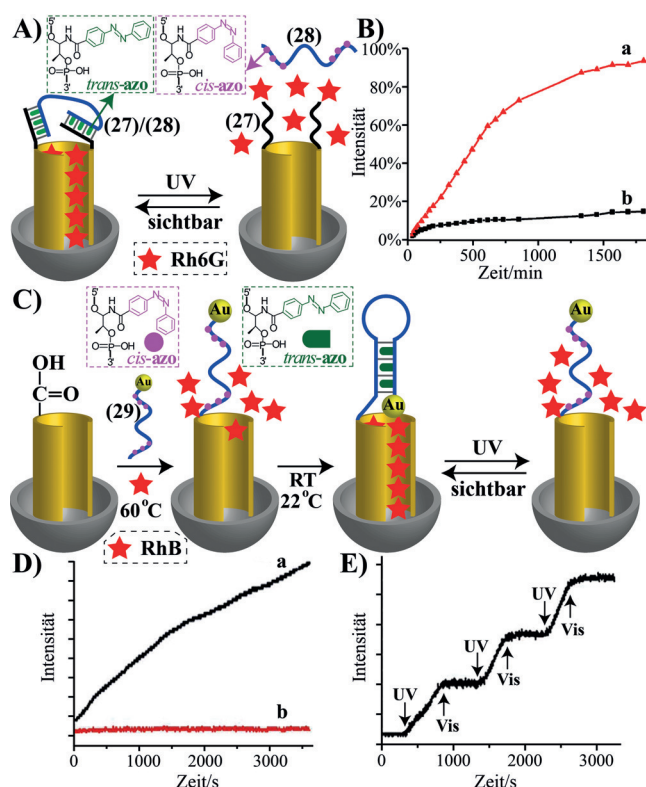


Abbildung 15. A) Herstellung von Rh6G-beladenen mesoporösen SiO₂-NPs, die mit photoresponsiver Azobenzol-modifizierter DNA verschlossen werden. Durch Photoisomerisierung der Verschlüsse werden die Poren entriegelt. B) Zeitabhängige Freisetzung von Rh6G aus den mesoporösen SiO₂-NPs, die mit doppelsträngiger DNA mit *trans*-Azobenzol-Einheiten verschlossen sind: a) nach Photoisomerisierung der *trans*-Azobenzol-Einheiten zu *cis*-Azobenzol; b) nicht bestrahlte mesoporöse SiO₂-NPs. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [64]. Copyright 2012 American Chemical Society. C) Herstellung RhB-beladener mesoporöser SiO₂-NPs, die mit photoresponsiver Haarnadel-DNA verschlossen werden. Es erfolgt eine kooperative Stabilisierung der Haarnadel-Verschlusseinheiten durch die *trans*-Azobenzol-Interkalatoreinheiten. Durch Photoisomerisierung der *trans*-Azobenzol-Einheiten zu *cis*-Azobenzol werden die Haarnadeleinheiten getrennt, was zur Entriegelung der Poren und zur Freisetzung von RhB führt. Über die reversible Photoisomerisierung der Azobenzol-Einheiten zwischen *trans*-Azobenzol und *cis*-Azobenzol läuft das zyklische Verschließen und Öffnen der Poren ab. D) Zeitabhängige Änderungen der Fluoreszenz, beobachtet: a) nach Photoisomerisierung der RhB-beladenen mesoporösen SiO₂-NPs, die mit durch *trans*-Azobenzol stabilisierter Haarnadel-DNA verschlossen sind (UV-Licht); b) bei nicht bestrahlten NPs. E) Schaltbare Freisetzung (An/Aus) von RhB aus den mit Haarnadel-DNA verriegelten, RhB-beladenen NPs, nach der zyklischen durch UV-Licht stimulierten Bildung von *cis*-Azobenzol-Einheiten bzw. durch sichtbares Licht induzierten Bildung von *trans*-Azobenzol-Einheiten. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [65]. Copyright 2012 Royal Society of Chemistry.

von **28** mit den Einheiten **27** und die kooperative Stabilisierung der doppelsträngigen Einheiten durch die *trans*-Azobenzol-Einheiten führten zum Verschließen der Poren. Durch anschließende Photoisomerisierung der *trans*-Azobenzol-Einheiten zu *cis*-Azobenzol wurden die doppelsträngigen Verschlusseinheiten destabilisiert, wodurch die Entriegelung der Poren und die Freisetzung von Rh6G erfolgten. In Abbildung 15B ist die photonisch ausgelöste Freisetzung von

Rh6G, nach Photoisomerisierung der *trans*-Azobenzol-Einheiten zu *cis*-Azobenzol-Einheiten, dargestellt. In einem ähnlichen System wurden mesoporöse SiO₂-NPs angewendet, die mit der *trans*-Azobenzol-modifizierten Nucleinsäure **29** funktionalisiert und mit Au-NPs verknüpft wurden.^[65] Die Nucleinsäure **29** weist interne Selbstkomplementarität auf, wodurch eine kooperative Stabilisierung einer Haarnadelstruktur in Gegenwart der *trans*-Azobenzol-Einheiten erfolgt und die mit Haarnadel-DNA funktionalisierten Au-NPs die Poren verriegeln. Um die mesoporösen SiO₂-NPs zu beladen und die photonisch aktivierten NPs zu erhalten, wurden die NPs erwärmt, wodurch die Haarnadelstruktur aufgetrennt und die offene Struktur der Poren erzielt wurde (Abbildung 15C). Anschließend wurden die NPs mit RhB beladen, und nach Abkühlen erfolgte die Rekonfiguration der Zufallknäuelstruktur von **29** zu der energetisch stabilisierten Struktur mit Poren, die durch *trans*-Azobenzol-funktionalisierte Haarnadel-DNA und Au-NPs verriegelt wurden. Durch Bestrahlung der NPs mit UV-Licht wurden die in die Stränge interkalierten *trans*-Azobenzol-Einheiten in das *cis*-Photoisomer von Azobenzol überführt, dem die Affinität zur Doppelstrang-Domäne fehlte. Die Entfernung der stabilisierenden *trans*-Azobenzol-Einheiten aus der Haarnadelstrang-Domäne führte zur Schwächung der Haarnadelstruktur, wodurch die Poren entriegelt und RhB freigesetzt wurde (Abbildung 15D). Durch zyklische Photoisomerisierung der Verschlüsse aus der *trans*-Azobenzol-funktionalisierten Haarnadel-Nucleinsäure **29** und aus Au-NPs zwischen der *cis*-Konfiguration (UV-Licht) und *trans*-Konfiguration (sichtbares Licht) wurde die Freisetzung von RhB aus den Poren zwischen An- und Aus-Zustand geschaltet (Abbildung 15E).

Bei einer anderen Methode zum photonischen Auslösen der kontrollierten Freisetzung von in mesoporösen SiO₂-NPs eingeschlossenen Frachten wurden die lichtinduzierte heterolytische Spaltung von Malachitgrünarbinol (MGCB) und die damit einhergehenden pH-Änderungen des wässrigen Mediums als Instrument zur Beeinflussung der pH-gesteuerten Verriegelung/Entriegelung funktionaler DNA-Verschlüsse genutzt (Abbildung 16A).^[66] Mesoporöse SiO₂-NPs wurden mit der cytosinreichen Nucleinsäure **30** modifiziert, mit Ru^{II}-Tris(bipyridin) beladen und durch Ansäuern des Systems (pH 5.0), über die Bildung der aus voluminösen i-Motiv-Strukturen bestehenden Verschlüsse, verriegelt. Die Lösung enthielt Malachitgrün als lichtaktives Substrat, und die Bestrahlung des Systems führte zur heterolytischen Spaltung der lichtaktiven Verbindung unter Bildung von OH⁻. Durch Neutralisation des Systems wurden die i-Motiv-Verschlüsse aufgespalten, wodurch das in den Poren eingeschlossene Substrat freigesetzt wurde (Abbildung 16B).

Eine andere Methode zum photonischen Auslösen der Freisetzung von Frachten aus mesoporösen SiO₂-NPs beruhte auf dem Effekt photochemisch erzeugter Sauerstoffzwischenstufen auf die Entriegelung der Poren (Abbildung 17A).^[67] Mesoporöse SiO₂-NPs wurden mit der G-reichen Nucleinsäure **31** und Folsäure-Einheiten funktionalisiert. Die Poren der NPs wurden mit RhB oder dem Tumortheraeutikum DOX beladen und durch die Selbstorganisation der G-reichen Stränge zu G-Quadruplexen verriegelt. Als Photosensibilisator zur Bildung reaktiver Sauerstoffspe-

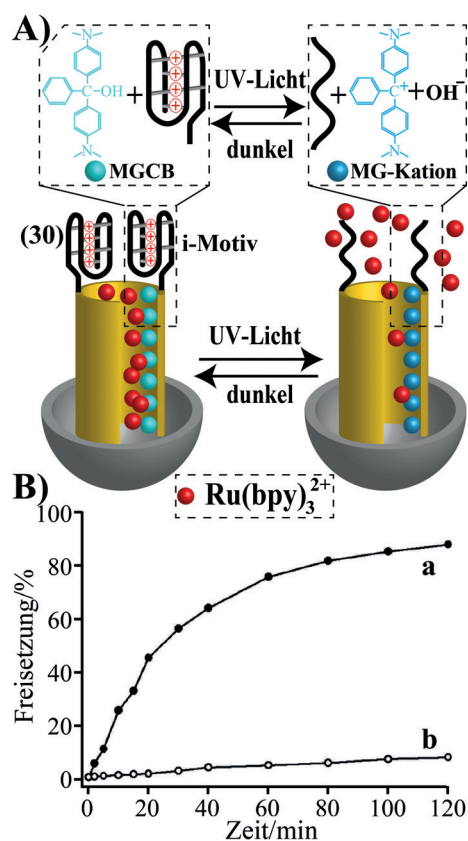


Abbildung 16. A) Photostimulierte, pH-induzierte Freisetzung von Ru(bpy)₃²⁺-beladenen mesoporösen SiO₂-NPs, die mit i-Motiv-DNA-Einheiten verschlossen sind. Die Poren werden mit Ru(bpy)₃²⁺ und Malachitgrüncarbinol (MGCB) als lichtempfindliche Verbindung beladen. Durch UV-Bestrahlung von Malachitgrün erfolgt die heterolytische Spaltung des Photosensibilisators, die zur Neutralisation des Systems, Aufspaltung der i-Motiv-Verschlässe und Freisetzung von Ru(bpy)₃²⁺ führt. B) Zeitabhängige Fluoreszenzänderungen von freigesetztem Ru(bpy)₃²⁺: a) nach UV-Bestrahlung der mit Ru(bpy)₃²⁺ und Malachitgrüncarbinol beladenen mesoporösen SiO₂-NPs, die mit den i-Motiv-Einheiten verschlossen sind; b) bei nicht bestrahlten NPs. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [66]. Copyright 2012 Wiley-VCH.

zies (ROS, reactive oxygen species) unter Bestrahlung funktionierte *meso*-Tetra(*N*-methyl-4-pyridinium)porphyrin. Die mit den NPs verbundenen Folsäurereste ermöglichten den gezielten Transport der NPs zu Krebszellen und deren Endozytose. Die durch den Photosensibilisator stimulierte ROS-Bildung führte zum Abbau der G-reichen Stränge, wodurch die Entriegelung der Poren erfolgte. In Abbildung 17B ist die Freisetzung von RhB aus den Poren nach Einwirkung von Licht auf die NPs dargestellt. Danach wurden die DOX-beladenen mesoporösen SiO₂-NPs in HepG2-Zellen eingebracht, und die Zellviabilität nach Bestrahlung der Zellen in Gegenwart der porphyrinmodifizierten mesoporösen SiO₂-NPs und in Abwesenheit oder Gegenwart von DOX wurde untersucht (Abbildung 17C). Während in Abwesenheit von DOX die photosensibilisierte Bildung von ROS-Produkten zum Zelltod führte, hatte die photosensibilisierte Entriegelung der DOX-beladenen NPs eine beeindruckende kooperative Wirkung bei der Förderung des Zelltodes. So zeigten beispielsweise die Zellen, die mit 20 µg mL⁻¹ unbeladenen

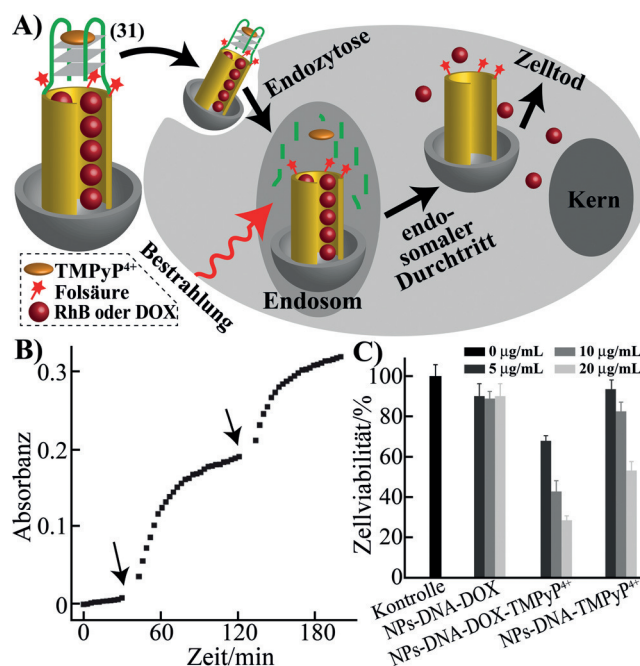


Abbildung 17. A) Herstellung von RhB- oder DOX-beladenen mesoporösen SiO₂-NPs, die mit G-Quadruplex-Einheiten und dem Photosensibilisator *meso*-Tetra(*N*-methyl-4-pyridinium)porphyrin (TMPyP⁴⁺) verschlossen werden. Die Oberfläche der mesoporösen SiO₂-NPs wird mit Folsäure-Einheiten modifiziert, die als Liganden zur gezielten Ansteuerung von Folsäurerezeptoren, die sich an Krebszellen befinden, dienen. Der Entriegelungsmechanismus umfasst die durch den Photosensibilisator induzierte Bildung von ¹O₂, wodurch die G-Quadruplex-Verschlässe abgebaut werden, was zur Freisetzung der Frachten führt. B) Zeitabhängige Absorptionsänderungen infolge der Freisetzung von RhB nach der photosensibilisierten Bildung von ¹O₂ (die Pfeile zeigen die Vorgänge des lichtinduzierten Triggers an, durch die ¹O₂ erzeugt wird). C) Lebensfähigkeit von HepG2-Krebszellen in Gegenwart unterschiedlicher Konzentrationen an DOX-beladenen, Folsäure-funktionalisierten mesoporösen SiO₂-NPs, die mit TMPyP⁴⁺/G-Quadruplex-Einheiten verschlossen sind. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [67]. Copyright 2013 Wiley-VCH.

SiO₂-NPs behandelt wurden, nach 120 s Bestrahlung eine Zellviabilität von 52 %, während die DOX-beladenen NPs unter ähnlichen Bedingungen eine Zellviabilität von 29 % ergaben.

Ein weiteres Verfahren zur lichtinduzierten Freisetzung von Frachten aus mesoporösen SiO₂-NPs beinhaltet die Erwärmung poröser NPs durch plasmonische Goldnanostäbchen (GNR) mittels Bestrahlung mit einem NIR-Laser.^[68] Mesoporöse SiO₂-NPs wurden auf Goldnanostäbchen aufgebracht, und die Nanopartikel wurden mit der Nukleinsäure **32** modifiziert, die als Matrix für die Hybridisierung mit dem guaninreichen, tumortheraeutischen Aptamer AS1411 **33** diente (Abbildung 18A). Die mit **32** funktionalisierten mesoporösen SiO₂-NPs, die auf die Goldnanostäbchen aufgebracht waren, wurden mit Fluorescein (Flu) als Modellfracht oder mit DOX als Tumortheraeutikum beladen. Danach wurden die Poren durch Hybridisierung des Aptamers AS1411 **33** verschlossen, das durch Stränge verlängert wurde, die komplementär zu der an die NPs gebundenen Nukleinsäurematrix **32** waren. Die Bestrahlung der NPs mit einem

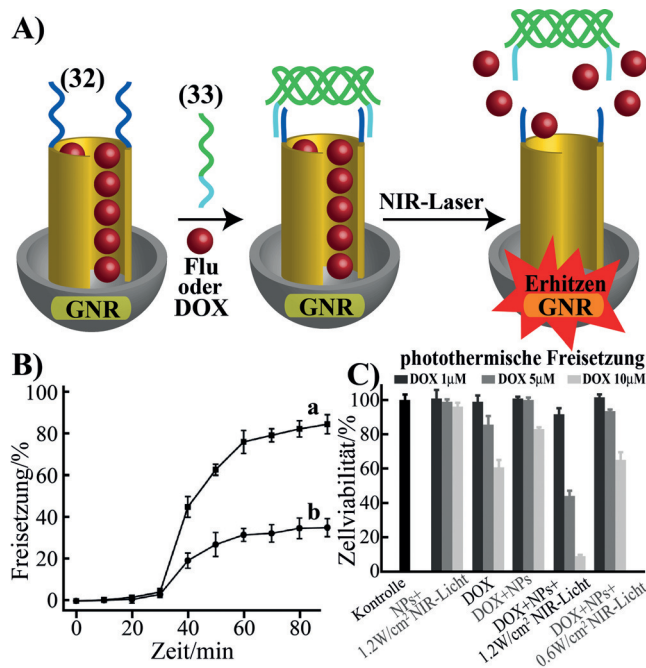


Abbildung 18. A) Thermisch ausgelöste Entriegelung von auf Goldnanostäbchen aufgebrachten mesoporösen SiO₂-NPs, die mit einem Fluoreszenzfarbstoff oder DOX beladen und mit dem Aptamer AS1411 gegen Krebszellen verschlossen sind. Die Entriegelung der Poren wird durch die Bestrahlung der plasmonischen Nanostäbchen mit einem NIR-Laser erreicht, die zur lokalisierten Erwärmung der NPs führt. B) Zeitabhängige Fluoreszenzänderungen nach Freisetzung der Fluorescein-Fracht durch Bestrahlung der NPs mit unterschiedlicher Leistung des NIR-Lasers (808 nm): a) 1.2 W cm⁻²; b) 0.6 W cm⁻². C) Zellviabilität von menschlichen Brustkrebszellen MCF-7, die behandelt wurden mit unterschiedlichen Dosen an DOX-beladenen mesoporösen SiO₂-NPs, die auf Goldnanostäbchen aufgebracht und mit dem Aptamer AS1411 verschlossen waren. Die Freisetzung von DOX wird durch die Bestrahlung der mit den Nanopartikeln funktionalisierten Zellen mit einem NIR-Laser (808 nm) über eine Zeitspanne von 10 min ausgelöst. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [68]. Copyright 2012 Wiley-VCH.

NIR-Laser (808 nm) führte zur plasmonischen Erwärmung der NPs, zur Aufspaltung der Einheiten des Aptamers AS1411 und zur Freisetzung der Frachten. In Abbildung 18B ist die zeitabhängige Freisetzung der Fluorescein-Modellfracht nach Bestrahlung der NPs mit unterschiedlicher Leistung der Laserlichtquelle dargestellt. Anschließend wurden die DOX-beladenen und mit dem Aptamer AS1411 verschlossenen NPs in menschliche Brustkrebszellen MCF-7 eingebracht. Die tumortherapeutischen Einheiten des Aptamers AS1411 steuerten die NPs gezielt zu den Krebszellen und ermöglichten ihre Endozytose. Die Bestrahlung der NPs mit einem Laser (808 nm) führte zur plasmonischen thermischen Entriegelung der Poren und zur Freisetzung von DOX. Es wurde eine beeindruckende Zytotoxizität gegen die Krebszellen beobachtet (Abbildung 18C). So hatte die thermische, durch einen NIR-Laser stimulierte Freisetzung von DOX (Laserleistung: 1.2 W cm⁻², Bestrahlung über 10 min) eine Zellviabilität von < 10% zur Folge, während der Zellassay mit erwärmten, nicht mit DOX beladenen NPs oder nicht erwärmten, DOX-beladenen NPs eine Zellviabilität von

> 60% aufwies. Andere Nukleinsäurestrukturen wurden in ähnlicher Weise eingesetzt, um Frachten in mesoporösen SiO₂-NPs, die auf Goldnanostäbchen aufgebracht waren, zu verriegeln. Die erhaltenen Nanoträger wurden danach durch die Erwärmung der Aggregate mittels Bestrahlung mit einem NIR-Laser entriegelt.^[69]

3. Stimuliresponsive Mikrokapseln

Kapseln im Nano- oder Mikrometergrößenbereich bieten ein interessantes System für den Einschluss von Frachten.^[70] Verschiedene Anwendungen substratbeladener Kapseln wurden vorgeschlagen, darunter Transport und Freisetzung von Wirkstoffen,^[71] Bildgebung^[72] oder Abtastung^[73] und ihr Einsatz als Systeme zur Erkennung und Behandlung^[74] oder als Katalysatorträger.^[75] Es wurden unterschiedliche Verfahren zur Herstellung von Mikro- und Nanokapseln vorgeschlagen.^[76] Diese umfassen gewöhnlich die Verwendung von kolloidalen Partikeln als Kerntemplat für die Abscheidung von Schichten oder Filmen (z. B. Polystyrol, CaCO₃, SiO₂). Durch affinitätsbindende Wechselwirkungen zwischen den abgeschiedenen Schichten^[77] oder Ausbildung von Brücken mit kovalenten Bindungen zwischen den abgeschiedenen Schichten werden die Hüllen der Kapseln erzeugt,^[78] anschließend erhält man durch Auflösung des Kerntemplats die Kapseln. Durch die Koimmobilisierung von Gastmolekülen mit dem Kernmaterial werden die erhaltenen Kapseln mit der Gastverbindung beladen. Die Art der Hüllenmaterialien, die Anzahl der abgeschiedenen Schichten und die am Hüllenaufbau beteiligten Wechselwirkungen oder Bindungen beeinflussen die Größe, Festigkeit, Durchlässigkeit und Beständigkeit der Kapseln.^[79] So wurde die schichtweise Abscheidung (layer-by-layer) von Polyelektrolyten,^[80] z. B. Polystyrolsulfonat/Polyallylaminhydrochlorid, oder von disulfidverbrückten mehrlagigen Schichten^[81] genutzt, um Kapseln aufzubauen. Verschiedene stimuliresponsive Hüllen, die den Abbau der Kapselhüllen und die Freisetzung der Frachten ermöglichen, wurden beschrieben.^[82] Diese umfassen den enzymatischen Abbau von Poly(L-lysin)/Poly(L-glutaminsäure),^[83] den biologischen Abbau von disulfidverbrückten Hüllenschichten über die Spaltung der Bindungen mit Thiolen^[84] oder die Entwicklung pH-responsiver Hüllen.^[85] Außerdem ermöglicht das Einbringen von Metallnanopartikeln, z. B. Goldnanostäbchen, oder magnetischen Nanopartikeln in die Kapseln die thermische Aufspaltung der Kapseln durch Bestrahlung mit einem NIR-Laser.^[86] Stimuliresponsive Mikrokapseln wurden tatsächlich als Träger für die kontrollierte Wirkstofffreisetzung eingesetzt, wie von Insulin^[87] oder dem Tumortherapeutikum DOX.^[88] Einige neuere Übersichtsartikel haben sich mit den aktuellen Fortschritten bei der Herstellung und den Anwendungen von Mikro- und Nanokapseln befasst.^[89]

Aufgrund ihrer Fähigkeit zur spezifischen Erkennung sowie der Möglichkeit zur elektrischen Aufladung erweisen sich Biomaterialien als ideale Komponenten für den Aufbau von Mikrokapseln. Tatsächlich wurden Rezeptor-Ligand-Komplexe^[90] oder die elektrostatische Bindung mit negativ geladener DNA als Polyelektrolyt angewendet, um Mikro-

kapseln aufzubauen.^[91] Außerdem kann die in DNA-Strängen codierte Information genutzt werden, um stimuli-responsive Mikrokapseln zu entwickeln, die als Mikroträger von Frachten dienen, die nach getriggertem Aufspaltung der Kapseln freigesetzt werden. So wurden in den letzten Jahren verschiedene Verfahren zur Aufspaltung von Mikrokapseln auf DNA-Basis und zur Freisetzung der Frachten veröffentlicht.

Die Synthese abbaubarer, vollständig aus DNA bestehender Mikrokapseln ist in Abbildung 19 A veranschaulicht.^[92] Mit positiv geladenem Amin funktionalisierte SiO_2 -Mikropartikel wurden mit dem Poly- T_{30} -Oligonukleotid beschichtet, und diese Basisschichten wurden mit dem Triblock-Oligonukleotid $\text{A}_{15}\text{X}_{15}\text{G}_{15}$ hybridisiert, das als Matrix für die anschließende Hybridisierung mit dem Triblock-Oligonukleotid $\text{T}_{15}\text{X}_{15}\text{C}_{15}$ diente. Durch die folgende abwechselnde stufenweise Wechselwirkung der beiden Triblock-Oligonukleotide $\text{A}_{15}\text{X}_{15}\text{G}_{15}$ und $\text{T}_{15}\text{X}_{15}\text{C}_{15}$ wurde ein schrittweiser Aufbau

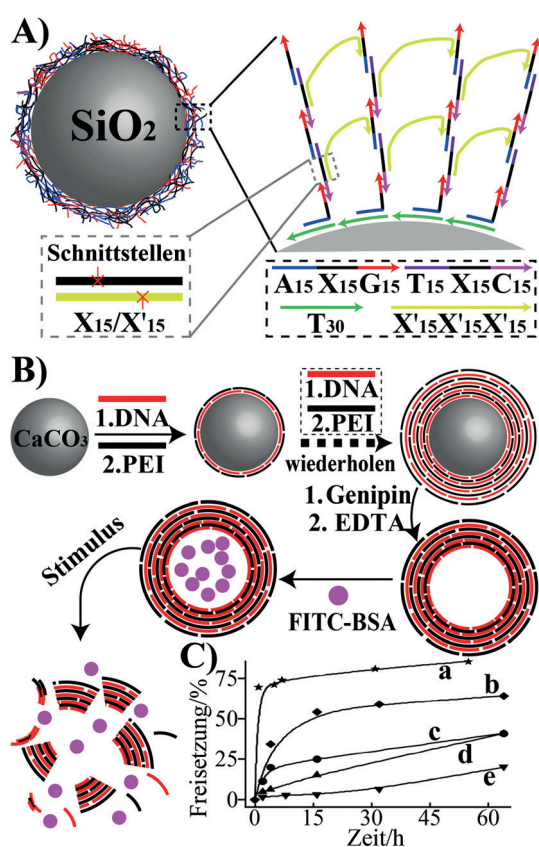


Abbildung 19. A) Herstellung von vollständig aus DNA bestehenden Kapseln, die aus vernetzten Nukleinsäureschichten bestehen. Durch Spaltung der Vernetzungseinheiten durch ein Nicking-Enzym werden die Kapseln aufgespalten. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [92]. Copyright 2009 Wiley-VCH. B) Aufbau von Kapseln auf DNA-Basis durch schichtweise Abscheidung von Polyethylenimin/DNA-Polyelektrolyt-Schichten und anschließende Auflösung des CaCO_3 -Kerns (mit EDTA). Die Kapseln wurden mit FITC-markiertem BSA beladen, und die Freisetzung der Fracht wurde durch T7-Exonuklease, pH 10.1 oder NaCl (1 m oder 0.5 m) ausgelöst. C) Zeitabhängige Freisetzung von FITC-markiertem BSA aus den Kapseln nach Behandlung: a) mit dem Enzym T7-Exonuklease; b) bei pH 10.1; c) mit 1 m NaCl; d) mit 0.5 m NaCl; e) mit PBS-Puffer. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [93]. Copyright 2014 Royal Society of Chemistry.

von DNA-Ketten auf den Kernmikropartikeln bewirkt. Die anschließende Vernetzung der Ketten durch das Triblock-Oligonukleotid $\text{X}'_{15}\text{X}'_{15}\text{X}'_{15}$ führte zur Bildung des aus Schichten aufgebauten, mit den Hybrid-Domänen X/X' vernetzten DNA-Films. Durch Auflösung der aus SiO_2 bestehenden Kernmikropartikel ($2\text{M HF} + 8\text{M NH}_4\text{F}$, pH 5.0) wurden die hohlen DNA-Kapseln erhalten. Die Domänen X/X' waren so aufgebaut, dass sie die spezifische Sequenz enthielten, die durch die Endonuklease *EcoRI* gespalten werden sollte. Demzufolge wurden die so hergestellten Mikrokapseln in Gegenwart der Endonuklease abgebaut. In einer ähnlichen Studie wurden CaCO_3 -Mikropartikel als Kernmaterial zur Erzeugung von Mikrokapseln durch das schrittweise Beschichten der Kerne mit negativ geladener DNA als Polyelektrolyt und mit positiv geladenem Polyethylenimin (PEI) eingesetzt.^[93] Durch die nachfolgende Verfestigung der mehrlagigen Struktur mit Genipin und die anschließende EDTA-stimulierte Auflösung der Kernpartikel wurden die hohlen Mikrokapseln gebildet, die mit FITC-markiertem Rinderserumalbumin (FITC-BSA; FITC = Fluoresceinisothiocyanat) beladen wurden (Abbildung 19 B). Die die Mikrokapsel stabilisierende Hülle konnte danach durch enzymatischen Verdau der DNA-Komponente mit T7-Exonuklease abgebaut werden, indem die Kapseln einem pH 10.1 ausgesetzt wurden, wodurch die positiven Ladungen aus den PEI-Einheiten entfernt wurden, oder indem eine hohe Salzkonzentration (1 m NaCl) angewendet wurde, die die elektrostatische Bindung zwischen den Polyelektrolytschichten schwächte. Die unterschiedlichen Trigger, durch die die Mikrokapseln abgebaut wurden, führten zur Freisetzung von FITC-BSA (Abbildung 19 C). Diese Methode wurde dadurch weiterentwickelt, dass hybridisierte Peptid-Nukleinsäuren schichtweise als DNA-Hüllen von Mikrokapseln aufgebaut und die Hüllen durch Anwendung einer Nuklease oder Protease als Katalysator für den Abbau der Hüllen aufgespalten wurden.^[94]

Eine andere Methode zur Entriegelung DNA-funktionalisierter Mikrokapseln umfasste den Einschluss eines sequenzspezifischen Aptamers in den Mikrokapseln und die Öffnung der Kapseln durch die Bildung von Aptamer-Ligand-Komplexen (Abbildung 20).^[95] CaCO_3 -Mikropartikel wurden mit dem anti-Sulforhodamin-B-Aptamer beschichtet und dienten so als Kerne für die schichtweise Abscheidung der beiden Polyelektrolyte Polydiallyldimethylammoniumchlorid (PDDA) und Polystyrolsulfonat (PSS). Die Auflösung der Kerne mit EDTA führte zur Bildung der Aptamer-beladenen Mikrokapseln. Die Diffusion von Sulforhodamin B (SRB) in die Hülle hatte die Bildung des entsprechenden Aptamer-Ligand-Komplexes zur Folge, der die Mikrokapselstruktur aufsprenge, wodurch der SRB-Aptamer-Komplex freigesetzt wurde.

Ein anderes Beispiel zur Bildung von vollständig aus DNA bestehenden Kapseln beinhaltete den Aufbau einer lichtempfindlichen DNA-Einheit mit der Form eines dreizackigen Sterns, die durch Selbstorganisation zu einer (fullerenartigen) Polyederstruktur aggregierte, die als lichtresponsive Nanokapsel diente (Abbildung 21 A).^[96] Ein DNA-Gerüst L wurde mit den zwei *trans*-Azobenzol-modifizierten Strängen S und M hybridisiert, wodurch eine Nanostruktur

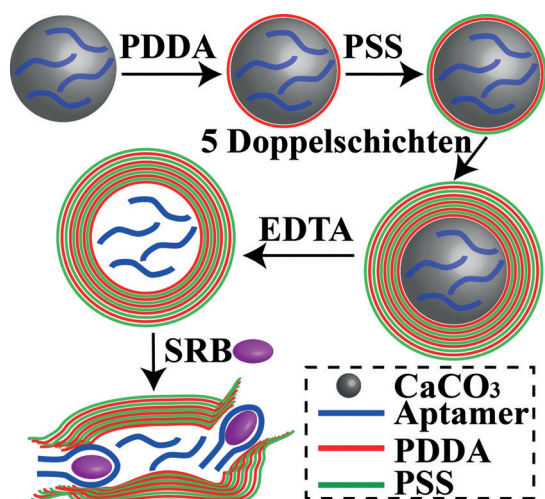


Abbildung 20. Einschluss von Aptamer-Frachten in Mikrokapseln, die durch einen Prozess der schichtweisen Abscheidung negativ und positiv geladener Polyelektrolytschichten aufgebaut wurden. Die Kapseln werden durch die Bildung von Aptamer-Ligand-Komplexen aufgespalten. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [95]. Copyright 2013 American Chemical Society.

mit der Form eines dreizackigen Sterns erhalten wurde, die an jedem Arm einzelsträngige Verknüpfungspunkte enthielt, die sich an den Strängen S und M befanden, die Selbstkomplementarität aufwiesen. Das Tempern der Sterne führte zu den durch *trans*-Azobenzol stabilisierten Polyedern als Folge der Hybridisierung zwischen den Stern-Untereinheiten. Die lichtinduzierte Isomerisierung von *trans*-Azobenzol zu *cis*-Azobenzol, dem die Affinität zu den doppelsträngigen DNA-Brüchen fehlt, zog die Destabilisierung der Verknüpfungseinheiten zwischen den Sternen nach sich, wodurch die Nanokapseln aufgespalten wurden (Abbildung 21 B).

Eine weitere Methode zum Aufbau photoresponsiver, vollständig aus DNA bestehender Nanokapseln umfasste den Aufbau programmierter quadratisch-bipyramidaler DNA-Nanokapseln mit einer DNA-Origami-Struktur (Abbildung 22 A).^[97] Es wurde eine aus den kondensierten Untereinheiten A und B zusammengesetzte quadratisch-bipyramidale Origami-Struktur aufgebaut. Eine der Kanten der beiden quadratischen Origami-Flächen der Einheiten A und B wurden mit den komplementären Nukleinsäuren y und y' modifiziert, die die Einheiten A und B miteinander kondensieren. Die anderen drei Kanten der quadratischen Origami-Flächen der quadratisch-bipyramidalen Einheiten A und B wurden jeweils mit den *trans*-Azobenzol-funktionalisierten Nukleinsäuren X und X' modifiziert. Nach Tempern der Nanostruktureinheiten A und B wurde eine geschlossene quadratisch-bipyramidale Nanostruktur gebildet, die stabilisiert wurde durch die kooperative Hybridisierung zum Doppelstrang y/y' und zu den durch *trans*-Azobenzol stabilisierten Doppelsträngen X/X' auf den anderen drei Kanten der Grundfläche. Durch Photoisomerisierung der *trans*-Azobenzol-Einheiten zu *cis*-Azobenzol (UV-Bestrahlung) wurden die Hybride X/X' geschwächt, was zu ihrer Auftrennung und zur Entriegelung (Öffnung) der quadratisch-bipyramidalen Struktur führte. Die geschlossenen und geöffneten Bipyra-

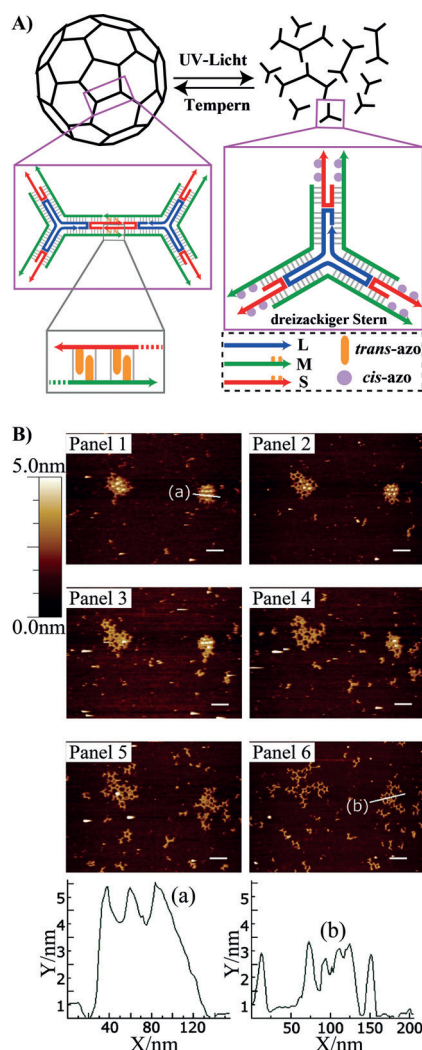


Abbildung 21. A) Selbstorganisation zu einer vollständig aus DNA aufgebauten (fullerenartigen) Polyeder-Nanostruktur mittels *trans*-Azobenzol-funktionalisierter Nukleinsäure-Verknüpfungseinheiten, die auf Y-förmigen DNA-Bausteinen mit der Form eines dreizackigen Sterns basiert. Durch die photoisomerisierbaren *trans*-Azobenzol-Einheiten erfolgt eine kooperative Stabilisierung der Vernetzung der Y-förmigen Sterne. Die Kapseln werden aufgespalten durch lichtinduzierte Isomerisierung der *trans*-Azobenzol-Einheiten zu *cis*-Azobenzol. B) AFM-Aufnahmen nach unterschiedlicher Zeitdauer der Photoisomerisierung der *trans*-Einheiten zu *cis*-Einheiten: Tafel 1: vor UV-Bestrahlung; Tafel 2: 30 s nach UV-Bestrahlung; Tafel 3: 1 min 6 s nach UV-Bestrahlung; Tafel 4: 2 min 12 s nach UV-Bestrahlung; Tafel 5: 5 min nach UV-Bestrahlung; Tafel 6: 9 min 58 s nach UV-Bestrahlung. Unten: Querschnittsanalyse der Kapseln: a) vor Photoisomerisierung; b) nach Photoisomerisierung. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [96]. Copyright 2010 American Chemical Society.

midenstrukturen wurden mittels AFM abgebildet (Abbildung 22 B, Tafeln (I) und (II)). Des Weiteren wurde der untere Teil der Origami-Struktur mit der hervorstehenden Nukleinsäure Z' modifiziert, woraufhin durch die Hybridisierung mit Z' zu Z/Z'-Doppelstrangbrücken mit der Nukleinsäure Z modifizierte Au-Nanopartikel in die geöffnete *cis*-Azobenzol-Bipyramidenstruktur eingebaut wurden (Abbildung 22 C). Danach führte die Photoisomerisierung der *cis*-

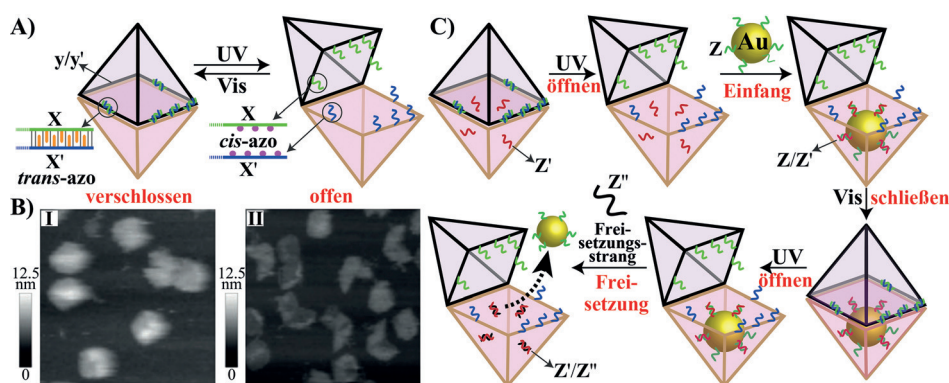


Abbildung 22. A) Herstellung photoresponsiver quadratisch-bipyramidalen DNA-Nanokapseln mit einer DNA-Origami-Struktur sowie zyklisches Öffnen und Schließen der Bipyramidenstruktur durch zyklische Photoisomerisierung der *trans*-Azobenzol-Einheiten zu *cis*-Azobenzol-Einheiten und zurück. B) AFM-Aufnahmen der „geschlossenen“ bipyramidalen Nanostrukturen (links) und der photostimulierten, *cis*-Azobenzol-funktionalisierten „geöffneten“ bipyramidalen Nanostrukturen (rechts). C) Beladung der bipyramidalen Kapseln mit Au-NPs sowie photostimulierte Freisetzung der Au-NPs durch Photoisomerisierung der *trans*-Azobenzol-Einheiten zu *cis*-Azobenzol-Einheiten und durch Strangverdrängung bei den in den Kapseln eingebundenen Au-Nanopartikeln. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [97]. Copyright 2014 Wiley-VCH.

Azobenzol-Einheiten zu *trans*-Azobenzol-Einheiten zum Verschließen des Systems in die quadratisch-bipyramidale Struktur. Nach Einwirkung von UV-Licht auf die mit Au-NPs beladene quadratisch-bipyramidale Struktur öffnete sich das System aufgrund der Schwächung der drei Kanten mit lichtaktiver Nukleinsäure, die durch die *cis*-Azobenzol-Funktionalitäten bewirkt wird. Durch Behandlung der geöffneten Bipyramidenstruktur mit der Nukleinsäure Z, wurden die mit Z funktionalisierten Au-NPs verdrängt, über die Bildung des energetisch stabilisierten Z/Z'-Doppelstrangs, was zur Freisetzung der mit Z funktionalisierten Au-NPs aus der Bipyramidenstruktur führte. AFM-Messungen zeigten, dass der Strangverdrängungsprozess und die Freisetzung der Au-NPs aus der geöffneten quadratisch-bipyramidalen Struktur wesentlich effektiver sind als bei der geschlossenen, mit Au-NPs beladenen Nanostruktur. Vermutlich werden die NPs durch die photonische Öffnung der quadratischen Bipyramide dem Strangverdrängungsprozess ausgesetzt, wodurch ihre effektive Freisetzung bewirkt wird.

4. Stimuliresponsive Micellen und Vesikel als funktionelle Träger

Lipid-modifizierte Oligonukleotide liefern Blockcopolymer, die in wässrigem Medium zu Micellen oder Vesikelstrukturen aggregieren können.^[98] Der hydrophobe Kern der micellaren Polymer-DNA-Strukturen kann als Reservoir für hydrophobe Gastmoleküle dienen, während die hydrophile Nukleinsäure-Hülle Einheiten zur gezielten Ansteuerung von Zellen oder stimuliresponsive Einheiten zur Freisetzung der micellaren Frachten aufnehmen könnte. Ebenso können DNA-Lipid-Komponenten in die hydrophobe Hülle von Vesikeln eingebunden werden.^[99] Das Innere der Vesikel kann als Reservoir für die hydrophile Fracht fungieren, und die in die Vesikelhüllen eingebauten DNA-Einheiten können

entweder als Einheiten zum gezielten Transport zu Zellen dienen oder als funktionelle Einheiten zur Entriegelung der Hüllen. Verschiedene DNA-Lipid-Blockcopolymer wurden synthetisiert und die gebildeten micellaren Strukturen charakterisiert.^[100,101] So wurde beispielsweise das DNA-*b*-Polypropylenoxid **34-b-PPO** synthetisiert^[101] (Abbildung 23 A). Die einzelsträngigen Micellen wiesen einen Radius von 5.6 ± 0.5 nm auf, und die Hybridisierung der hydrophilen Nukleotid-Stränge mit der komplementären Nukleinsäure **35** hatte nur eine geringe Auswirkung auf die Größe der gebildeten Micellen, deren Radius 5.3 ± 0.5 nm betrug. Dagegen führte die Behandlung der einzelsträngigen

Micellen mit dem langen DNA-Templat (**35**)_n, das aus identischen Wiederholungseinheiten aufgebaut war, die komplementär zu den mit den Micellen assoziierten Nukleotid-

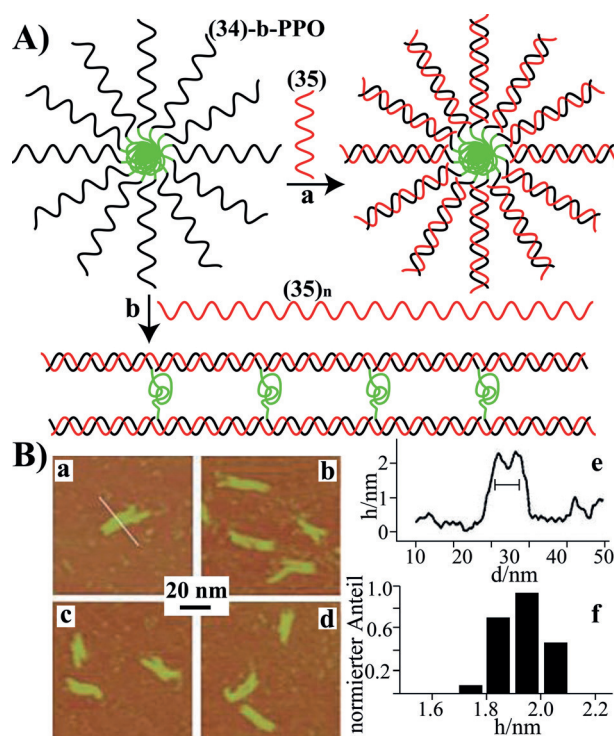


Abbildung 23. A) Selbstorganisation von **34-b-PPO**-Micellen und Hybridisierung der komplementären Nukleinsäure **35** mit den Micellen. Die Hybridisierung der mit **34** funktionalisierten PPO-Micellen mit aus Wiederholungseinheiten von **35** aufgebauten DNA-Ketten führt zu stabförmigen Micellen. B) AFM-Aufnahmen der gebildeten stabförmigen Micellen (a–d), Querschnittsanalyse der stabförmigen Micellen (e) und Säulendiagramm der Höhe der Micellen (f). Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [101]. Copyright 2007 Wiley-VCH.

Strängen waren, zu stabförmigen Micellen mit einer Höhe von 1.95 ± 0.1 nm und einer Länge von 29.1 ± 6.5 nm (Abbildung 23 B). Die Internalisierung der verschiedenen Polymerpartikel in Zellen wurde untersucht, und es wurde festgestellt, dass die Partikel nichttoxisch sind und dass die stabförmigen Partikel wirksamer als die sphärischen Micellen in Zellen eindringen.^[102] Die Strukturen der DNA-Lipid-Blockcopolymeren können über die Länge der hydrophilen Nukleotid-Stränge gesteuert werden, und die Micellen konnten durch Polymerisation der 3'-Enden der Nukleotid-Stränge mit der terminalen Desoxynukleotidyltransferase (TdT) in Gegenwart des dNTP-Gemischs und eines geeigneten Primers vergrößert werden.^[103]

Die in der Nukleinsäuresequenz der DNA/Polymer-Micellen codierte Information wurde genutzt, um die Trägermicellen gezielt in Zellen zu transportieren, wodurch die Freisetzung der im Kern der Micellen eingebetteten Wirkstofffrachten ermöglicht wurde. So wurden Micellen hergestellt, die aus AS1411-modifizierter Pluronsäure F-127 und β -Cyclodextrin-funktionalisiertem Poly(ethylenglykol)-*b*-Polylactid aufgebaut waren, und das Tumorthapeutikum DOX wurde in den hydrophoben Kern der Micellen eingebunden.^[104] Das Aptamer AS1411 lenkt die Micellen zu den Nukleolin-Rezeptorstellen, die sich an Krebszellen befinden, was zur Nukleolin-vermittelten Endozytose der Micellen in MCF-7-Tumorzellen und zur intrazellulären Freisetzung von DOX führt (Abbildung 24 A). Die Auswirkung der DOX-beladenen, Aptamer-funktionalisierten Micellen auf das Wachstum von MCF-7-Tumoren bei Mäusen wurde untersucht (Abbildung 24 B). Es wurde gefunden, dass die mit den DOX-beladenen Aptamer-Micellen behandelten Tumoren innerhalb einer Zeitspanne von 27 Tagen ein Tumorstadium von ca. 50% aufwiesen, während unbehandelte Tumore um ca. 660% wuchsen. Außerdem wuchsen Tumore, die nur mit DOX oder mit DOX-beladenen zufälligen Nukleinsäure-Micellen behandelt wurden, innerhalb dieses Zeitintervalls um ca. 240%. Diese Ergebnisse belegen die bessere Wirkung der DOX-beladenen, mit dem Aptamer AS1411 funktionalisierten Micellen auf die Tumorstadiumshemmung aufgrund der effektiven Nukleolin-vermittelten Endozytose der wirkstoffbeladenen Micellen in die Krebszellen, die eine effiziente und gezielte Wirkstofffreisetzung zur Folge hatte.

Mit Fluorophor markierte DNA/Polymer-Micellen wurden in Zellen eingebracht und als Nanosensoren für die Untersuchung von intrazellulären Bestandteilen (z. B. ATP)^[105] und als funktionelle Markierung zur Bildgebung von Zellen vorgeschlagen.^[106] Funktionelle DNA/Polymer-Micellen können auch als aktive Nanostruktur zur Beeinflussung der Zellproliferation dienen und so einen Mechanismus zur Wachstumshemmung von Krebszellen liefern.^[107] Das ist in Abbildung 25 A am Beispiel der Selbstorganisation von DNA-Lipid-Einheiten veranschaulicht, die aus der DNA-Haarnadel **36** bestehen, die, unter Ausbildung einer Micellenstruktur, an eine hydrophobe Kette eines Diacyllipids gebunden ist. Die Haarnadeleinheiten enthielten die Erkennungssequenz für ein Segment der *c-Raf-1*-mRNA von Lungenkrebszellen A549. Werden die Micellen in die Zellen eingebracht, führt dies zur Bindung der mRNA an die Haarnadelstruktur, und dieser Vorgang zieht die Unterdrü-

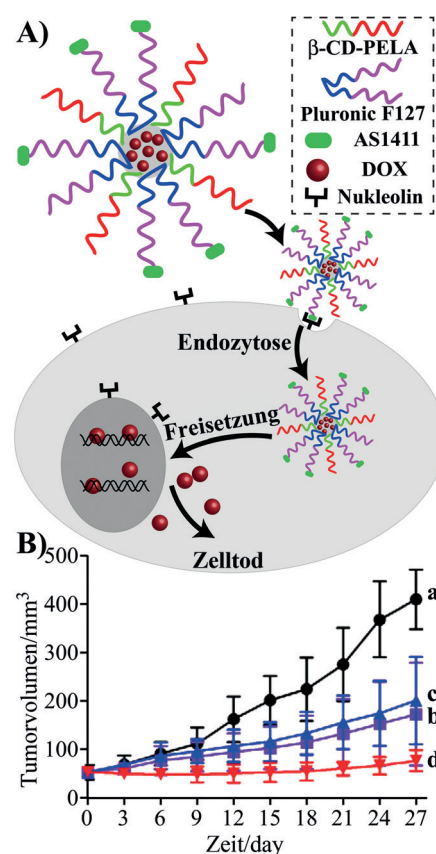


Abbildung 24. A) Einbringen von DOX-beladenen Micellen aus Pluronsäure F-127, β -CD-PELA und Aptamer AS1411 in Mäuse, die MCF-7-Tumoren in sich tragen, und pH-stimulierte In-vivo-Freisetzung von DOX. B) Zeitabhängige Tumorstadiumen nach intravenöser Injektion der mit Tumoren infizierten Mäuse: a) Tumor ohne Zusatz; b) mit freiem DOX behandelte Tumor; c) mit DOX-beladenen, mit einer Aptamer-mutante modifizierten Micellen behandelte Tumor; d) mit DOX-beladenen, Aptamer-modifizierten Micellen behandelte Tumor. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [104] Copyright 2015, Elsevier.

ckung des Zellwachstums nach sich. In Abbildung 25 B ist die Zytotoxizität der Haarnadel-DNA/Polymer-Micellen gegen die A549-Zellen dargestellt, im Vergleich zur Wirkung einer zufälligen DNA/Polymer-Nanostruktur auf diese Zellen. Offensichtlich bewirken die Haarnadel-DNA/Polymer-Micellen einen beachtlichen Zelltod, infolge der Bindung der mRNA, welche die Genexpression verhindert.^[107]

Der Aufbau von DNA/Polymer-Micellen höherer Komplexität ermöglicht die Beladung und Freisetzung eines Tumorthapeutikums durch die Micellen und den gezielten Transport der Micellen zu Krebszellen. Das ist in Abbildung 26 A anhand der Synthese von Lipid-DNA-Polymeren veranschaulicht, die aus der hydrophilen, an Polypropylenoxid gebundenen Nukleinsäure **37** aufgebaut sind.^[108] Durch Hybridisierung der Folsäure-modifizierten Nukleinsäure **38** mit den DNA-Strängen der Micellen werden die Folsäure-funktionalisierten Nanostrukturen gebildet, die die Micellen gezielt zu den an den Krebszellen befindlichen Folsäure-rezeptoren transportieren. Anschließend wurde das Tumorthapeutikum DOX in den Kern der Micellen eingebettet (Abbildung 26 A). Danach wurden die wirkstoffbeladenen,

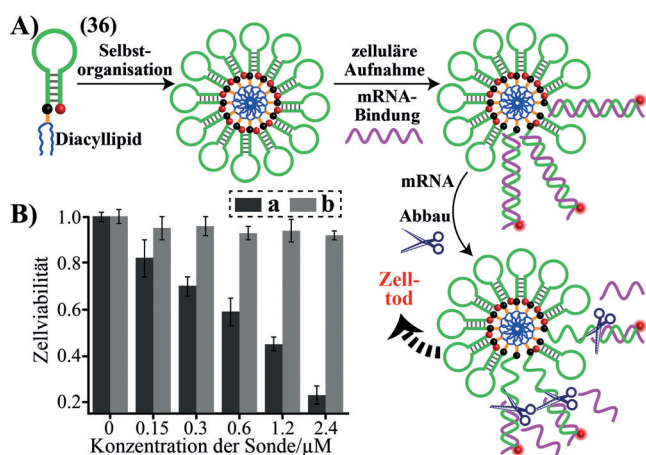


Abbildung 25. A) Herstellung von mit Haarnadel-DNA funktionalisierten Diacyllipid-Micellen sowie intrazellulärer Abbau der Micellen durch Öffnung der Haarnadeln durch die mRNA und anschließende Spaltung der mit der mRNA gebildeten doppelsträngigen Strukturen. B) Viabilität von A549-Zellen, die mit unterschiedlichen Konzentrationen der auf mRNA ansprechenden Haarnadel-DNA/Lipid-Micellen (a, schwarz dargestellt) und mit Kontrollsystemen (b, grau dargestellt) behandelt wurden. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [107]. Copyright 2013 Wiley-VCH.

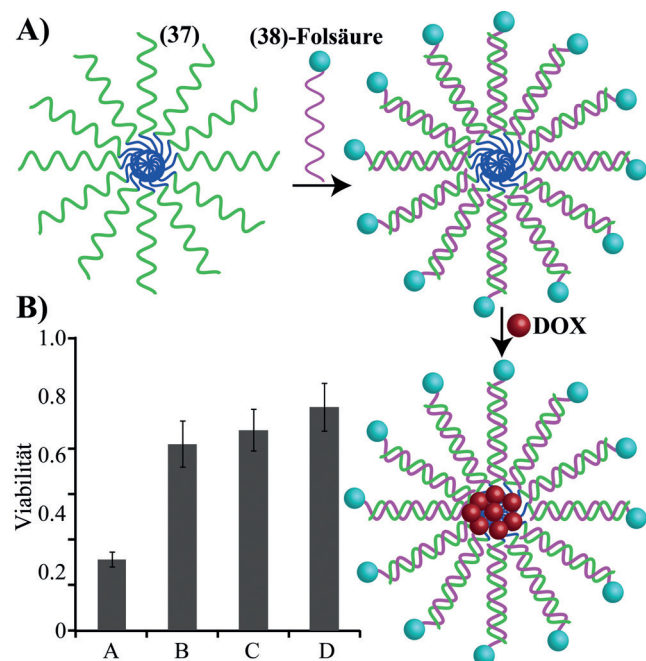


Abbildung 26. A) Herstellung von DOX-beladenen DNA-b-PPO-Micellen, die mit Folsäure-modifizierten Nucleinsäuren zum gezielten Transport zu Krebszellen funktionalisiert werden. B) Viabilität menschlicher Kolon-Adenokarzinom-Zellen (Caco-2-Zellen) nach Behandlung mit: a) DOX-beladenen Micellen, die mit Folsäure-Einheiten zur gezielten Ansteuerung funktionalisiert waren; b) DOX-beladenen Micellen und freier Folsäure; c) DOX-beladenen Micellen; d) unbeladenen Micellen, die mit Folsäure funktionalisiert waren. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [108]. Copyright 2008 Wiley-VCH.

Folsäure-modifizierten Micellen in menschliche Kolon-Adenokarzinom-Zellen (Caco-2-Zellen) eingebracht, und die Auswirkung der Hybridmicellen-Nanostruktur auf die Le-

bensfähigkeit von Krebszellen wurde im Vergleich zu verschiedenen Kontrollsystemen untersucht (Abbildung 26B). Eindeutig wurde mit den DOX-beladenen, Folsäure-funktionalisierten Nanostrukturen ein erheblicher Zelltod beobachtet, was darauf schließen lässt, dass der gezielte Transport und die wirksame Freisetzung des Wirkstoffs in den Zellen einen ausgeprägten Effekt auf die Lebensfähigkeit der Zellen hat.

Lichtempfindliche DNA-Lipid-Blockcopolymer-Vesikel wurden hergestellt und als stimuliresponsive Nanoträger zur kontrollierten Freisetzung von Frachten verwendet.^[109] Die aus 1,2-Diphytanoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholin aufgebauten Vesikel wurden mit Calcein beladen, und die Lipid-DNA wurde, in Form von 39-*b*-Polypropylenoxid (DNA-b-PPO), in die Vesikel eingebaut (Abbildung 27A). Die mit dem Pho-

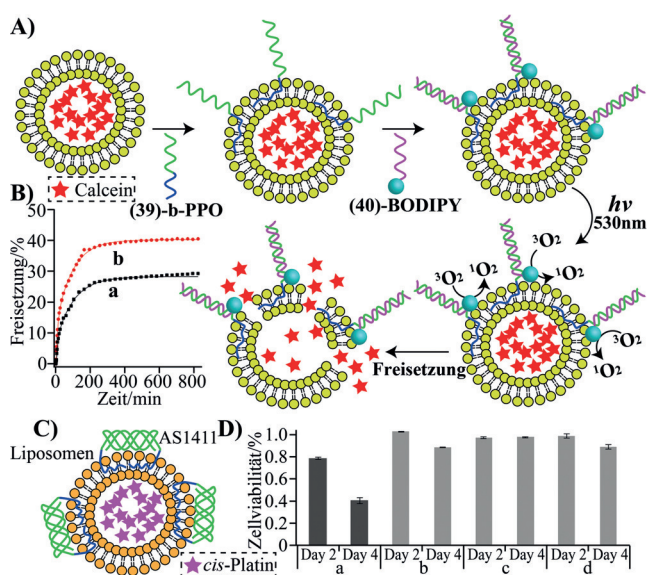


Abbildung 27. A) Herstellung von Calcein-beladenen Lipid-DNA-Vesikeln, die mit dem Photosensibilisator BODIPY funktionalisiert werden. Die durch den Photosensibilisator stimulierte Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies führt zum Abbau der Vesikel und zur Freisetzung der Frachten. B) Zeitabhängige Freisetzung der Calcein-Fracht nach Bestrahlung der Vesikel über: a) 104 min; b) 164 min. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [109]. Copyright 2013 Wiley-VCH. C) Aufbau von mit *cis*-Platin beladenen, AS1411-funktionalisierten Lipid-DNA-Liposomen. D) Viabilität von MCF-7-Zellen bzw. Kontrollsystemen bei Behandlung: a) mit *cis*-Platin-beladenen, AS1411-funktionalisierten Liposomen; b) mit Kontrollsystem mit *cis*-Platin, aber ohne das Aptamer AS1411 zur gezielten Ansteuerung; c) mit unbeladenen, AS1411-funktionalisierten Liposomen; d) von normalen Zellen mit *cis*-Platin-beladenen, AS1411-funktionalisierten Liposomen. Die Zellviabilität der verschiedenen Systeme wurde am Tag 2 und Tag 4 der Behandlung erfasst. Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [110]. Copyright 2009 Wiley-VCH.

tosensibilisator Iod-BODIPY funktionalisierte Nucleinsäure 40 wurde mit den auf der Oberfläche befindlichen DNA-Strängen hybridisiert, wodurch die mit dem Photosensibilisator modifizierten Vesikel erhalten wurden. Durch Bestrahlung des Systems bei 530 nm in Luft wurden Singulett-Sauerstoff und andere reaktive Sauerstoffspezies gebildet, was zum Abbau der Vesikelhüllen und zur Freisetzung der

Calcein-Fracht führte (Abbildung 27B). Wenn die Zeitspanne der Bestrahlung verlängert wird, resultiert eine wirksamere Freisetzung der Fracht. In ähnlicher Weise wurden Liposomen, die aus Phosphatidylcholin, Cholesterin und mit Methoxypoly(ethylenglykol) derivatisiertem Distearoylphosphatidylethanolamin aufgebaut waren, mit dem Tumorthapeutikum *cis*-Platin beladen.^[110] Das Cholesterin-funktionalisierte Aptamer AS1411 wurde in die Liposomenhülle eingebaut, wodurch das Aptamer-modifizierte, wirkstoffbeladene Liposom erhalten wurde (Abbildung 27C). Die Aptamer-Einheiten fungierten als Elemente zur gezielten Ansteuerung, die zur Bindung der Liposomen an Krebszellen führen und ihr Eindringen in die Krebszellen und die anschließende Wirkstofffreisetzung ermöglichen. Die mit *cis*-Platin-beladenen, Aptamer-funktionalisierten Liposomen wurden in MCF-7-Krebszellen eingebracht, und ihre Auswirkung auf die Zellviabilität wurde mit verschiedenen Kontrollsystemen verglichen, darunter Liposomen, bei denen die Aptamer-Einheiten zur gezielten Ansteuerung von Zellen fehlten, oder unbeladenen Aptamer-modifizierten Liposomen (Abbildung 27D). Nach einer Zeitspanne der Einwirkung der wirkstoffbeladenen Aptamer-funktionalisierten Liposomen auf die Krebszellen von vier Tagen wurde ein erheblicher Zelltod (ca. 60%) beobachtet, während bei den Kontrollsystemen eine Zellviabilität von nahezu 100% festgestellt wurde.^[110]

5. Zusammenfassung und Ausblick

Erhebliche Forschungsanstrengungen richten sich derzeit auf den Einsatz von Nanomaterialien für die medizinische Anwendung (Nanomedizin).^[111] Der vorliegende Aufsatz behandelt verschiedene DNA-funktionalisierte Container im Nano- und Mikromaßstab als stimuliresponsive Systeme zur kontrollierten Freisetzung von Frachten. Speziell wurden die Verwendung von mesoporösen SiO₂-NPs, die Anwendung von Mikrokapseln auf DNA-Basis und der Einsatz von Nukleinsäure-funktionalisierten Micellen und Vesikeln als Träger diskutiert. Das gemeinsame dominierende Element in all diesen Systemen ist die Einbindung von DNA in die verschiedenen Träger, wodurch die stimuliresponsiven Hybride zur kontrollierten Freisetzung der Frachten erhalten werden. In diesem Zusammenhang wurde aufgezeigt, dass die codierten Basensequenzen in den DNA-Einheiten die wichtige Information liefern, um durch externe Stimuli oder Stimuli aus der Umgebung die kontrollierte Freisetzung von Frachten aus den verschiedenen Containern auszulösen.

Stimuliresponsive DNA-modifizierte mesoporöse SiO₂-NPs wurden als Trägermatrix zur kontrollierten Freisetzung eingehend untersucht. Ihre Nanometerabmessungen, großen Oberflächen, Porenfüllungskapazitäten, ihre geringe Zytotoxizität, ihre effektive Endozytose und die einfache Modifizierung der Nanopartikel durch Antikörper, Aptamere oder Zellliganden zur gezielten Ansteuerung von Zellen machen SiO₂-NPs zu idealen Wirkstoffträgern. Tatsächlich wurden wesentliche Fortschritte demonstriert, und viele unterschiedliche Träger auf Basis stimuliresponsiver, mit DNA verschlossener mesoporöser SiO₂-NPs wurden beschrieben.

Die Entriegelung der Poren durch externe Trigger und die Freisetzung der Frachten wurde mit verschiedenen Mechanismen dargestellt. Außerdem wurden die Endozytose von mit Tumorthapeutika beladenen Partikeln, die getriggerte intrazelluläre Freisetzung der Wirkstoffe und die Auswirkung der freigesetzten Wirkstoffe auf die Lebensfähigkeit der Zellen erörtert. Entscheidende und herausfordernde Aspekte bei der Anwendung von mesoporösen SiO₂-NPs als Wirkstoffträger liegen noch vor uns: 1) Das grundlegende Verständnis der Endozytosemechanismen der NPs ist notwendig. Außerdem sind weitere Methoden erforderlich, um die Selektivität der Endozytose (z.B. Krebszellen gegenüber normalen Zellen) und den gezielten Transport der NPs in spezifische Zellen zu verbessern. 2) Gegenwärtig wird mit den meisten Systemen die stimuliekontrollierte Freisetzung von fluoreszierenden Tumorthapeutika (z.B. DOX, CPT) oder Fluoreszenzfarbstoffen als Modelle zur Wirkstofffreisetzung demonstriert. Das ist vor allem auf die leichte quantitative Verfolgung der In-vitro-Freisetzungsraten der Frachten zurückzuführen. Die Einführung anderer Analyseverfahren, z.B. HPLC, zur Untersuchung der Freisetzung nicht fluoreszierender Wirkstoffe würde das Spektrum potenzieller medizinischer Anwendungen erweitern. 3) Die systematische therapeutische In-vivo-Untersuchung der stimuliresponsiven, DNA-funktionalisierten mesoporösen SiO₂-NPs an Lebewesen wie Maus, Ratte, Schwein wäre ein wesentlicher Schritt hin zu einer praktischen und rationalen Anwendung dieser Hybride in der zukünftigen Nanomedizin. 4) Die Immunität der verschiedenen DNA-modifizierten Nanostrukturen ist ein weiterer wichtiger Punkt, der zu prüfen ist.

Mikrokapseln auf DNA-Basis bilden eine interessante Klasse von Nano- und Mikrocontainern. Während die Herstellung und Aufspaltung allgemeiner supramolekularer Kapseln gut erforscht ist, sind die Fortschritte bei der Herstellung von funktionellen beladenen Mikro- und Nanokapseln auf DNA-Basis und ihrer Öffnung zur Freisetzung der Frachten begrenzt. Die Verwendung von Nukleinsäuren als negativ geladener Polyelektrolyt wurde aufgezeigt, und der enzymatische Abbau dieser Kapseln durch hydrolytische Spaltung der Biopolymere wurde beschrieben. In diesen Studien wurde jedoch nicht von den Möglichkeiten Gebrauch gemacht, Information in die DNA der Umhüllung der Mikrokapseln zu codieren. Speziell könnte die Einführung von Erkennungsfunktionen und katalytischen Funktionen in die DNA-Hüllen neue Möglichkeiten und Herausforderungen auf dem Gebiet der DNA-Nanotechnologie bieten. Eine Idee wären z.B. vollständig aus DNA bestehende Hüllen, die aus programmierten, durch Aptamere vernetzten DNA-Schichten oder aus Schichten von Metallionen-abhängigen DNAzymen zusammengesetzt sind. Die ausgelöste Spaltung der Kapseln über Aptamer-Ligand-Komplexe oder durch die katalytische, durch Metallionen-abhängige DNAzyme stimulierte Aufspaltung der Hüllen könnten wichtige Konzepte sein, die es zu erforschen gilt. In ähnlicher Weise könnten die ionengestützte Vernetzung der Nukleinsäureschichten (z.B. über T-Hg²⁺-T- oder C-Ag⁺-C-Brücken) und die anschließende Abspaltung der die Hüllen stabilisierenden Ionen durch geeignete Liganden (z.B. Cystamin) einen generellen Weg zur Bildung und Aufspaltung der Kapseln darstellen.

Alternativ könnte der Einsatz von photoisomerisierbaren Interkalatoren, z.B. Azobenzol-Einheiten, die Stabilisierung von Hüllen aus vernetzter DNA und die nachfolgende Aufspaltung durch Licht ermöglichen. Außerdem könnte der schrittweise Aufbau der DNA-Hüllen den programmierten Einbau von Aptamer-Strängen in die äußeren Hüllenschichten ermöglichen, womit die Kapseln gezielt zu spezifischen Zellen transportiert werden könnten. Auch die Fortschritte beim Aufbau zweidimensionaler^[112] oder dreidimensionaler DNA-Origami-Nanostrukturen^[113] eröffnen neue Möglichkeiten, um eine mehrschichtige Polymerhülle auf einem Kernpartikel-Templat unter anschließender Auflösung des Kerns aufzubauen. Durch die entsprechende Anordnung von hervorstehenden Nukleinsäure-Strängen an den DNA-Origami-Gerüsten können der Einbau stimuliempfindlicher Einheiten in die Nanostrukturen^[114] und die programmierte Assoziation von Frachten bewirkt werden. Beispielsweise wurde eine kapselförmige stimuliempfindliche DNA-Nanostruktur realisiert, die als Robotersystem dient.^[115] Zwei Verschlüsse der Origami-Einheiten wurden mit hervorstehenden Nukleinsäuren modifiziert und als funktionelle Komponenten verwendet, um ein Reservoir zur Einbindung molekularer Beladungen auszubilden und das Reservoir durch Paarung komplementärer Basen zu verriegeln. Mit der entsprechenden Ausführung der DNA-Verschlüsseinheiten, damit sie als spezifische Aptamere zellulären Biomarkern entgegenwirken, wurden die programmierte Entriegelung des DNA-funktionalisierten Containers und die Freisetzung von Frachten demonstriert.

Die Anwendung stimuliempfindlicher Micellen und Vesikel als funktionelle Nanoträger zur kontrollierten Freisetzung von Frachten ist ein weiterer interessanter Weg, der verfolgt wird. Obwohl die grundlegenden Funktionen dieser Träger aufgezeigt wurden, müssen in Zukunft noch wichtige Fragen geklärt werden. So sind die Mechanismen, die mit der Endozytose von Lipid-DNA-Micellen bzw. Lipid-DNA-Vesikeln verbunden sind, der Aufbau von auf DNA basierenden Micellen bzw. Vesikeln höherer Komplexität, z.B. von photoresponsiven Systemen, und die In-vivo-Anwendung dieser Systeme anspruchsvolle Themen, die angegangen werden müssen.

Bei den im vorliegenden Aufsatz erörterten Anwendungen der verschiedenen stimuliempfindlichen Container wurde die Verwendung von Trägern zur kontrollierten Wirkstofffreisetzung hervorgehoben. Obwohl zu erwarten ist, dass sich der Einsatz dieser funktionellen DNA-Hybridssysteme auf das sich entwickelnde Gebiet der Nanomedizin auswirken wird, können auch andere Anwendungen der programmierten Freisetzung von Frachten ins Auge gefasst werden. Ein Beispiel ist die programmierte Freisetzung von molekularen oder biomolekularen Beladungen aus einem Träger als ein innovativer Weg für die programmierte Synthese, die Aktivierung von Enzymkaskaden^[116] und die Nutzung der Systeme für Operationen von Logikgattern.^[117] Darüber hinaus haben andere stimuliempfindliche Materialien auf DNA-Basis, wie Hydrogele, erhebliche Forschungsanstrengungen auf sich gezogen.^[118] Es ist damit zu rechnen, dass die Miniaturisierung dieser Materialien in Form von Nano- und Mikrohydrogelen neue Dimensionen im Bereich der Wirkstofffrei-

setzung erschließen wird. Somit ist abschließend festzustellen, dass stimuliempfindliche Hybrid-Nanomaterialien auf DNA-Basis vor einer erfolgreichen Zukunft in der Nanomedizin stehen.

Unsere Forschungen zu stimuliempfindlichen Nanopartikeln und Nanomaterialien werden von NanoSensomach ERC Advanced Grant No. 267574 unter dem Programm EC FP7/2007-2013 unterstützt.

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 12212–12235
Angew. Chem. **2015**, *127*, 12380–12405

-
- [1] F. Wang, C. H. Lu, I. Willner, *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 2881–2941.
[2] a) K. Gehring, J. L. Leroy, M. Guéron, *Nature* **1993**, *363*, 561–565; b) J. L. Leroy, M. Guéron, J. L. Mergny, C. Helene, *Nucleic Acids Res.* **1994**, *22*, 1600–1606; c) S. Nonin, J. L. Leroy, *J. Mol. Biol.* **1996**, *261*, 399–414; d) D. Collin, K. Gehring, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4069–4072.
[3] a) D. Sen, W. Gilbert, *Nature* **1988**, *334*, 364–366; b) T. Simonsson, *Biol. Chem.* **2001**, *382*, 621–628; c) S. Burge, G. N. Parkinson, P. Hazel, A. K. Todd, S. Neidle, *Nucleic Acids Res.* **2006**, *34*, 5402–5415; d) J. T. Davis, G. P. Spada, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 296–313; e) G. W. Collie, G. N. Parkinson, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 5867–5892.
[4] a) V. Sklenar, J. Feigon, *Nature* **1990**, *345*, 836–838; b) R. Haner, P. B. Dervan, *Biochemistry* **1990**, *29*, 9761–9765; c) J. Völker, D. P. Botes, G. G. Lindsey, H. H. Klump, *J. Mol. Biol.* **1993**, *230*, 1278–1290; d) D. Leitner, W. Schroder, K. Weisz, *Biochemistry* **2000**, *39*, 5886–5892; e) A. Soto, J. Loo, L. Marky, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14355–14363; f) Y. Chen, S. H. Lee, C. Mao, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 5335–5338; *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 5449–5452.
[5] a) Y. Miyake, H. Togashi, M. Tashiro, H. Yamaguchi, S. Oda, M. Kudo, Y. Tanaka, Y. Kondo, R. Sawa, T. Fujimoto, T. Machinami, A. Ono, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 2172–2173; b) Y. Tanaka, S. Oda, H. Yamaguchi, Y. Kondo, C. Kojima, A. Ono, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 244–245; c) S. He, D. Li, C. Zhu, S. Song, L. Wang, Y. Long, C. Fan, *Chem. Commun.* **2008**, 4885–4887; d) C. W. Liu, Y. T. Hsieh, C. C. Huang, H. T. Chang, *Chem. Commun.* **2008**, 2242–2244; e) Z. Zhu, Y. Su, J. Li, D. Li, J. Zhang, S. Song, Y. Zhao, G. Li, C. Fan, *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 7660–7666; f) T. Li, S. Dong, E. Wang, *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 2144–2149.
[6] a) C. K. Chiang, C. C. Huang, C. W. Liu, H. T. Chang, *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 3716–3721; b) A. Ono, S. Q. Cao, H. Togashi, M. Tashiro, T. Fujimoto, T. Machinami, S. Oda, Y. Miyake, I. Okamoto, Y. Tanaka, *Chem. Commun.* **2008**, 4825–4827; c) R. Freeman, T. Finder, I. Willner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 7818–7821; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 7958–7961; d) Y. Wen, F. Xing, S. He, S. Song, L. Wang, Y. Long, D. Li, C. Fan, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 2596–2598; e) K. S. Park, C. Jung, H. G. Park, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 9757–9760; *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 9951–9954.
[7] a) J. SantaLucia, D. Hicks, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **2004**, *33*, 415–440; b) D. Y. Zhang, A. J. Turberfield, B. Yurke, E. Winfree, *Science* **2007**, *318*, 1121–1125; c) D. Y. Zhang, E. Winfree, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 17303–17314; d) D. Soloveichik, G. Seelig, E. Winfree, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, *107*, 5393–5398; e) D. Y. Zhang, G. Seelig, *Nat. Chem.* **2011**, *3*, 103–113.

- [8] a) S. Tyagi, F. Kramer, *Nat. Biotechnol.* **1996**, *14*, 303–308; b) J. Li, X. Fang, S. Schuster, W. Tan, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1049–1052; *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 1091–1094; c) P. Zhang, T. Beck, W. Tan, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 402–405; *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 416–419; d) K. Fujimoto, H. Shimizu, M. Inouye, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 3271–3275; e) I. Nesterova, S. Erdem, S. Pakhomov, R. Hammer, S. Soper, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 2432–2433; f) S. Song, Z. Liang, J. Zhang, L. Wang, G. Li, C. Fan, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 8670–8674; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 8826–8830; g) R. Häner, S. Biner, S. Langenegger, T. Meng, V. Malinovskii, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 1227–1230; *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 1249–1252; h) A. Jayagopal, K. Halfpenny, J. Perez, D. Wright, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 9789–9796.
- [9] a) D. Liu, S. Balasubramanian, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 5734–5736; *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 5912–5914; b) S. Modi, M. G. Swetha, D. Goswami, G. D. Gupta, S. Mayor, Y. Krishnan, *Nat. Nanotechnol.* **2009**, *4*, 325–330; c) A. Idili, A. Vallée-Bélisle, F. Ricci, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 5836–9583; d) T. Li, M. Famulok, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 1593–1599.
- [10] a) S. Shimron, J. Elbaz, A. Henning, I. Willner, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 3250–3252; b) C. H. Lu, X. J. Qi, R. Orbach, H. H. Yang, I. Mironi-Harpaz, D. Seliktar, I. Willner, *Nano Lett.* **2013**, *13*, 1298–1302; c) W. Guo, X. J. Qi, R. Orbach, C. H. Lu, L. Freage, I. Mironi-Harpaz, D. Seliktar, H. H. Yang, I. Willner, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 4065–4068.
- [11] a) H. Asanuma, T. Takarada, T. Yoshida, D. Tamaru, X. Liang, M. Komiyama, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2671–2673; *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2743–2745; b) H. Kashida, T. Fujii, H. Asanuma, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 2892–2899; c) X. Liang, T. Mochizuki, H. Asanuma, *Small* **2009**, *5*, 1761–1768.
- [12] a) J. F. Lee, G. M. Stovall, A. D. Ellington, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2006**, *10*, 282–289; b) I. Willner, M. Zayats, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 6408–6418; *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 6528–6538; c) A. A. Goulko, F. Li, X. C. Le, *TrAC Trends Anal. Chem.* **2009**, *28*, 878–892; d) M. Famulok, G. Mayer, *Acc. Chem. Res.* **2011**, *44*, 1349–1358.
- [13] a) C. Tuerk, L. Gold, *Science* **1990**, *249*, 505–510; b) A. D. Ellington, J. W. Szostak, *Nature* **1990**, *346*, 818–822; c) S. E. Osborne, A. D. Ellington, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 349–370.
- [14] a) R. R. Breaker, G. F. Joyce, *Chem. Biol.* **1994**, *1*, 223–229; b) G. F. Joyce, *Annu. Rev. Biochem.* **2004**, *73*, 791–836; c) M. Famulok, J. S. Hartig, G. Mayer, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 3715–3743; d) G. F. Joyce, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 6420–6436; *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 6540–6557; e) I. Willner, B. Shlyahovsky, M. Zayats, B. Willner, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 1153–1165.
- [15] a) P. Travascio, Y. Li, D. Sen, *Chem. Biol.* **1998**, *5*, 505–517; b) P. Travascio, A. J. Bennet, D. Y. Wang, D. Sen, *Chem. Biol.* **1999**, *6*, 779–787; c) P. Travascio, P. K. Witting, A. G. Mauk, D. Sen, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1337–1348.
- [16] a) R. K. Saiki, D. H. Gelfand, S. Stoffel, S. J. Scharf, R. Higuchi, G. T. Horn, K. B. Mullis, H. A. Erlich, *Science* **1988**, *239*, 487–491; b) A. R. Pavlov, N. V. Pavlova, S. A. Kozyavkin, A. I. Slesarev, *Trends Biotechnol.* **2004**, *22*, 253–260; c) Q. Guo, X. Yang, K. Wang, W. Tan, W. Li, H. Tang, H. Li, *Nucleic Acids Res.* **2009**, *37*, e20.
- [17] a) P. Widlak, W. T. Garrard, *J. Cell. Biochem.* **2005**, *94*, 1078–1087; b) B. L. Stoddard, *Q. Rev. Biophys.* **2005**, *38*, 49–95; c) K. Calvin, H. Li, *Cell. Mol. Life Sci.* **2008**, *65*, 1176–1185.
- [18] a) Y. Weizmann, M. K. Beissenhertz, Z. Cheglakov, R. Nowarski, M. Kotler, I. Willner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 7384–7388; *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 7544–7548; b) B. Shlyahovsky, D. Li, Y. Weizmann, R. Nowarski, M. Kotler, I. Willner, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 3814–3815; c) D. Li, A. Wiecekowska, I. Willner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 3927–3931; *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 3991–3995.
- [19] a) D. Mukherjee, D. T. Fritz, W. J. Kilpatrick, M. Gao, J. Wilusz, *Methods Mol. Biol.* **2004**, *257*, 193–212; b) S. West, N. Gromak, N. J. Proudfoot, *Nature* **2004**, *432*, 522–525.
- [20] F. Wang, X. Liu, I. Willner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 1098–1129; *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 1112–1144.
- [21] a) H. Yan, X. Zhang, Z. Shen, N. C. Seeman, *Nature* **2002**, *415*, 62–65; b) N. C. Seeman, *Trends Biochem. Sci.* **2005**, *30*, 119–125; c) F. Wang, B. Willner, I. Willner, *Top. Curr. Chem.* **2014**, *354*, 279–338; d) M. K. Beissenhertz, I. Willner, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 3392–3401; e) J. Bath, A. J. Turberfield, *Nat. Nanotechnol.* **2007**, *2*, 275–284; f) C. Teller, I. Willner, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2010**, *21*, 376–391; g) Y. Krishnan, F. C. Simmel, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 3124–3156; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 3180–3215.
- [22] a) I. Willner, B. Willner, *Nano Lett.* **2010**, *10*, 3805–3815; b) F. Li, Y. Huang, Q. Yang, Z. Zhong, D. Li, L. Wang, S. Song, C. Fan, *Nanoscale* **2010**, *2*, 1021–1026; c) C. H. Lu, J. Li, J. J. Liu, H. H. Yang, X. Chen, G. N. Chen, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 4889–4894; d) Y. V. Gerasimova, D. M. Kolpashchikov, *Chem. Biol.* **2010**, *17*, 104–106; e) F. Wang, J. Elbaz, R. Orbach, N. Magen, I. Willner, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 17149–17151; f) S. Shimron, F. Wang, R. Orbach, I. Willner, *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 1042–1048; g) Y. Du, B. Li, E. Wang, *Acc. Chem. Res.* **2013**, *46*, 203–213.
- [23] a) D. M. Kolpashchikov, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 2934–2935; b) T. Li, L. Shi, E. Wang, S. Dong, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 1036–1042; c) J. Liu, Z. Cao, Y. Lu, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 1948–1998; d) F. Wang, J. Elbaz, C. Teller, I. Willner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 295–299; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 309–313; e) G. Pelossof, R. Tel-Vered, I. Willner, *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 3703–3709; f) F. Wang, C. H. Lu, X. Liu, L. Freage, I. Willner, *Anal. Chem.* **2014**, *86*, 1614–1621.
- [24] a) M. N. Stojanović, D. Stefanović, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 6673–6676; b) M. N. Stojanovic, S. Semova, D. Kolpashchikov, J. Macdonald, C. Morgan, D. Stefanovic, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 6914–6915; c) G. Seelig, D. Soloveichik, D. Y. Zhang, E. Winfree, *Science* **2006**, *314*, 1585–1588; d) J. Macdonald, Y. Li, M. Sutovic, H. Lederman, K. Pendri, W. Lu, B. L. Andrews, D. Stefanovic, M. N. Stojanovic, *Nano Lett.* **2006**, *6*, 2598–2603; e) J. Elbaz, O. Lioubashevski, F. Wang, F. Remacle, R. D. Levine, I. Willner, *Nat. Nanotechnol.* **2010**, *5*, 417–422; f) L. Qian, E. Winfree, *Science* **2011**, *332*, 1196–1201; g) J. Elbaz, F. Wang, F. Remacle, I. Willner, *Nano Lett.* **2012**, *12*, 6049–6054; h) R. Orbach, L. Mostinski, F. Wang, I. Willner, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 14689–14694.
- [25] a) A. Saghatelyan, N. H. Völcker, K. M. Guckian, V. S. Lin, M. R. Ghadiri, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 346–347; b) B. Shlyahovsky, Y. Li, O. Lioubashevski, J. Elbaz, I. Willner, *ACS Nano* **2009**, *3*, 1831–1843; c) T. Li, E. Wang, S. Dong, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 15082–15083; d) R. Pei, E. Matamoros, M. Liu, D. Stefanovic, M. N. Stojanovic, *Nat. Nanotechnol.* **2010**, *5*, 773–777; e) T. Li, L. Zhang, J. Ai, S. Dong, E. Wang, *ACS Nano* **2011**, *5*, 6334–6338; f) H. Pei, L. Liang, G. Yao, J. Li, Q. Huang, C. Fan, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 9020–9024; *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 9154–9158; g) R. Orbach, F. Wang, O. Lioubashevski, R. D. Levine, F. Remacle, I. Willner, *Chem. Sci.* **2014**, *5*, 3381–3387; h) R. Orbach, S. Lilienthal, M. Klein, R. D. Levine, F. Remacle, I. Willner, *Chem. Sci.* **2015**, *6*, 1288–1292.
- [26] a) L. Chen, R. K. Singh, P. Webley, *Microporous Mesoporous Mater.* **2007**, *102*, 159–170; b) Y. L. Cao, J. M. Cao, M. B. Zheng, J. S. Liu, G. B. Ji, *J. Solid State Chem.* **2007**, *180*, 792–798; c) Y. Chen, E. Stathatos, D. D. Dionysiou, *Surf. Coat. Technol.* **2008**, *202*, 1944–1950; d) J. Górka, M. Jaroniec, *Carbon* **2011**, *49*, 154–160.
- [27] a) C. T. Kresge, M. E. Leonowicz, W. J. Roth, J. C. Vartuli, J. S. Beck, *Nature* **1992**, *359*, 710–712; b) N. Negishi, T. Iyoda, K. Hashimoto, A. Fujishima, *Chem. Lett.* **1995**, *24*, 841–842; c) M.

- Grün, I. Lauer, K. K. Unge, *Adv. Mater.* **1997**, *9*, 254–257; d) D. Brühwiler, *Nanoscale* **2010**, *2*, 887–892; e) J. Zhao, P. Wan, J. Xiang, T. Tong, L. Dong, Z. Gao, X. Shen, H. Tong, *Microporous Mesoporous Mater.* **2011**, *138*, 200–206; f) M. Colilla, B. Gonzalez, M. Vallet-Regi, *Biomater. Sci.* **2013**, *1*, 114–134.
- [28] a) S. Tao, G. Li, *Colloid Polym. Sci.* **2007**, *285*, 721–728; b) T. Wagner, S. Haffer, C. Weinberger, D. Klaus, M. Tiemann, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 4036–4053.
- [29] a) M. Vallet-Regí, F. Balas, D. Arcos, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 7548–7558; *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 7692–7703; b) M. Liong, J. Lu, M. Kowochich, T. Xia, S. G. Ruehm, A. E. Nel, F. Tamanoi, J. I. Zink, *ACS Nano* **2008**, *2*, 889–896; c) Y. Zhao, B. G. Trewyn, I. I. Slowing, V. S.-Y. Lin, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 3462–3463.
- [30] a) Y. Sakamoto, M. Kaneda, O. Terasaki, D. Y. Zhao, J. M. Kim, G. Stucky, H. J. Shin, R. Ryoo, *Nature* **2000**, *408*, 449–453; b) J. Kim, H. S. Kim, N. Lee, T. Kim, H. Kim, T. Yu, I. C. Song, W. K. Moon, T. Hyeon, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 8438–8441; *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 8566–8569; c) C.-P. Tsai, Y. Hung, Y.-H. Chou, D.-M. Huang, J.-K. Hsiao, C. Chang, Y.-C. Chen, C.-Y. Mou, *Small* **2008**, *4*, 186–191.
- [31] a) S. Xiang, Y. Zhang, Q. Xin, C. Li, *Chem. Commun.* **2002**, 2696–2697; b) S. Huh, H.-T. Chen, J. W. Wiench, M. Pruski, V. S.-Y. Lin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1826–1830; *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 1860–1864; c) F. Jiao, H. Frei, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 1841–1844; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 1873–1876.
- [32] a) Q. Yang, S. Wang, P. Fan, L. Wang, Y. Di, K. Lin, F.-S. Xiao, *Chem. Mater.* **2005**, *17*, 5999–6003; b) Q. Gao, Y. Xu, D. Wu, W. Shen, F. Deng, *Langmuir* **2010**, *26*, 17133–17138; c) H. Zheng, Y. Wang, S. Che, *J. Phys. Chem. C* **2011**, *115*, 16803–16813.
- [33] C.-Y. Lai, B. G. Trewyn, D. M. Jeftinija, K. Jeftinija, S. Xu, S. Jeftinija, V. S.-Y. Lin, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4451–4459.
- [34] a) R. Liu, X. Zhao, T. Wu, P. Feng, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 14418–14419; b) Z. Luo, K. Cai, Y. Hu, L. Zhao, P. Liu, L. Duan, W. Yang, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 640–643; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 666–669.
- [35] a) X. Wan, D. Wang, S. Liu, *Langmuir* **2010**, *26*, 15574–15579; b) Z. Zhang, D. Balogh, F. Wang, R. Tel-Vered, N. Levy, S. Y. Sung, R. Nechushtai, I. Willner, *J. Mater. Chem. B* **2013**, *1*, 3159–3166.
- [36] E. Aznar, R. Casaus, B. Garcia-Acosta, M. D. Marcos, R. Martinez-Manez, F. Sancenon, J. Soto, P. Amoros, *Adv. Mater.* **2007**, *19*, 2228–2231.
- [37] K. Zhang, W. Wu, K. Guo, J. Chen, P. Zhang, *Langmuir* **2010**, *26*, 7971–7980.
- [38] a) C. R. Thomas, D. P. Ferris, J.-H. Lee, E. Choi, M. H. Cho, E. S. Kim, J. F. Stoddart, J.-S. Shin, J. Cheon, J. I. Zink, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 10623–10625; b) P. J. Chen, S. H. Hu, C. S. Hsiao, Y. Y. Chen, D. M. Liu, S. Y. Chen, *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 2535–2543; c) E. Bringas, O. Koysuren, D. V. Quach, M. Mahmoudi, E. Aznar, J. D. Roehling, M. D. Marcos, R. Martinez-Manez, P. Stroeve, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 5647–5649.
- [39] a) H. Takahashi, B. Li, T. Sasaki, C. Miyazaki, T. Kajino, S. Inagaki, *Chem. Mater.* **2000**, *12*, 3301–3305; b) C. Lei, Y. Shin, J. Liu, E. J. Ackerman, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 11242–11243; c) S. Giri, B. G. Trewyn, M. P. Stellmaker, V. S.-Y. Lin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5038–5044; *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 5166–5172; d) C. Park, H. Kim, S. Kim, C. Kim, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 16614–16615.
- [40] Y. Zhao, B. G. Trewyn, I. I. Slowing, V. S.-Y. Lin, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 8398–8400.
- [41] a) B. Hildebrandt, P. Wust, O. Ahlers, A. Dieing, G. Sreenivasa, T. Kerner, R. Felix, H. Riess, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **2002**, *43*, 33–56; b) J. Croissant, J. I. Zink, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 7628–7631.
- [42] a) A. Papat, S. B. Hartono, F. Stahr, J. Liu, S. Z. Qiao, G. Q. Lu, *Nanoscale* **2011**, *3*, 2801–2818; b) P. Nadrah, O. Planinsek, M. Gaberscek, *J. Mater. Sci.* **2014**, *49*, 481–495.
- [43] a) Y. Xing, E. Cheng, Y. Yang, P. Chen, T. Zhang, Y. Sun, Z. Yang, D. Liu, *Adv. Mater.* **2011**, *23*, 1117–1121; b) M. S. Hung, O. Kurosawa, M. Washizu, *Mol. Cell. Probes* **2012**, *26*, 107–112.
- [44] C. Chen, J. Geng, F. Pu, X. Yang, J. Ren, X. Qu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 882–886; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 912–916.
- [45] Z. Zhang, D. Balogh, F. Wang, S. Y. Sung, R. Nechushtai, I. Willner, *ACS Nano* **2013**, *7*, 8455–8468.
- [46] C. Temme, R. Weissbach, H. Lilie, C. Wilson, A. Meinhart, S. Meyer, R. Golbik, A. Schierhorn, E. Wahle, *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 8337–8348.
- [47] R. J. Devenish, M. Prescott, G. M. Boyle, P. Nagley, *J. Bioenerg. Biomembr.* **2000**, *32*, 507–515.
- [48] S. Zhou, X. Du, F. Cui, X. Zhang, *Small* **2014**, *10*, 980–988.
- [49] E. Climent, R. Martínez-Mañez, F. Sancenón, M. D. Marcos, J. Soto, A. Maquieira, P. Amorós, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 7281–7283; *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 7439–7441.
- [50] W. P. Li, P. Y. Liao, C. H. Su, C. S. Yeh, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 10062–10075.
- [51] C. Chen, F. Pu, Z. Huang, Z. Liu, J. Ren, X. Qu, *Nucleic Acids Res.* **2011**, *39*, 1638–1644.
- [52] L. Chen, J. Di, C. Cao, Y. Zhao, Y. Ma, J. Luo, Y. Wen, W. Song, Y. Song, L. Jiang, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 2850–2852.
- [53] Z. Zhang, F. Wang, Y. S. Sohn, R. Nechushtai, I. Willner, *Adv. Funct. Mater.* **2014**, *24*, 5662–5670.
- [54] M. Chen, S. Yang, X. He, K. Wang, P. Qiu, D. He, *J. Mater. Chem. B* **2014**, *2*, 6064–6071.
- [55] X. He, Y. Zhao, D. He, K. Wang, F. Xu, J. Tang, *Langmuir* **2012**, *28*, 12909–12915.
- [56] a) L. Chen, Y. Wen, B. Su, J. Di, Y. Song, L. Jiang, *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 13811–13816; b) C. L. Zhu, C. H. Lu, X. Y. Song, H. H. Yang, X. R. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 1278–1281.
- [57] P. Zhang, F. Cheng, R. Zhou, J. Cao, J. Li, C. Burda, Q. Min, J. J. Zhu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 2371–2375; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 2403–2407.
- [58] Z. Li, Z. Liu, M. Yin, X. Yang, Q. Yuan, J. Ren, X. Qu, *Biomacromolecules* **2012**, *13*, 4257–4263.
- [59] Z. Zhang, D. Balogh, F. Wang, I. Willner, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 1934–1940.
- [60] Z. Zhang, F. Wang, D. Balogh, I. Willner, *J. Mater. Chem. B* **2014**, *2*, 4449–4455.
- [61] a) F. Pu, Z. Liu, X. Yang, J. Ren, X. Qu, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 6024–6026; b) F. Pu, Z. Liu, J. Ren, X. Qu, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 2305–2307; c) F. Pu, J. Ren, X. Qu, *Adv. Mater.* **2014**, *26*, 5742–5757.
- [62] a) M. Diez, M. Arroyo, F. J. Cerdan, M. Munoz, M. A. Martin, J. L. Balibrea, *Oncology* **1989**, *46*, 230–234; b) S. K. Gupta, V. K. Shukla, M. P. Vaidya, S. K. Roy, S. Gupta, *J. Surg. Oncol.* **1993**, *52*, 172–175.
- [63] a) J. L. Wike-Hooley, J. Haveman, H. S. Reinhold, *Radiother. Oncol.* **1984**, *2*, 343–366; b) P. Vaupel, F. Kallinowski, P. Okunieff, *Cancer Res.* **1989**, *49*, 6449–6465.
- [64] Q. Yuan, Y. Zhang, T. Chen, D. Lu, Z. Zhao, X. Zhang, Z. Li, C.-H. Yan, W. Tan, *ACS Nano* **2012**, *6*, 6337–6344.
- [65] Y. Wen, L. Xu, W. Wang, D. Wang, H. Du, X. Zhang, *Nanoscale* **2012**, *4*, 4473–4476.
- [66] D. He, X. He, K. Wang, J. Cao, Y. Zhao, *Adv. Funct. Mater.* **2012**, *22*, 4704–4710.
- [67] C. Chen, L. Zhou, J. Geng, J. Ren, X. Qu, *Small* **2013**, *9*, 2793–2800.
- [68] X. Yang, X. Liu, Z. Liu, F. Pu, J. Ren, X. Qu, *Adv. Mater.* **2012**, *24*, 2890–2895.
- [69] N. Li, Z. Yu, W. Pan, Y. Han, T. Zhang, B. Tang, *Adv. Funct. Mater.* **2013**, *23*, 2255–2262.

- [70] a) Y. Wang, A. S. Angelatos, F. Caruso, *Chem. Mater.* **2008**, *20*, 848–858; b) L. L. del Mercato, P. Rivera-Gil, A. Z. Abbasi, M. Ochs, C. Ganas, I. Zins, C. Sönnichsen, W. J. Parak, *Nanoscale* **2010**, *2*, 458–467; c) A. G. Skirtach, A. M. Yashchenok, H. Möhwald, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 12736–12746; d) W. Tong, X. Song, C. Gao, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 6103–6124.
- [71] a) Y. J. Wang, V. Bansal, A. N. Zelikin, F. Caruso, *Nano Lett.* **2008**, *8*, 1741–1745; b) B. G. De Geest, S. De Koker, G. B. Sukhorukov, O. Kreft, W. J. Parak, A. G. Skirtach, J. Demeester, S. C. De Smedt, W. E. Hennink, *Soft Matter* **2009**, *5*, 282–291; c) L. J. De Cock, S. De Koker, B. G. De Geest, J. Grooten, C. Vervaet, J. P. Remon, G. B. Sukhorukov, M. N. Antipina, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 6954–6973; *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 7108–7127; d) S. De Koker, B. N. Lambrecht, M. A. Willart, Y. van Kooyk, J. Grooten, C. Vervaet, J. P. Remon, B. G. De Geest, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 320–339; e) M. M. de Villiers, Y. M. Lvov, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2011**, *63*, 699–700.
- [72] H. Ai, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2011**, *63*, 772–788.
- [73] a) L. J. Ignarro, G. M. Buga, K. S. Wood, R. E. Byrns, G. Chaudhuri, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1987**, *84*, 9265–9269; b) T. A. Duchesne, J. Q. Brown, K. B. Guice, Y. M. Lvov, M. J. McShane, *Sens. Mater.* **2002**, *14*, 293–308; c) R. Srivastava, M. J. McShane, *J. Microencapsulation* **2005**, *22*, 397–411; d) O. Kreft, A. M. Javier, G. B. Sukhorukov, W. J. Parak, *J. Mater. Chem.* **2007**, *17*, 4471–4476; e) S. Amemori, M. Matsusaki, M. Akashi, *Chem. Lett.* **2010**, *39*, 42–43.
- [74] W. Qi, X. H. Yan, J. B. Fei, A. H. Wang, Y. Cui, J. B. Li, *Biomaterials* **2009**, *30*, 2799–2806.
- [75] A. G. Skirtach, B. G. De Geest, A. Mamedov, A. A. Antipov, N. A. Kotov, G. B. Sukhorukov, *J. Mater. Chem.* **2007**, *17*, 1050–1054.
- [76] a) C. S. Peyratout, L. Dähne, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3762–3783; *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 3850–3872; b) P. R. Gil, L. L. del Mercato, P. del Pino, A. Munoz Javier, W. J. Parak, *Nano Today* **2008**, *3*, 12–21.
- [77] a) F. Caruso, A. S. Susha, M. Giersig, H. Möhwald, *Adv. Mater.* **1999**, *11*, 950–953; b) X. P. Qiu, S. Leporatti, E. Donath, H. Möhwald, *Langmuir* **2001**, *17*, 5375–5380; c) G. Berth, A. Voigt, H. Dautzenberg, E. Donath, H. Möhwald, *Biomacromolecules* **2002**, *3*, 579–590; d) E. Kharlampieva, S. A. Sukhishvili, *Polym. Rev.* **2006**, *46*, 377–395; e) Z. P. Wang, Z. Q. Feng, C. Y. Gao, *Chem. Mater.* **2008**, *20*, 4194–4199; f) Y. Zhu, W. J. Tong, C. Y. Gao, *Soft Matter* **2011**, *7*, 5805–5815; g) G. K. Such, A. P. R. Johnston, F. Caruso, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 19–29.
- [78] a) Y. J. Zhang, S. G. Yang, Y. Guan, W. X. Cao, J. Xu, *Biomacromolecules* **2003**, *36*, 4238–4240; b) Y. Zhu, W. J. Tong, C. Y. Gao, H. Möhwald, *J. Mater. Chem.* **2008**, *18*, 1153–1158.
- [79] a) A. A. Antipov, G. B. Sukhorukov, *Adv. Colloid Interface Sci.* **2004**, *111*, 49–61; b) A. Fery, R. Weinkamer, *Polymer* **2007**, *48*, 7221–7235; c) A. P. R. Johnston, G. K. Such, F. Caruso, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 2664–2666; *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 2723–2725.
- [80] a) D. B. Shenoy, A. A. Antipov, G. B. Sukhorukov, H. Möhwald, *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 265–272; b) N. G. Balabushевич, O. P. Tiourina, D. V. Volodkin, N. I. Larionova, G. B. Sukhorukov, *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 1191–1197; c) A. S. Angelatos, B. Radt, F. Caruso, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 3071–3076; d) Y. Itoh, M. Matsusaki, T. Kida, M. Akashi, *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 2715–2718.
- [81] a) G. Saito, J. A. Swanson, K.-D. Lee, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2003**, *55*, 199–215; b) A. N. Zelikin, Q. Li, F. Caruso, *Chem. Mater.* **2008**, *20*, 2655–2661.
- [82] a) S. A. Sukhishvili, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2005**, *10*, 37–44; b) S. Anandhakumar, V. Nagaraja, M. R. Ashok, *Colloids Surf. B* **2010**, *78*, 266–274; c) B. M. Wohl, J. F. J. Engbersen, *J. Controlled Release* **2012**, *158*, 2–14.
- [83] a) A. Yu, Y. Wang, E. Barlow, F. Caruso, *Adv. Mater.* **2005**, *17*, 1737–1741; b) B. G. De Geest, R. E. Vandenbroucke, A. M. Guenther, G. B. Sukhorukov, W. E. Hennink, N. N. Sanders, J. Demeester, S. C. De Smedt, *Adv. Mater.* **2006**, *18*, 1005–1009.
- [84] a) A. N. Zelikin, Q. Li, F. Caruso, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 7743–7745; *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 7907–7909; b) A. N. Zelikin, J. F. Quinn, F. Caruso, *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 27–30.
- [85] a) S. S. Shiratori, M. F. Rubner, *Macromolecules* **2000**, *33*, 4213–4219; b) I. Takayuki, K. Toshiyuki, M. Michiya, A. Mitsuru, *Macromolecules* **2010**, *10*, 271–277.
- [86] a) A. G. Skirtach, C. Dejgnat, D. Braun, A. S. Susha, A. L. Rogach, W. J. Parak, H. Möhwald, G. B. Sukhorukov, *Nano Lett.* **2005**, *5*, 1371–1377; b) A. G. Skirtach, A. Muñoz Javier, O. Kreft, K. Köhler, A. Piera Alberola, H. Möhwald, W. J. Parak, G. B. Sukhorukov, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4612–4617; *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 4728–4733; c) A. G. Skirtach, P. Karageorgiev, B. G. De Geest, N. Pazos-Perez, D. Braun, G. B. Sukhorukov, *Adv. Mater.* **2008**, *20*, 506–510; d) M. F. Bédard, B. G. De Geest, A. G. Skirtach, H. Möhwald, G. B. Sukhorukov, *Adv. Colloid Interface Sci.* **2010**, *158*, 2–14; e) A. K. Barman, S. Verma, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 6992–6994.
- [87] W. Qi, L. Duan, J. B. Li, *Soft Matter* **2011**, *7*, 1571–1576.
- [88] a) X. L. Yang, X. Han, Y. H. Zhu, *Colloids Surf. A* **2005**, *264*, 49–54; b) Q. Zhao, B. Han, Z. Wang, C. Gao, C. Peng, J. Shen, *Nanomedicine* **2007**, *3*, 63–74.
- [89] a) J. F. Quinn, A. P. R. Johnston, G. K. Such, A. N. Zelikin, F. Caruso, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 707–718; b) J. Shi, Y. Jiang, X. Wang, H. Wu, D. Yang, F. Pan, Y. Suad, Z. Jiang, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 5192–5210.
- [90] A. Fujii, Y. Ohmukai, T. Maruyama, T. Sotani, H. Matsuyama, *Colloids Surf. A* **2011**, *384*, 529–535.
- [91] a) A. P. Johnston, F. Caruso, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 2677–2680; *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 2731–2734; b) F. Cavaliere, A. Postma, L. Lee, F. Caruso, *ACS Nano* **2009**, *3*, 234–240.
- [92] A. P. Johnston, L. Lee, Y. Wang, F. Caruso, *Small* **2009**, *5*, 1418–1421.
- [93] Y. Z. Tian, Y. L. Li, Z. F. Wang, Y. Jiang, *J. Mater. Chem. B* **2014**, *2*, 1667–1672.
- [94] A. L. Becker, A. P. Johnston, F. Caruso, *Macromol. Biosci.* **2010**, *10*, 488–495.
- [95] X. Zhang, D. Chabot, Y. Sultan, C. Monreal, M. C. DeRosa, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2013**, *5*, 5500–5507.
- [96] F. Tanaka, T. Mochizuki, X. Liang, H. Asanuma, S. Tanaka, K. Suzuki, S. Kitamura, A. Nishikawa, K. Ui-Tei, M. Hagiya, *Nano Lett.* **2010**, *10*, 3560–3565.
- [97] T. Takenaka, M. Endo, Y. Suzuki, Y. Yang, T. Emura, K. Hidaka, T. Kato, T. Miyata, K. Namba, H. Sugiyama, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 14951–14954.
- [98] a) J. H. Jeong, S. W. Kim, T. G. Park, *Bioconjugate Chem.* **2003**, *14*, 473–479; b) J. Sánchez-Quesada, A. Saghatelian, S. Cheley, H. Bayley, M. R. Ghadiri, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3063–3067; *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 3125–3129.
- [99] R. B. Fong, Z. L. Ding, C. J. Long, A. S. Hoffman, P. S. Stayton, *Bioconjugate Chem.* **1999**, *10*, 720–725.
- [100] J. H. Jeong, T. G. Park, *Bioconjugate Chem.* **2001**, *12*, 917–923.
- [101] K. Ding, F. E. Alemдарoglu, M. Börsch, R. Berger, A. Herrmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1172–1175; *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 1191–1194.
- [102] F. E. Alemдарoglu, N. C. Alemдарoglu, P. Langguth, A. Herrmann, *Macromol. Rapid Commun.* **2008**, *29*, 326–329.
- [103] F. E. Alemдарoglu, J. Wang, M. Börsch, R. Berger, A. Herrmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 974–976; *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 988–991.

- [104] X. Li, Y. Yu, Q. Ji, L. Qiu, *Nanomed. Nanotech. Biol. Med.* **2015**, *11*, 175–184.
- [105] C. Wu, T. Chen, D. Han, M. You, L. Peng, S. Cansiz, G. Zhu, C. Li, X. Xiong, E. Jimenez, C. J. Yang, W. Tan, *ACS Nano* **2013**, *7*, 5724–5731.
- [106] Y. Wu, K. Sefah, H. Liu, R. Wang, W. Tan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, *107*, 5–10.
- [107] T. Chen, C. S. Wu, E. Jimenez, Z. Zhu, J. G. Dajac, M. You, D. Han, X. Zhang, W. Tan, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 2012–2016; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 2066–2070.
- [108] F. E. Alemdaroglu, N. C. Alemdaroglu, P. Langguth, A. Herrmann, *Adv. Mater.* **2008**, *20*, 899–902.
- [109] A. Rodríguez-Pulido, A. I. Kondrachuk, D. K. Prusty, J. Gao, M. A. Loi, A. Herrmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 1008–1012; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 1042–1046.
- [110] Z. Cao, R. Tong, A. Mishra, W. Xu, G. C. Wong, J. Cheng, Y. Lu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 6494–6498; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 6616–6620.
- [111] a) D. A. Giljohann, D. S. Seferos, W. L. Daniel, M. D. Massich, P. C. Patel, C. A. Mirkin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 3280–3294; *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 3352–3366; b) D. Smith, V. Schüller, C. Engst, J. Rädler, T. Liedl, *Nanomedicine* **2013**, *8*, 105–121; c) J. W. de Vries, F. Zhang, A. Herrmann, *J. Controlled Release* **2013**, *172*, 467–483.
- [112] a) J. Sharma, R. Chhabra, C. S. Andersen, K. V. Gothelf, H. Yan, Y. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 7820–7821; b) N. V. Voigt, T. Tarring, A. Rotaru, M. F. Jacobsen, J. B. Ravensbaek, R. Subramani, W. Mamdouh, J. Kjems, A. Mokhir, F. Besenbacher, K. V. Gothelf, *Nat. Nanotechnol.* **2010**, *5*, 200–203; c) B. Saccà, R. Meyer, M. Erkelenz, K. Kiko, A. Arndt, H. Schroeder, K. S. Rabe, C. M. Niemeyer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 9378–9383; *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 9568–9573.
- [113] E. S. Andersen, M. Dong, M. M. Nielsen, K. Jahn, R. Subramani, W. Mamdouh, M. M. Golas, B. Sander, H. Stark, C. L. P. Oliveira, J. S. Pedersen, V. Birkedal, F. Besenbacher, K. V. Gothelf, J. Kjems, *Nature* **2009**, *459*, 73–76.
- [114] K. Lund, A. J. Manzo, N. Dabby, N. Michelotti, A. Johnson-Buck, J. Nangreave, S. Taylor, R. Pei, M. N. Stojanovic, N. G. Walter, E. Winfree, H. Yan, *Nature* **2010**, *465*, 206–210.
- [115] a) S. M. Douglas, I. Bachelet, G. M. Church, *Science* **2012**, *335*, 831–834; b) J. Elbaz, I. Willner, *Nat. Mater.* **2012**, *11*, 276–277.
- [116] O. I. Wilner, Y. Weizmann, R. Gill, O. Lioubashevski, R. Freeman, I. Willner, *Nat. Nanotechnol.* **2009**, *4*, 249–254.
- [117] R. Orbach, B. Willner, I. Willner, *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 4144–4160.
- [118] a) S. H. Um, J. B. Lee, N. Park, S. Y. Kwon, C. C. Umbach, D. Luo, *Nat. Mater.* **2006**, *5*, 797–801; b) E. Cheng, Y. Xing, P. Chen, Y. Yang, Y. Sun, D. Zhou, L. Xu, Q. Fan, D. Liu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 7660–7663; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 7796–7799; c) L. Peng, M. You, Q. Yuan, C. Wu, D. Han, Y. Chen, Z. Zhong, J. Xue, W. Tan, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 12302–12307; d) C. Wu, D. Han, T. Chen, L. Peng, G. Zhu, M. You, L. Qiu, K. Sefah, X. Zhang, W. Tan, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 18644–18650; e) W. Guo, C. H. Lu, X. J. Qi, R. Orbach, M. Fadeev, H. H. Yang, I. Willner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 10134–10138; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 10298–10302; f) W. Guo, C. H. Lu, R. Orbach, F. Wang, X. J. Qi, A. Ceconello, D. Seliktar, I. Willner, *Adv. Mater.* **2015**, *27*, 73–78.

Eingegangen am 2. April 2015

Online veröffentlicht am 18. August 2015

Übersetzt von Kerstin Mühle, Chemnitz