

Hybridmaterialien

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, 59, 15474–15479

Internationale Ausgabe: doi.org/10.1002/anie.201916177

Deutsche Ausgabe: doi.org/10.1002/ange.201916177

DNA-Polymer-Nanostrukturen durch RAFT-Polymerisation und polymerisationsinduzierte Selbstassemblierung

Thorsten Lückerrath, Kaloian Koynov, Sebastian Loescher, Colette J. Whitfield, Lutz Nuhn, Andreas Walther, Christopher Barner-Kowollik, David Y. W. Ng* und Tanja Weil*

Abstract: Wir präsentieren hier eine neuartige Plattformtechnologie für die Herstellung von DNA-Polymer-Nanostrukturen mit verschiedenen Formen, indem wir uns die Methode der polymerisationsinduzierten Selbstassemblierung (PISA) für die Polymerisation einzelsträngiger DNA (ssDNA) zunutze machen. Es wurde ein Grafting-from-Verfahren für die thermische RAFT-Polymerisation von ssDNA unter Umgebungsbedingungen entwickelt und für die Synthese von funktionalen DNA-Blockcopolymeren sowie von DNA-Diblockcopolymeren verwendet, die von Acrylaten und Acrylamiden abgeleitet wurden. Mit diesem Verfahren konnte PISA für die Herstellung von isotropen und anisotropen DNA-Polymer-Nanostrukturen angewendet werden, indem die Kettenlänge des Polymerblocks variiert wurde. Die resultierenden Nanostrukturen wurden ferner mit einer komplementären ssDNA funktionalisiert, die mit einem Farbstoff markiert war. PISA bietet damit eine effiziente Route zur Herstellung intrinsisch funktionaler DNA-Polymer-Nanostrukturen.

Die Polymerisation direkt ausgehend von Biomolekülen ermöglicht die Herstellung komplexer Biokonjugate mit anpassbaren Polymerkettenlängen und -bestandteilen.^[1] Diese Polymerisationen müssen wegen der Gegenwart von Biomolekülen üblicherweise unter wässrigen und milden Bedingungen erfolgen. Moderne radikalische Polymerisationstechniken, die im letzten Jahrzehnt stark weiterentwickelt wurden, erfüllen diese Anforderungen optimal.^[2] Die Polymerisation von Biomolekülen wie Peptiden,^[3] Proteinen,^[4] DNA/RNA^[5] oder Zellen^[6] hat zur Herstellung verschiedenster funktionaler Biomolekül-Polymer-Konjugate geführt, die fächerübergreifend von Relevanz sind.^[7]

Die Kombination von Oligonukleotiden mit synthetischen Polymeren führte zu einer Reihe von Hybridmaterialien mit attraktiven Eigenschaften, die sich z. B. als Sensoren^[8] oder Hydrogele für den Wirkstofftransport^[9] eignen. Hierbei haben die amphiphilen DNA-Blockcopolymeren, bei denen ein hydrophobes Polymer direkt an die DNA gebunden ist, wegen ihres Selbstassemblierungsverhaltens große Aufmerksamkeit erregt.^[10] Derartige supramolekulare Strukturen wurden für das Steuern von chemischen Reaktionen^[11] und den Wirkstofftransport^[12] untersucht. Des Weiteren ermöglichte DNA-Origami die Herstellung komplexerer zwei- und dreidimensionaler DNA-Nanostrukturen,^[13] die als Template für die Organisation einzelner Polymerketten^[14] oder für das kontrollierte Wachstum von Polymeren in definierten Mustern genutzt wurden.^[15] Oft schränkt jedoch die unzureichende Konjugation der DNA an die synthetischen Polymere ihr volles Potenzial ein.^[16]

Daher denken wir, dass ein Grafting-from-Ansatz nicht nur die DNA-Polymer-Kupplung verbessern, sondern auch den Zugang zu Nanostrukturen durch Nutzung der polymerisationsinduzierten Selbstassemblierung (PISA) ermöglichen wird.^[17–19] Die Durchführung von PISA direkt an DNA wurde bisher nicht beschrieben, da die Kombination von DNA mit den für ein Polymerwachstum benötigten Polymerisationsbedingungen (sehr geringe Reaktionsvolumina, hohe Ionenstärken usw.) nur schwierig umsetzbar ist. Die Eigenschaften der DNA würden jedoch einzigartige Möglichkeiten für PISA bieten, da der DNA-Block intrinsisch funktional ist und durch Hybridisierung weiter funktionalisiert werden kann. Die bevorzugte Polymerisationstechnik für PISA ist die RAFT-Polymerisation. Die erste RAFT-Polymerisation von



[*] T. Lückerrath, Dr. K. Koynov, Dr. C. J. Whitfield, Dr. L. Nuhn,


Dr. D. Y. W. Ng, Prof. Dr. T. Weil
Synthese von Makromolekülen
Max-Planck-Institut für Polymerforschung
Ackermannweg 10, 55128 Mainz (Deutschland)
E-Mail: ng@mpip-mainz.mpg.de
weil@mpip-mainz.mpg.de

S. Loescher, Prof. Dr. A. Walther
Institut für Makromolekulare Chemie, Universität Freiburg
Stefan Meier Straße 31, 79104 Freiburg (Deutschland)
und
Freiburger Zentrum für Interaktive Werkstoffe und Bioinspirierte
Technologien (FIT)
Georges-Köhler-Allee 105, 79104 Freiburg (Deutschland)

Prof. Dr. C. Barner-Kowollik
Centre for Materials Science, School of Chemistry and Physics
Queensland University of Technology (QUT)
2 George Street, QLD 4000, Brisbane (Australien),

und
Makromolekulare Architekturen
Institut für Technische Chemie und Polymerchemie (ITCP)
Karlsruher Institut für Technologie (KIT)
Engesserstraße 18, 76131 Karlsruhe (Deutschland)

 Hintergrundinformationen und die Identifikationsnummern
 (ORCID) mehrerer Autoren sind unter:
<https://doi.org/10.1002/ange.201916177> zu finden.

 © 2020 Die Autoren. Veröffentlicht von Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Dieser Open Access Beitrag steht unter den Bedingungen der Creative Commons Attribution License, die jede Nutzung des Beitrages in allen Medien gestattet, sofern der ursprüngliche Beitrag ordnungsgemäß zitiert wird.

DNA in Lösung konnte zwar durchgeführt werden, jedoch war ihre Robustheit eingeschränkt, da sie bei sehr geringen Volumina nach wie vor auf eine konventionelle Methode der Entgasung zurückgreifen musste.^[20] Wir verwenden hier deshalb die enzymatische Entgasung, die sich in den letzten Jahren als alternative Entgasungsmethode etabliert hat, um die RAFT-Polymerisation von DNA auf geringe Volumina und Radikalkonzentrationen unter Umgebungsbedingungen zu übertragen.^[21,22]

Auf diesem Weg konnten DNA-Diblockcopolymerer des Typs DNA-A-B (A und B stehen für verschiedene Polymerblöcke) sowie zufällige DNA-Blockcopolymerer synthetisiert werden (Abbildung 1). Außerdem ermöglichte PISA erstmals die Herstellung intrinsisch funktionaler DNA-Polymer-Nanostrukturen. Nanostrukturen wie Mizellen, Würmer oder vesikelartige Strukturen konnten durch RAFT-Polymerisation ausgehend von ssDNA und den wachsenden Polymerketten hergestellt werden. Wir demonstrieren weiterhin, dass die wurmartige DNA-Polymer-Nanostruktur durch DNA-Hybridisierung funktionalisiert werden kann, was die einmaligen Eigenschaften der Oligonukleotidsequenz nochmals unterstreicht. Der Grafting-from-Ansatz ermöglicht damit die Herstellung funktionaler polymerer Nanomaterialien mit komplexen Formen.

Für die Synthese der DNA-Polymer-Konjugate wurde die enzymatische Entgasung, wie zuvor berichtet,^[21,23] unabhängig vom Polymerisationsprozess vorgenommen, und die finalen Konzentrationen wurden auf [Glucose] = 100 mM und [Glucose-Oxidase] = 1 μ M eingestellt. Die Polymerisationen wurden in 40 μ L direkt in einem Thermocycler durchgeführt

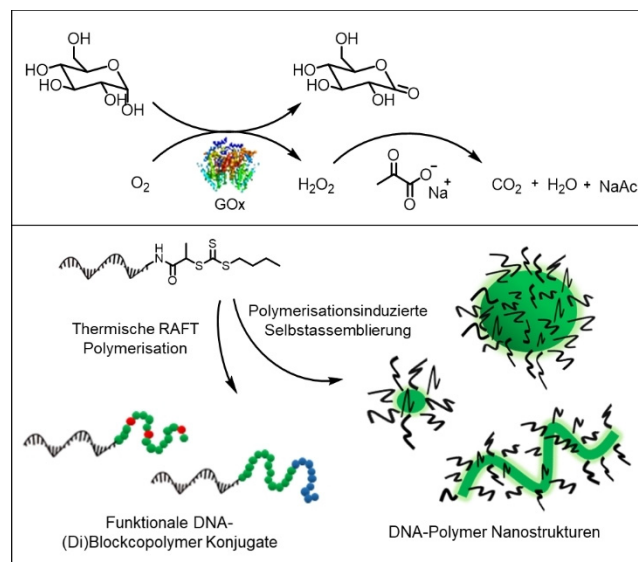


Abbildung 1. Thermische RAFT-Polymerisation ausgehend von ssDNA. Enzymatische Entgasung ermöglicht die Polymerisation von DNA unter Umgebungsbedingungen. Eine ssDNA mit BTPA-Funktionalität wirkt als Transferagens in der RAFT-Polymerisation von DNA zur Herstellung diverser DNA-Blockcopolymerer. Des Weiteren wurden DNA-Polymer-Nanostrukturen verschiedener Formen durch die polymerisationsinduzierte Selbstassemblierung von ssDNA hergestellt, wodurch eine neue Plattformtechnologie zum Aufbau funktionaler DNA-Polymer-Nanostrukturen entwickelt wurde. GOx = Glucose-Oxidase.

(Abbildung S1 der Hintergrundinformationen), wobei der thermische Initiator 2,2'-Azobis[2-(2-imidazolin-2-yl)propan]dihydrochlorid (VA-044) genutzt wurde. Ein entscheidender Nachteil der enzymatischen Entgasung ist, dass Sauerstoff zu H_2O_2 umgesetzt wird, das mit Dithiobenzoaten und Trithiocarbonaten reagieren kann.^[24] Ähnlich der ATRP der Matyjaszewski-Gruppe^[25] fügten wir Natriumpyruvat hinzu, um die Auswirkungen von H_2O_2 während der RAFT-Polymerisation zu minimieren.

Die optimierten Bedingungen wurden auf die Polymerisation einer 19-meren ssDNA (3'-ATCATCCACCATCTCTTTT-5') mit einer BTPA-Funktionalität (BTPA = 2-(*n*-Butyltrithiocarbonat)propionsäure) am 5'-Terminus (BTPA-DNA) übertragen, die wie bereits beschrieben synthetisiert wurde (Abbildung S2).^[20] Die Polymerisationen von BTPA-DNA mit verschiedenen Monomeren (*N,N*-Dimethylacrylamid (DMA), 2-Hydroxyethylacrylat (HEA), 4-Acryloylmorpholin (NAM), Oligoethylenglycol-Methyl-etheracrylat(OEGA)) und verschieden eingestellten Kettenlängen zeigten enge bis moderate Molekulargewichtsverteilungen (\mathcal{D} = 1.14–1.41; Tabelle S1), die durch Gelpermeationschromatographie(GPC)-Messungen bestimmt wurden (Abbildungen 2 a und S3 a,b). Die Polymerlängen ($M_{n,app}$ = 12.0–36.8 kDa) konnten problemlos eingestellt werden, indem das Verhältnis zwischen Monomer und BTPA-DNA verändert wurde. Die Polymerisationen wurden zusätzlich durch native Polyacrylamid-Gelelektrophorese (PAGE) charakterisiert, um ihre Effizienz zu bestimmen (Abbildung

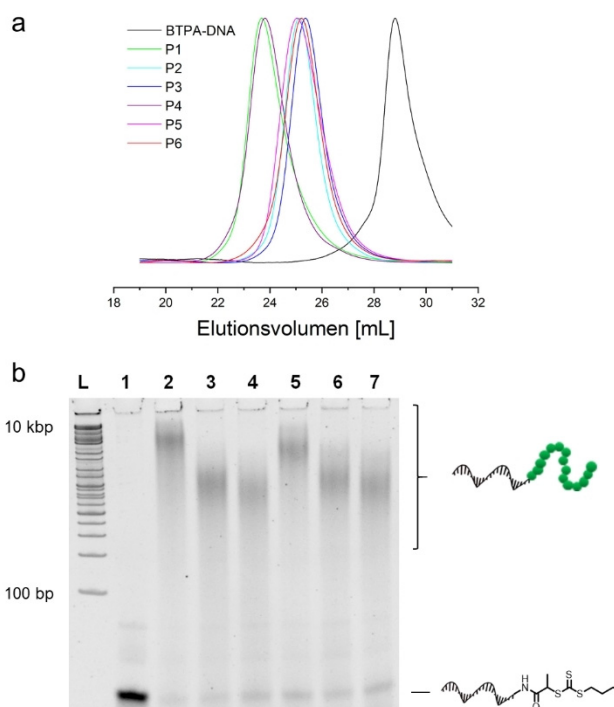


Abbildung 2. a) GPC-Kurven von BTPA-DNA (schwarze Linie) und den DNA-Polymer-Konjugaten **P1–P6** (farbige Linien), die durch DMF-GPC mit Polymethylmethacrylat (PMMA)-Kalibrierungsstandards bestimmt wurden. b) Untersuchung von BTPA-DNA und den DNA-Polymer-Konjugaten **P1–P6** mit nativem 20-proz. PAGE; L: DNA-Leiter, Linie 1: BTPA-DNA, Linien 2–7: **P1–P6** (von links nach rechts).

gen 2b und S3c). Hierbei war zu erkennen, dass die BTPA-Bande auch nach den Polymerisationen mit sehr geringer Intensität sichtbar war. Dies ließ darauf schließen, dass einige Endgruppen – 3–20% je nach Monomerfamilie – keine Reaktionen initiiert hatten. Eine detaillierte Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)-Studie der BTPA-Stabilität ergab, dass Natriumpyruvat mit einer Konzentration von mindestens 50 mM nötig war, um eine Endgruppenstabilität von über 90% während der Polymerisation zu erzielen (Abbildung S4a,b). Sollte allerdings eine längere Polymerisationszeit benötigt werden, muss die Menge an Natriumpyruvat weiter erhöht werden, um eine ausreichende Endgruppenstabilität zu gewährleisten (Abbildung S4c).

Durch unabhängige HPLC- und PAGE-Studien wurde zusätzlich bewiesen, dass der DNA-Block während der Polymerisation intakt blieb (Abbildungen S5 und S6). Die Funktionalität der DNA bezüglich ihrer Hybridisierungseigenschaften wurde mittels Fluoreszenzkorrelationspektroskopie (FCS)^[26] untersucht, wozu ein komplementärer DNA-Strang mit einer Rhodamin-6G-Funktionalität (3'-GAG ATG GTG GAT GAT TTTT-5') genutzt wurde (Abbildung S3d). Mit PAGE wurde eine Reihe von zusätzlichen Kontrollexperimenten durchgeführt, um eine unspezifische Adsorption der DNA und des synthetischen Polymers auszuschließen (Abbildung S7). Ferner wurde HEA mit einem von Rhodamin B abgeleiteten Acrylat copolymerisiert,

sodass das resultierende DNA-Polymer-Konjugat **FP1** auch den Rhodamin-B-Farbstoff enthielt. Der Einbau von Rhodamin B in den Polymerblock wurde mittels FCS bestätigt (Abbildung 3b), und die Copolymerisation verlief mit guter Kontrolle ($D=1.27$; Tabelle S4 und Abbildung S8). Die Komplementarität und Spezifität des DNA-Blocks wurde mittels Förster-Resonanzenergietransfer (FRET) nachgewiesen. Dafür wurde **FP1** mit einem komplementären 19-meren DNA-Strang (3'-GAG ATG GTG GAT GAT TTTT-5') hybridisiert, der Cy5 am 3'-Terminus trug (Abbildung 3a). Als Kontrolle wurde ein nicht-komplementärer DNA-Strang verwendet. Die Akzeptoremission des Cy5-Farbstoffs zeigte ein ausgeprägtes FRET-Signal, das signifikant intensiver als jenes der nicht-komplementären DNA-Sequenz war (Abbildung 3c, Abbildung S9). Die Methode wurde erweitert, indem die erste Blockcopolymerisation von DNA mittels des Grafting-from-Ansatzes realisiert wurde. Es wurden Polymerisationen von BTPA-DNA mit zunächst DMA und danach NAM durchgeführt. Hierfür musste die zugefügte Lösung nicht nur mit NAM, sondern auch mit dem enzymatischen Entgasungssystem versetzt werden, da die Polymerisation des zweiten Polymerblocks ansonsten bei niedrigen Umsätzen stoppte (Tabelle S5 und Abbildung S5a,b). Die GPC-Kurven zeigten eindeutige Verschiebungen zu höheren Molekulargewichten, wobei enge Molekulargewichtsverteilungen mit hoher Endgruppentreue erhalten blieben (Abbil-

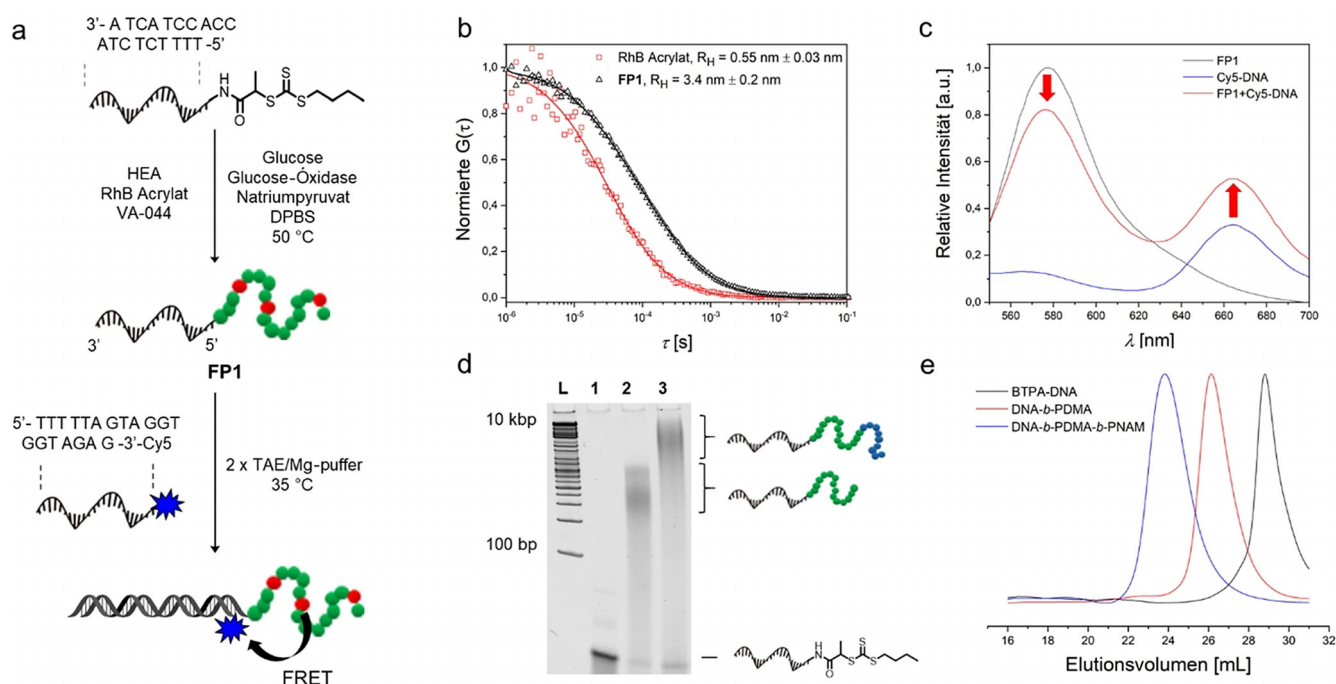


Abbildung 3. a) Synthese eines Rhodamin B enthaltenden DNA-Polymer-Konjugats (**FP1**) und anschließende Markierung mit einer komplementären DNA-Sequenz, die Cy5 an ihrem 3'-Terminus trägt. b) Normierte FCS-Autokorrelationskurven durch Messung des Rhodamin-B-Acrylats (rote Symbole) und des DNA-Polymer-Konjugats **FP1** (schwarze Symbole) in wässriger Lösung. Die Linien zeigen die entsprechende Angleichung mit Gleichung S1, durch die der hydrodynamische Radius des Rhodamin-B-Acrylats ($R_H = 0.55$ nm) und des Konjugats **FP1** ($R_H = 3.4$ nm) errechnet wurde. c) Emissionsspektren von **FP1** (schwarze Linie), Cy5-DNA (blaue Linie) und **FP1**, nachdem es mit der Cy5-DNA hybridisiert wurde (rote Linie), nach Anregung mit einem Anregungsfilter bei $\lambda = 485/20$ nm. d) Untersuchung der Blockcopolymerisation von DNA mit nativem 20-proz. PAGE; L: DNA-Leiter, Linie 1: BTPA-DNA, Linie 2: DNA-*b*-PDMA, Linie 3: DNA-*b*-PDMA-*b*-PNAM. e) GPC-Kurven von BTPA-DNA (schwarze Linie), DNA-*b*-PDMA (rote Linie) und DNA-*b*-PDMA-*b*-PNAM (blaue Linie), die durch DMF-GPC mit PMMA-Kalibrierungsstandards bestimmt wurden. RhB = Rhodamin B.

dungen 3e und S10). Das Wachstum jedes Polymerblocks wurde zusätzlich durch PAGE charakterisiert (Abbildung 3d), wodurch die erfolgreiche Synthese von ssDNA-Diblockcopolymeren des Typs ssDNA-*b*-A-*b*-B mithilfe des Grafting-from-Ansatzes bestätigt wurde.

Die Herstellung komplexer Assemblierungen aus amphiphilen Blockcopolymeren durch PISA und RAFT-Polymerisation hat in letzter Zeit an Bedeutung gewonnen.^[18,19] Diese Strukturen ordnen sich typischerweise mit steigender Kettenlänge des Polymerblocks zugunsten des thermodynamisch günstigsten Zustandes an, wodurch die gebildeten Strukturen durch das Einstellen der Polymerkettenlänge gesteuert werden können (Abbildung 4a). *N,N*-Dimethylacrylamid (DMA) und Diacetonacrylamid (DAAm) wurden für die PISA von DNA ausgewählt, da diese Monomerkombination aus Systemen, die ausschließlich auf synthetischen Polymeren beruhen, gut bekannt war.^[27] Hier wurde ein konstantes 80:20-Verhältnis von [DAAm]/[DMA] verwendet, und verschiedene Kettenlängen ($DP_n = 50, 100, 200$ und 250) wurden anvisiert. Die Polymerisationen wurden in Dulbeccos Phosphatpuffer (DPBS) mit Umsätzen $> 90\%$ durchgeführt (Tabelle S6). Die GPC-Analyse in einem nicht-selektiven Lösungsmittel (DMF) belegte, dass eine gute Kontrolle über die Polymerisationen während des PISA-Prozesses erhalten blieb (Abbildung S11).

Die resultierenden Nanostrukturen wurden bei einer Konzentration von $4\ \mu\text{M}$ durch Rasterkraftmikroskopie (AFM) aus einem Mg^{2+} -haltigen $1 \times \text{TRIS}$ -Acetat-EDTA-(TAE)-Puffer visualisiert.^[28] Bei der Einstellung eines geringen Polymerisationsgrades von $DP_n = 50$ wurden sphärische, mizellenartige Strukturen mit einer durchschnittlichen Höhe von $12\ \text{nm}$ gebildet (Abbildungen 4c, S12 und S16a). Wurde die Kettenlänge von $DP_n = 50$ auf 100 erhöht, veränderte sich die Morphologie der Strukturen von Mizellen zu wurmartigen Strukturen (Abbildungen 4d und S13). Letztgenannte zeigten ähnliche durchschnittliche Höhen wie die mizellaren Strukturen ($14\ \text{nm}$; Abbildung S16b), wobei ihre Länge zwischen $100\ \text{nm}$ und $1\ \mu\text{m}$ variierte. Bei höheren Polymerisationsgraden ($DP_n = 200$ und 250) führte die erhöhte Polymerlänge dazu, dass sich die wurmartigen Strukturen in größere Nanostrukturen mit variablen seitlichen Längen von bis zu mehreren hundert Nanometern reorganisierten (Abbildungen 4e,f, S14 und S15). Diese Strukturen wiesen stattdessen charakteristisch homogene Durchschnittshöhen von etwa $18\ \text{nm}$ auf (Abbildung S16c,d). Weitere Analysen wurden bei einer Konzentration von $10\ \mu\text{M}$ mittels dynamischer Lichtstreuung (DLS) durchgeführt, wobei Größenverteilungen beobachtet wurden, die den Mizellen ($16.5 \pm 1.5\ \text{nm}$), Würmern ($27.3 \pm 0.6\ \text{nm}$) und scheibenartigen Aggregaten ($53.7 \pm 0.9\ \text{nm}$) entsprachen (Abbildung S17).

Des Weiteren wurden Kryo-Transmissionselektronenmikroskopie(TEM)-Messungen an ausgewählten vitrifizierten DNA-Polymer-Dispersionen durchgeführt, um die Partikelstrukturen in Lösung bei höheren Konzentrationen zu bewerten. Bei solchen Konzentrationen wurden größere substrukturierte Partikel der DNA-Polymer-Nanostrukturen beobachtet, die stark an inverse Morphologien erinnerten.^[29] So zeigten die wurmartigen Strukturen ($DP_n = 100$) bei einer Konzentration von $80\ \mu\text{M}$ die Gegenwart von Multikompar-

timent-Partikeln mit einer Länge von bis zu $300\ \text{nm}$ (Abbildung 4g,i). Diese Partikel bestanden höchstwahrscheinlich aus Schichten von Zylindern, die in abwechselnden, um 90° gedrehten Lagen gepackt waren. Die Schichten, die in einer Ebene mit der Abbildungsebene waren, erschienen als dunkle Linien und hatten einen Abstand von etwa $20\ \text{nm}$ (Abbildung 4j). Der Interstitialraum war mit Zylindern senkrecht zur Abbildungsebene unterstrukturiert. Die Probe, die im AFM als scheibenartig ($DP_n = 200$) identifiziert wurde, bildete bei höheren Konzentrationen ($c = 400\ \mu\text{M}$) Multikompartiment-Partikel, die aus wurmartigen Nanostrukturen bestanden (Abbildung 4h). Die Beobachtung dieser verschiedenen Morphologien ist plausibel, wenn man bedenkt, dass solche inversen Morphologien typischerweise bei niedriger Löslichkeit, d.h. in Gegenwart kurzer DNA-Blöcke und hoher Ionenstärke, auftreten. Die verschiedenen Morphologien, die in AFM und Kryo-TEM gefunden wurden, unterstrichen den wichtigen Einfluss des DNA-Blocks auf die Assemblierungen bei unterschiedlichen Konzentrationen.

Basierend auf den wurmartigen Nanostrukturen untersuchten wir exemplarisch, ob die gebildeten Strukturen durch DNA-Hybridisierung funktionalisiert werden können. Eine komplementäre DNA, die mit Rhodamin 6G markiert war, wurde an die wurmartigen DNA-Polymer-Nanostrukturen hybridisiert und mittels DLS, AFM und FCS charakterisiert. Nach der Hybridisierung erfolgte gemäß DLS keine Größenänderung der wurmartigen Assemblierungen gegenüber der Kontrolle (Abbildung S18). FCS, das die Rhodamin-DNA verfolgte, zeigte eindeutig, dass der DNA-Block hybridisiert wurde, da sich der hydrodynamische Radius von 1.6 auf $115\ \text{nm}$ erhöhte (Abbildung 4b), was auf die Anbindung der komplementären DNA schließen ließ. Eine Zweikomponenten-Angleichung der Autokorrelationsfunktion deutete darauf hin, dass knapp 20% der komplementären DNA hybridisiert wurden, wenn ein molares Verhältnis zwischen der Rhodamin-6G-DNA und den DNA-Polymer-Konjugaten von $1:10$ genutzt wurde. Die Visualisierung der hybridisierten wurmartigen Assemblierungen mittels AFM ließ auf eine moderate Deformation der Strukturen schließen, wobei nach wie vor längliche Strukturen erhalten blieben (Abbildung S19).

Zusammenfassend wurde die erste lösungsbasierte thermische RAFT-Polymerisation von DNA unter Umgebungsbedingungen eingeführt, die auf der enzymatischen Entgasung mit Glucose, Glucose-Oxidase und Natriumpyruvat beruhte. Eine Reihe von DNA-Polymer-Konjugaten und DNA-Diblockcopolymeren wurde durch Polymerisation von Acrylamiden (DMA, NAM) und Acrylaten (HEA, OEGA) hergestellt. Diese wiesen enge Molekulargewichtsverteilungen und variable Längen auf. Wir konnten erstmals PISA mit der RAFT-Polymerisation von DNA durchführen, wodurch eine praktische Route für die Herstellung komplexer DNA-Polymer-Architekturen wie Mizellen oder Würmer aufgezeigt wurde. Die enormen Fortschritte in der PISA von Blockcopolymeren, die nur auf synthetischen Polymeren beruht, legen nahe, dass die Kombination von PISA mit DNA gänzlich neue Möglichkeiten für die DNA-Nanotechnologie und die Synthese polymerer Nanostrukturen bieten kann.

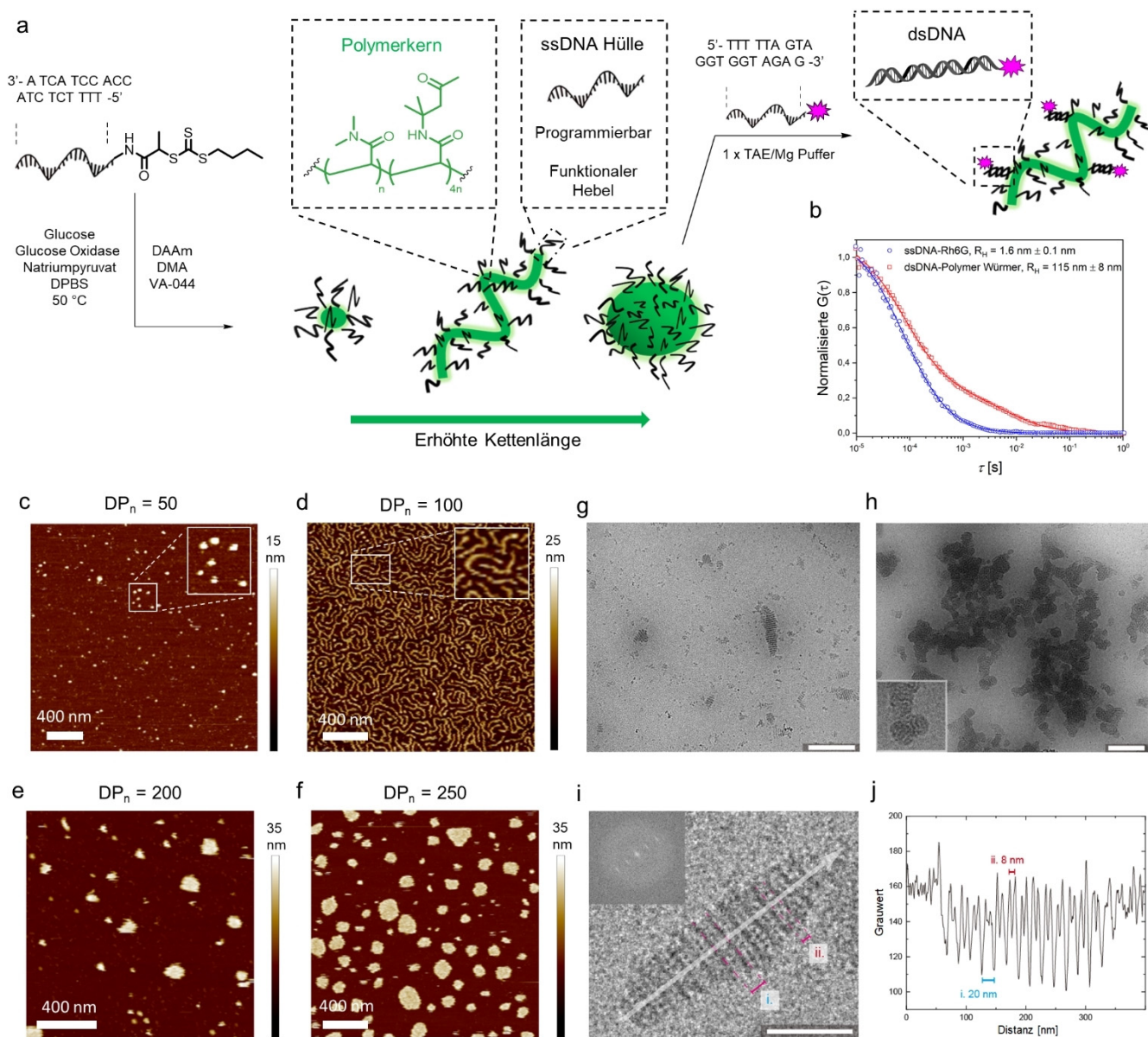


Abbildung 4. a) PISA-Prozess ausgehend von DNA mit DMA und DAAM zur DNA-Kettenverlängerung. Die resultierenden DNA-Polymer-Nanostrukturen können weiter funktionalisiert werden, indem ein funktionaler, komplementärer DNA-Strang zu den verfügbaren DNA-Enden der Nanostrukturen hybridisiert wird. b) Normierte FCS-Autokorrelationskurven durch Messung der Rhodamin-6G-DNA (blaue Symbole) und der wurmartigen DNA-Polymer-Strukturen, nachdem sie mit der Rhodamin-6G-DNA hybridisiert wurden (rote Symbole), in wässriger Lösung. Die Linien zeigen die entsprechende Angleichung mit Gleichung S1, durch die der hydrodynamische Radius der Rhodamin-6G-DNA ($R_H = 1.6$ nm) und der funktionalisierten, wurmartigen DNA-Polymer-Strukturen ($R_H = 115$ nm) erhalten wurde. c–f) AFM-Bilder nach wässriger RAFT-Dispersionspolymerisation von BTPA-DNA mit [DAAM]/[DMA] 80:20. Verschiedene Polymerisationsgrade wurden anvisiert: $DP_n = 50$ (c), 100 (d), 200 (e), 250 (f). Die vergrößerten Bildausschnitte sind um das 2.5-Fache gegenüber dem Originalbild vergrößert. g) Kryo-TEM-Bilder der wurmartigen DNA-Polymer-Nanostruktur ($DP_n = 100$) bei $80 \mu\text{m}$. h) Kryo-TEM-Bilder der scheibenartigen DNA-Polymer-Struktur ($DP_n = 200$) bei $400 \mu\text{m}$. i, j) Graustufenanalyse der wurmartigen DNA-Polymer-Nanostrukturen ($DP_n = 100$) bei $80 \mu\text{m}$. Der Einschub zeigt die schnelle Fourier-Transformation der stark geordneten Struktur. Die Auftragung der Graustufenanalyse entlang der längeren Achse (visualisiert durch den Pfeil) zeigt die Periodizität der Strukturmerkmale und ihre Abstände voneinander.

Danksagung

T.W. dankt der EU für einen ERC Synergy Grant unter der Projektnr. 319130 (BioQ) und der DFG (Projektnr. 407426226, TRR 234 CataLight (B01)) für finanzielle Unterstützung. C.B.-K. würdigt die Finanzierung durch das ARC

im Kontext eines Laureat Fellowships sowie die Unterstützung durch die QUT. Diese Arbeit nutzte die Einrichtungen für Mikroskopie der Kerneinrichtung „Imaging of Materials Systems“ am FIT. Die Open-Access-Gebühren wurden von der MPG übernommen.

Interessenkonflikt

Die Autoren erklären, dass keine Interessenkonflikte vorliegen.

Stichwörter: Grafting-from-Ansatz · DNA-Polymer-Nanostrukturen · Enzymatische Entgasung · Polymerisationsinduzierte Selbstassemblierung · RAFT-Polymerisation

- [1] a) S. L. Baker, B. Kaupbayeva, S. Lathwal, S. R. Das, A. J. Russell, K. Matyjaszewski, *Biomacromolecules* **2019**, *20*, 4272; b) M. S. Messina, K. M. M. Messina, A. Bhattacharya, H. R. Montgomery, H. D. Maynard, *Prog. Polym. Sci.* **2019**, 101186.
- [2] a) N. Corrigan, J. Yeow, P. Judzewitsch, J. Xu, C. Boyer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 5170; *Angew. Chem.* **2019**, *131*, 5224; b) T. G. McKenzie, E. Colombo, Q. Fu, M. Ashokkumar, G. G. Qiao, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 12302; *Angew. Chem.* **2017**, *129*, 12470; c) X. Pan, N. Malhotra, A. Simakova, Z. Wang, D. Konkolewicz, K. Matyjaszewski, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 15430; d) F. Zhou, R. Li, X. Wang, S. Du, Z. An, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 9479; *Angew. Chem.* **2019**, *131*, 9579.
- [3] a) J. Hentschel, K. Bleek, O. Ernst, J.-F. Lutz, H. G. Börner, *Macromolecules* **2008**, *41*, 1073; b) S. C. Larnaudie, J. C. Brendel, K. A. Jolliffe, S. Perrier, *J. Polym. Sci. Part A* **2016**, *54*, 1003; c) S. M. Chin, C. V. Synatschke, S. Liu, R. J. Nap, N. A. Sather, Q. Wang, Z. Álvarez, A. N. Edelbrock, T. Fyrner, L. C. Palmer, et al., *Nat. Commun.* **2018**, *9*, 2395.
- [4] a) E. M. Pelegri-O'Day, H. D. Maynard, *Acc. Chem. Res.* **2016**, *49*, 1777; b) P. De, M. Li, S. R. Gondi, B. S. Sumerlin, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 11288.
- [5] a) S. E. Averick, S. K. Dey, D. Grahacharya, K. Matyjaszewski, S. R. Das, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 2739; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 2777; b) X. Pan, S. Lathwal, S. Mack, J. Yan, S. R. Das, K. Matyjaszewski, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 2740; *Angew. Chem.* **2017**, *129*, 2784.
- [6] a) J. Niu, D. J. Lunn, A. Pusuluri, J. I. Yoo, M. A. O'Malley, S. Mitragotri, H. T. Soh, C. J. Hawker, *Nat. Chem.* **2017**, *9*, 537; b) J. Y. Kim, B. S. Lee, J. Choi, B. J. Kim, J. Y. Choi, S. M. Kang, S. H. Yang, I. S. Choi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 15306; *Angew. Chem.* **2016**, *128*, 15532.
- [7] I. Cobo, M. Li, B. S. Sumerlin, S. Perrier, *Nat. Mater.* **2015**, *14*, 143.
- [8] a) J. M. Gibbs, S.-J. Park, D. R. Anderson, K. J. Watson, C. A. Mirkin, S. T. Nguyen, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 1170; b) P. He, W. Zheng, E. Z. Tucker, C. B. Gorman, L. He, *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 3633.
- [9] a) J. S. Kahn, Y. Hu, I. Willner, *Acc. Chem. Res.* **2017**, *50*, 680; b) Y. Wu, C. Li, F. Boldt, Y. Wang, S. L. Kuan, T. T. Tran, V. Mikhalevich, C. Förtsch, H. Barth, Z. Yang, et al., *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 14620.
- [10] a) M. Kwak, A. Herrmann, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 5745; b) F. Jia, H. Li, R. Chen, K. Zhang, *Bioconjugate Chem.* **2019**, *30*, 1880; c) M.-P. Chien, A. M. Rush, M. P. Thompson, N. C. Gianeschi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 5076; *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 5202; d) D. Bousmail, P. Chidchob, H. F. Sleiman, *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 9518.
- [11] F. E. Alemdaroglu, K. Ding, R. Berger, A. Herrmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4206; *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 4313.
- [12] a) F. E. Alemdaroglu, N. C. Alemdaroglu, P. Langguth, A. Herrmann, *Adv. Mater.* **2008**, *20*, 899; b) M. Kwak, I. J. Minten, D.-M. Anaya, A. J. Musser, M. Brasch, R. J. M. Nolte, K. Müllen, J. J. L. M. Cornelissen, A. Herrmann, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 7834; c) A. Rodríguez-Pulido, A. I. Kondrachuk, D. K. Prusty, J. Gao, M. A. Loi, A. Herrmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 1008; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 1042.
- [13] a) N. C. Seeman, H. F. Sleiman, *Nat. Rev. Mater.* **2018**, *3*, 6451; b) F. Hong, F. Zhang, Y. Liu, H. Yan, *Chem. Rev.* **2017**, *117*, 12584.
- [14] a) P. Chidchob, T. G. W. Edwardson, C. J. Serpell, H. F. Sleiman, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 4416; b) J. B. Knudsen, L. Liu, A. L. Bank Kodal, M. Madsen, Q. Li, J. Song, J. B. Woehrstein, S. F. J. Wickham, M. T. Strauss, F. Schueder, et al., *Nat. Nanotechnol.* **2015**, *10*, 892; c) A. Krissanaprasit, M. Madsen, J. B. Knudsen, D. Gudnason, W. Surareungchai, V. Birkedal, K. V. Gothelf, *ACS Nano* **2016**, *10*, 2243; d) T. Trinh, C. Liao, V. Toader, M. Barlóg, H. S. Bazzi, J. Li, H. F. Sleiman, *Nat. Chem.* **2018**, *10*, 184; e) J. Zessin, F. Fischer, A. Heerwig, A. Kick, S. Boye, M. Stamm, A. Kiriy, M. Mertig, *Nano Lett.* **2017**, *17*, 5163.
- [15] a) P. Winterwerber, S. Harvey, D. Y. W. Ng, T. Weil, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, *59*, 6144; *Angew. Chem.* **2020**, *132*, 6200; b) Y. Tokura, S. Harvey, C. Chen, Y. Wu, D. Y. W. Ng, T. Weil, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 1587; *Angew. Chem.* **2018**, *130*, 1603; c) Y. Tokura, Y. Jiang, A. Welle, M. H. Stenzel, K. M. Krzemien, J. Michaelis, R. Berger, C. Barner-Kowollik, Y. Wu, T. Weil, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 5692; *Angew. Chem.* **2016**, *128*, 5786.
- [16] T. R. Wilks, R. K. O'Reilly, *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 39192.
- [17] a) X. Liu, M. Sun, J. Sun, J. Hu, Z. Wang, J. Guo, W. Gao, *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 10435; b) J. Yeow, C. Boyer, *Adv. Sci.* **2017**, *4*, 1700137; c) S. L. Canning, G. N. Smith, S. P. Armes, *Macromolecules* **2016**, *49*, 1985; d) F. D'Agosto, J. Rieger, M. Lansalot, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, *59*, 8368–8392; *Angew. Chem.* **2020**, *132*, 8444–8470; e) N. J. W. Penfold, J. Yeow, C. Boyer, S. P. Armes, *ACS Macro Lett.* **2019**, *8*, 1029.
- [18] N. J. Warren, S. P. Armes, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 10174.
- [19] M. J. Derry, L. A. Fielding, S. P. Armes, *Prog. Polym. Sci.* **2016**, *52*, 1.
- [20] T. Lueckerath, T. Strauch, K. Koynov, C. Barner-Kowollik, D. Y. W. Ng, T. Weil, *Biomacromolecules* **2019**, *20*, 212.
- [21] R. Chapman, A. J. Gormley, M. H. Stenzel, M. M. Stevens, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 4500; *Angew. Chem.* **2016**, *128*, 4576.
- [22] a) A. J. Gormley, J. Yeow, G. Ng, Ó. Conway, C. Boyer, R. Chapman, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 1557; *Angew. Chem.* **2018**, *130*, 1573; b) J. Yeow, R. Chapman, J. Xu, C. Boyer, *Polym. Chem.* **2017**, *8*, 5012; c) Y. Sun, S. Lathwal, Y. Wang, L. Fu, M. Olszewski, M. Fantin, A. E. Enciso, G. Szczepaniak, S. Das, K. Matyjaszewski, *ACS Macro Lett.* **2019**, *8*, 603; d) L. Fu, Z. Wang, S. Lathwal, A. E. Enciso, A. Simakova, S. R. Das, A. J. Russell, K. Matyjaszewski, *ACS Macro Lett.* **2018**, *7*, 1248.
- [23] J. Tan, D. Liu, Y. Bai, C. Huang, X. Li, J. He, Q. Xu, L. Zhang, *Macromolecules* **2017**, *50*, 5798.
- [24] C. P. Jesson, C. M. Pearce, H. Simon, A. Werner, V. J. Cunningham, J. R. Lovett, M. J. Smallridge, N. J. Warren, S. P. Armes, *Macromolecules* **2017**, *50*, 182.
- [25] A. E. Enciso, L. Fu, A. J. Russell, K. Matyjaszewski, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 933; *Angew. Chem.* **2018**, *130*, 945.
- [26] K. Koynov, H.-J. Butt, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2012**, *17*, 377.
- [27] a) X. Tang, J. Han, Z. Zhu, X. Lu, H. Chen, Y. Cai, *Polym. Chem.* **2014**, *5*, 4115; b) C. A. Figg, R. N. Carmean, K. C. Bentz, S. Mukherjee, D. A. Savin, B. S. Sumerlin, *Macromolecules* **2017**, *50*, 935.
- [28] M. Bezanilla, S. Manne, D. E. Laney, Y. L. Lyubchenko, H. G. Hansma, *Langmuir* **1995**, *11*, 655.
- [29] A. H. Gröschel, A. Walther, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 10992; *Angew. Chem.* **2017**, *129*, 11136.

Manuskript erhalten: 17. Dezember 2019
Veränderte Fassung erhalten: 1. April 2020
Akzeptierte Fassung online: 17. April 2020
Endgültige Fassung online: 17. Juni 2020