

# Origami mit DNA: neue Entwicklungen

Álvaro Somoza\*

DNA · Nanostrukturen · Nanotechnologie ·

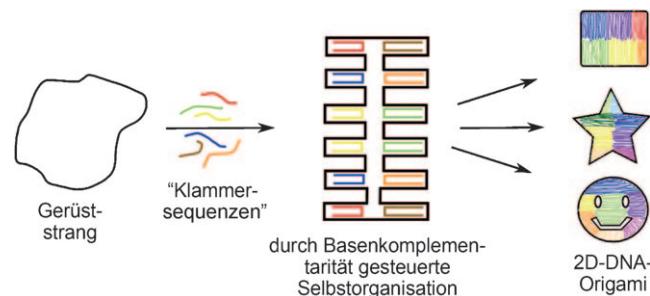
Oligonukleotide · Selbstorganisation

Mit DNA können in der Nanotechnologie Strukturen verbunden oder funktionalisiert werden, z. B. Goldnanopartikel,<sup>[1]</sup> Quantenpunkte<sup>[2]</sup> oder einwandige Kohlenstoffnanoröhren.<sup>[3]</sup> Außerdem lassen sich Nanostrukturen aufbauen, die ausschließlich aus DNA bestehen.<sup>[4]</sup> Pionierarbeit auf diesem Feld wurde von Seeman geleistet,<sup>[5]</sup> und inzwischen ist es gelungen, zwei-<sup>[6]</sup> und dreidimensionale Strukturen<sup>[7]</sup> aus mehreren kurzen DNA-Strängen zusammenzufügen. Grundlagen dafür sind die Selbstorganisation von DNA-Strängen (die durch die Basenkomplementarität gesteuert wird) und die unterschiedlichen Strukturmerkmale einzel- und doppelsträngiger DNA: Einzelsträngige DNA ist flexibel und kann leicht gebogen werden, kurze Sequenzen doppelsträngiger DNA sind dagegen steif und gerade. Diese Eigenschaften wurden genutzt, um kurze DNA-Sequenzen zu entwerfen, die sich unter geeigneten Temperbedingungen zu starren Strukturen selbstorganisieren.

Ein anderer Ansatz zur Herstellung von 2D-Strukturen wird DNA-Origami genannt; damit lässt sich DNA gezielt in fast jede Form bringen.<sup>[8]</sup> Dies erfordert einen langen Gerüststrang aus einer einzelsträngigen gefalteten DNA und mehrere kurze Sequenzen, die als „Klammern“ den langen DNA-Strang in die gewünschte Form bringen. Diese Klammsequenzen werden so konstruiert, dass sie über komplementäre Basen verschiedene Regionen des Gerüststrangs binden. So werden mehrere doppelsträngige DNA-Regionen erzeugt, was die gewünschte starre 2D-Struktur zur Folge hat (Abbildung 1). Mit diesem Ansatz wurden bereits mehrere Formen erzeugt, darunter Rechtecke, Sterne und Smileys. Zu anderen wichtigen Beiträgen zählen die Herstellung von Nanoröhren,<sup>[9]</sup> DNA-Mikroarray-Chips<sup>[10]</sup> und delphinförmigen DNA-Strukturen.<sup>[11]</sup>

Die Gruppe um William M. Shih an der Harvard University berichtete kürzlich von zwei Durchbrüchen auf diesem Gebiet. Es gelang ihr nicht nur, mit der Origami-Strategie 3D-Formen aufzubauen,<sup>[12]</sup> sondern sie konnte auch DNA-Bündel gezielt verdrillen und biegen.<sup>[13]</sup>

Die Konstruktion von DNA-Origami war auf zwei Dimensionen beschränkt, bis vor kurzem die ersten 3D-Strukturen beschrieben wurden.<sup>[9,12,14]</sup> Die Herstellung einer DNA-Schachtel ist ein herausragendes Beispiel.<sup>[14]</sup> Shih et al. haben



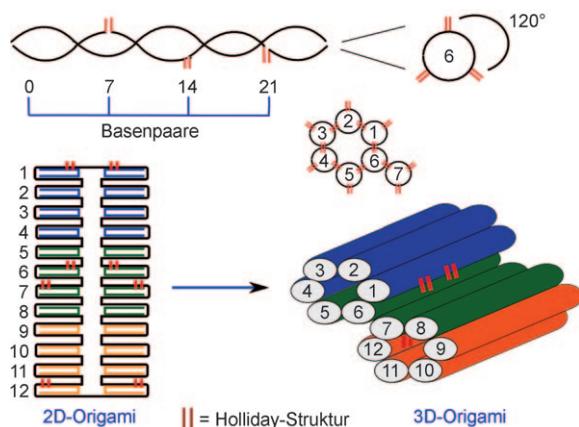
**Abbildung 1.** Herstellung eines DNA-Origami. Das Tempern des langen Gerüststrangs mit den Klammersequenzen liefert wegen der günstigen Wechselwirkungen zwischen komplementären Sequenzen eine selbstorganisierte Struktur. Abhängig von der Art der Sequenzen kann eine Vielzahl an Formen erzeugt werden.

nun eine vielseitige Methode zur Herstellung von 3D-Formen vorgestellt.<sup>[12]</sup> Schlüsselschritt ist der Einsatz von Klammersequenzen, die an spezifischen Positionen Holliday-Strukturen bilden. Zunächst entsteht mithilfe der Klammersequenzen das 2D-Origami. Dann wird eine Neufaltung unter Ausbildung der Holliday-Strukturen erzwungen, die wabenförmige dreidimensionale DNA-Strukturen liefert. Die Position der Holliday-Strukturen bestimmt die endgültige 3D-Architektur. Wenn die Verknüpfungspunkte im Abstand von 7 Basenpaaren (bp) entlang der doppelsträngigen DNA platziert werden, befinden sich drei solcher Punkte innerhalb einer Sequenz von 21 Basenpaaren. Da eine vollständige Windung (360°) in einer DNA-B-Helix 10.5 bp erfordert, sind die Verknüpfungspunkte in einer Helix um 120° gegeneinander verdreht. Daher ermöglicht diese Anordnung die Bildung von Holliday-Strukturen mit drei benachbarten DNA-Duplexen (Abbildung 2).

Shih et al. bauten diese Verknüpfungen an spezifischen Positionen ein oder entfernen sie von dort und erhielten so mehrere 3D-Strukturen, z.B. einen Monolith, eine Vierkantmutter, eine Doppelbrücke und ein gekerbtes Kreuz. Der Aufbau einer 3D-Struktur mit dieser Methode klingt kompliziert, doch hat die Arbeitsgruppe ein Programm geschrieben, das die Herstellung einer komplexen Struktur an einem Tag möglich macht.<sup>[15]</sup>

Noch bemerkenswerter ist, dass die gleiche Gruppe eine Möglichkeit gefunden hat, die oben erwähnten Wabenstrukturen zu biegen, um verdrillte und gekrümmte nanoskalige 3D-Systeme aufzubauen.<sup>[13]</sup> Dies ist vor allem interessant, weil doppelsträngige DNA normalerweise eine stabile, gerade Struktur ausbildet. Daher eignen sich die vorher geschil-

[\*] Dr. Á. Somoza  
IMDEA-Nanociencia  
28049, Madrid (Spanien)  
Fax: (+34) 914-976-855  
E-Mail: alvaro.somoza@imdea.org



**Abbildung 2.** Aufbau eines 3D-DNA-Origami mithilfe von Holliday-Strukturen. Da die Schraubenlinie des DNA-Strangs sich über je 7 bp um  $240^\circ$  dreht, kommt es bei 14 bp zu einer Rotation um  $120^\circ$  plus  $360^\circ$  und bei 21 bp zu einer Rotation von  $0^\circ$  plus zweimal  $360^\circ$ . Die Holliday-Strukturen sind daher um  $120^\circ$  gegeneinander versetzt, so dass der DNA-Duplex mit drei anderen Duplexen wechselwirken kann.

derten Methoden fast nur, um Architekturen mit geraden Linien aufzubauen; Krümmungen kommen kaum vor.<sup>[6c, 7c]</sup> Shih et al. gelang es nun, Krümmungen zu erzeugen und dabei sowohl die Richtung der Verdrillung als auch den Winkel der Krümmung einzustellen.

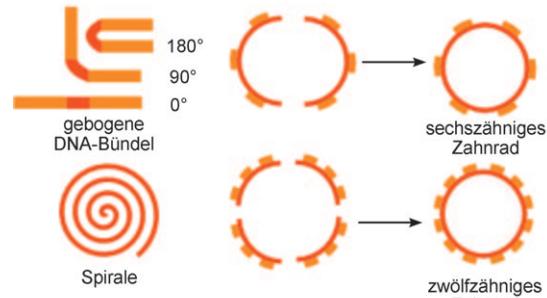
Um diese verdrillten und gekrümmten Systeme herzustellen, erzeugten sie die Wabenstruktur wie zuvor, änderten aber die Länge der Klammersequenzen. Lagen weniger als 7 bp zwischen den Verknüpfungspunkten (Deletion), wurde die Struktur komprimiert und die DNA überspiralisiert. Mehr als 7 bp zwischen den Verknüpfungspunkten (Insertion) machten eine Dehnung der Einheit erforderlich, damit sie in die Gesamtstruktur passte, sodass die DNA unterspiralisiert vorliegen musste. Dies machte eine Änderung der Konformation der Wabenstruktur erforderlich, um die wirkenden Kräfte zu kompensieren. Auf diese Weise ließen sich die entsprechenden Verdrillungen oder Krümmungen erzeugen (Abbildung 3).

Um die globalen Verdrillungen dieser Systeme zu untersuchen, wurde ein Modell von 60 miteinander verbundenen DNA-Duplexen, angeordnet in 10 Reihen zu je 6 Helices, verwendet. Drei Versionen dieses Modells wurden herge-

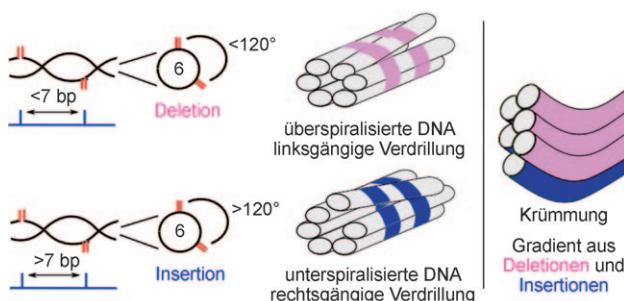
stellt: Ein System, das keine Verdrillungen aufweisen sollte, hatte die Holliday-Strukturen gleichmäßig alle 7 bp entlang der 126 bp langen DNA-Duplexe verteilt. In einer zweiten Version war ein Basenpaar aus jedem dritten Array entfernt. In diesem Fall enthielt das System überspiralisierte DNA-Segmente in einem Drittel aller Zellen und hatte eine Länge von 120 bp mit einer durchschnittlichen Spiralisierung von 10 bp pro Windung. Die komplementäre Version hatte ein zusätzliches Basenpaar in jedem dritten Array. Dadurch entstand eine Struktur mit unterspiralisierten DNA-Ab schnitten, einer Länge von 132 bp und 11 bp pro Windung. Jede individuelle Gruppe von DNA-Arrays wurde zu einer größeren Struktur polymerisiert, die unter dem Transmissi onselektronenmikroskop analysiert werden konnte. Im ersten Fall waren die entstandenen Bänder gerade und ohne erkennbare Verdrillung. Im Gegensatz dazu waren die Bänder aus Systemen mit über- und unterspiralisierten DNA-Ab schnitten deutlich verdrillt mit einer insgesamt links- bzw. rechtsgängigen Drehung.

Die gekrümmten Strukturen wurden mithilfe passender Gradienten von Insertionen und Deletionen erzielt, wobei folgender Zusammenhang berücksichtigt wurde: je steiler der Gradient, desto größer der Krümmungswinkel. Mit diesem Ansatz wurden sieben Versionen eines dreireihigen Bündels mit sechs Helices pro Reihe (3-by-6-bundle) und den Krümmungswinkeln  $0^\circ$ ,  $30^\circ$ ,  $60^\circ$ ,  $90^\circ$ ,  $120^\circ$ ,  $150^\circ$  und  $180^\circ$  erhalten.

Schließlich wurde der große Nutzen dieses Ansatzes zur Herstellung gekrümmter Strukturen anhand von Nanostrukturen mit unterschiedlichen Formen demonstriert (Abbildung 4). So stellten Shih et al. zwei Halbkreise mit drei



**Abbildung 4.** Beispiele für das Ergebnis des Biegens von DNA-Bündeln.



**Abbildung 3.** Einführung von Verdrillungen und Krümmungen in ein DNA-Bündel, indem die Abstände zwischen den Holliday-Strukturen verändert werden. Für Einzelheiten siehe Text.

„Zähnen“ und einem Radius von 25 nm her, die sich zu einer zirkulären Struktur mit sechs „Zähnen“ zusammenlagern konnten. Außerdem gelang es ihnen, das DNA-Bündel zu einem Viertelkreis zu formen. Dann verbanden sie vier dieser Bündel zu einem Kreis, der einem zwölfzähnigen Zahnrad ähnelte. Ein anderes interessantes Beispiel ist die Herstellung einer Spirale: Sechs Segmente eines Bündels aus sechs Helices wurden in Halbkreise mit zunehmenden Krümmungsradien überführt. Auch eine oktaedrische Struktur und konkav e und konvexe Dreiecke wurden beschrieben.

Insgesamt hat die Forschungsgruppe um Shih bemerkenswerte Beiträge zur Weiterentwicklung des DNA-Origami geleistet, insbesondere zum Einsatz von Holliday-Struk-

turen, um 2D-Origami in 3D-Formen zu falten, die mit einem Softwareprogramm entworfen werden können. Außerdem gelang es ihnen, Krümmung und Verdrillung der Wabenstrukturen präzise zu manipulieren. Dadurch eröffnet sich die Möglichkeit, komplexere Nanostrukturen zu entwickeln und die physikalischen Eigenschaften dieser gekrümmten DNA-Strukturen zu untersuchen. Diese könnten eines Tages nanomechanische Schlüsselkomponenten werden.

Ein eingegangen am 27. August 2009

Online veröffentlicht am 17. November 2009

Übersetzt von Dr. Burkard Neuß, Jülich

- 
- [1] N. L. Rosi, D. A. Giljohann, C. S. Thaxton, A. K. R. Lytton-Jean, M. S. Han, C. A. Mirkin, *Science* **2006**, *312*, 1027–1030.
  - [2] G. P. Mitchell, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 8122–8123.
  - [3] C. S. Lee, S. E. Baker, M. S. Marcus, W. Yang, M. A. Eriksson, R. J. Hamers, *Nano Lett.* **2004**, *4*, 1713–1716.
  - [4] Übersichtsartikel: a) N. C. Seeman, *Mol. Biotechnol.* **2007**, *37*, 246–257; b) F. A. Aldaye, A. L. Palmer, H. F. Sleiman, *Science* **2008**, *321*, 1795–1799; c) C. Lin, Y. Liu, H. Yan, *Biochemistry* **2009**, *48*, 1663–1674.
  - [5] N. C. Seeman, *J. Theor. Biol.* **1982**, *99*, 237–247.
  - [6] a) E. Winfree, F. Liu, L. A. Wenzler, N. C. Seeman, *Nature* **1998**, *394*, 539–544; b) Y. Liu, Y. Ke, H. Yan, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17140–17141; c) Y. He, Y. Tian, A. E. Ribbe, C. Mao, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 15978–15979; d) C. Zhang, Y. He, Y. Chen, A. E. Ribbe, C. Mao, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 14134–14135; e) S. Hamada, S. Murata, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 6952–6955; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 6820–6823.
  - [7] a) W. M. Shih, J. D. Quispe, G. F. Joyce, *Nature* **2004**, *427*, 618–621; b) R. P. Goodman, I. A. T. Schaap, C. F. Tardin, C. M. Erben, R. M. Berry, C. F. Schmidt, A. J. Turberfield, *Science* **2005**, *310*, 1661–1665; c) Y. He, T. Ye, M. Su, C. Zhang, A. E. Ribbe, W. Jiang, C. Mao, *Nature* **2008**, *452*, 198–201; d) T. L. Sobey, S. Renner, F. C. Simmel, *J. Phys. Condens. Matter* **2009**, *21*, 034112/1–034112/9; e) D. Bhatia, S. Mehtab, R. Krishnan, S. S. Indi, A. Basu, Y. Krishnan, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 4198–4201; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 4134–4137.
  - [8] P. W. Rothemund, *Nature* **2006**, *440*, 297–302.
  - [9] S. M. Douglas, J. J. Chou, W. M. Shih, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 6644–6648.
  - [10] Y. Ke, S. Lindsay, Y. Chang, Y. Liu, H. Yan, *Science* **2008**, *319*, 180–183.
  - [11] E. S. Andersen, M. Dong, M. M. Nielsen, K. Jahn, A. Lind-Thomsen, W. Mamdouh, K. V. Gothelf, F. Besenbacher, J. Kjems, *ACS Nano* **2008**, *2*, 1213–1218.
  - [12] S. M. Douglas, H. Dietz, T. Liedl, B. Höglberg, F. Graf, W. M. Shih, *Nature* **2009**, *459*, 414–418.
  - [13] H. Dietz, S. M. Douglas, W. M. Shih, *Science* **2009**, *325*, 725–730.
  - [14] a) 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. Petersen, V. Birkedal, F. Besenbacher, K. V. Gothelf, J. Kjems, *Nature* **2009**, *459*, 73–77; b) Y. Ke, J. Sharma, M. Liu, K. Jahn, Y. Liu, H. Yan, *Nano Lett.* **2009**, *9*, 2445–2447; c) A. Kuzuya, M. Komiyama, *Chem. Commun.* **2009**, 4182–4184.
  - [15] S. M. Douglas, A. H. Marblestone, S. Teerapittayanon, A. Vazquez, G. M. Church, W. M. Shih, *Nucleic Acid Res.* **2009**, *37*, 5001–5006.