

DNA-Origami: die Kunst, DNA zu falten

Barbara Saccà* und Christof M. Niemeyer*

DNA-Origami · DNA-Sequenzdesign · Nanostrukturen · Selbstorganisation · Supramolekulare Chemie

Professor Nadrian C. Seeman gewidmet

Die Einführung der DNA-Origami-Technik hat den Entwurf und die Herstellung von nanoskaligen DNA-Objekten stark vereinfacht. Die Selbstorganisation eines DNA-Origamis ist ein Prozess, durch den ein langes, zirkuläres DNA-Einzelstrangmolekül (häufig aus dem Phagen M13mp18) unter Verwendung einer Vielzahl von kurzen Helfersträngen in praktisch jede gewünschte Form gefaltet werden kann. Dieser Ansatz ermöglicht die problemlose Herstellung von Objekten mit einer adressierbaren Oberfläche von der Größe einiger tausend Quadratnanometer. Dies entspricht einer „Pixel“-Auflösung von etwa 6 nm. Gleichzeitig ist der Herstellungsprozess schnell, stellt keine hohen Anforderungen an die experimentellen Bedingungen und führt zu einer hohen Ausbeute der gewünschten Struktur. Diese Eigenschaften machen die DNA-Origami-Technik in der strukturellen DNA-Nanotechnologie zur Methode der Wahl, wenn zwei- und dreidimensionale DNA-Objekte hergestellt werden sollen. In diesem Kurzaufsatz werden die jüngsten Fortschritte bei der Entwicklung von DNA-Origami-Strukturen zusammengefasst, die zahlreiche interessante Anwendungsmöglichkeiten eröffnen.

1. Einleitung

Die 1982 von Seeman veröffentlichte revolutionäre Idee, DNA als Konstruktionsmaterial für die Selbstorganisation von geometrisch definierten Objekten mit nanoskaligen Eigenschaften einzusetzen,^[1] begründete ein neues Forschungsgebiet, das heute unter dem Namen „strukturelle DNA-Nanotechnologie“ bekannt ist.^[2] Basierend auf der hohen Spezifität der Watson-Crick-Basenpaarung werden rigide verzweigte DNA-Motive erzeugt, die durch Hybridisierung komplementärer Bereiche vorhersagbare Überstrukturen bilden, die häufig auch als DNA-Kacheln bezeichnet werden (Abbildung 1a). Diese DNA-Kacheln können mithilfe überhängender Einzelstränge (sticky ends) weiter zu diskreten endlichen Objekten oder zu unendlichen periodischen Gittern angeordnet werden.^[2–5] Mit dieser Mehrstrangmethode konnte eine Vielzahl komplexer DNA-Über-

strukturen aufgebaut werden. Sie hat allerdings einige Nachteile. So ist es für die Bildung von größeren Strukturen notwendig, dass die beteiligten Oligonucleotide und/oder Kacheln gereinigt und im exakt stöchiometrischen Verhältnis eingesetzt werden, was den Herstellungsprozess aufwändig und fehleranfällig macht. Außerdem ist die Komplexität der so erhältlichen

Strukturen auf einfache geometrische Formen und die Wiederholung von grundlegenden Bausteinen beschränkt.

Ein außergewöhnlicher Durchbruch bei der Konstruktion von nanometergroßen DNA-Objekten gelang 2006 mit der Einführung der gerüstbasierten DNA-Origami-Methode durch Rothemund^[6] (für einen Übersichtsartikel zu diesem Thema siehe Lit. [7]). Ähnlich der japanischen Kunst des Papierfaltens wird bei der DNA-Origami-Technik ein langer einzelsträngiger DNA-Gerüststrang (scaffold strand) mithilfe hunderter kurzer Oligonucleotide, die als Faltungsstränge (staple strands) bezeichnet werden, in die gewünschte Form gefaltet (Abbildung 1b). Zwar waren die ersten Beispiele für eine Gerüststrang-basierte Herangehensweise in der strukturellen DNA-Nanotechnologie bereits von Yan et al.^[8] und Shih et al.^[9] berichtet worden, jedoch hatte keiner dieser beiden Artikel eine so beeindruckende Auswirkung wie die Veröffentlichung von Rothemund.^[6] In dessen Arbeit wird das 7.25 Kilobasen lange, zirkuläre M13mp18-Einzelstranggenom mithilfe von etwa 200 Faltungssträngen in eine Anordnung aus antiparallel verlaufenden Helices gefaltet, die über periodische Kreuzungspunkte verbunden sind. Die Faltung der DNA erfolgt dabei durch etwa zweistündiges langsames Abkühlen des Gerüststranges in Gegenwart eines üb-

[*] B. Saccà, Prof. Dr. C. M. Niemeyer
Fakultät Chemie, Biologisch-Chemische Mikrostrukturtechnik
Technische Universität Dortmund
Otto-Hahn Straße 6, 44227-Dortmund (Deutschland)
E-Mail: barbara.sacca@tu-dortmund.de
christof.niemeyer@tu-dortmund.de

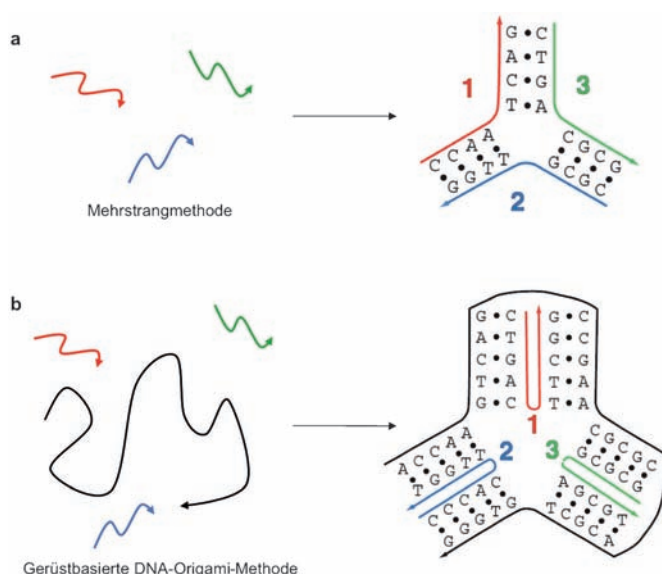


Abbildung 1. Die beiden grundsätzlichen Herangehensweisen für die Herstellung von DNA-Objekten. a) Bei der Mehrstrangmethode werden Oligonucleotide so entworfen, dass sie definierte verzweigte DNA-Motive („Kacheln“) bilden. Eine hierarchische Selbstorganisation solcher Motive in größere (endliche oder unendliche) Strukturen wird durch Hybridisierung von Einzelstrangüberhängen (sticky ends) erreicht. b) Bei der gerüstbasierten DNA-Origami-Methode wird ein langer einzelsträngiger Gerüststrang (scaffold strand) mithilfe hunderter kurzer Faltungsstränge (staple strands) in eine gewünschte Form mit definierter Größe gefaltet. Diese gerüstbasierte Selbstorganisation verläuft hoch effizient. Wiedergabe aus Lit. [61] mit Genehmigung.

licherweise 100-fachen Überschusses der Faltungsstränge von ca. 90°C auf Raumtemperatur. Dies führt zur Bildung der Zielstruktur in nahezu quantitativer Ausbeute. Die Origami-Methode ist deutlich schneller als die Mehrstrangmethode, bei der für die Anordnung von Oligonucleotiden zu periodischen Gittern normalerweise bis zu 20 h benötigt werden. Die hohe Leistungsfähigkeit der DNA-Origami-Technik beruht hauptsächlich auf dem entropischen Vorteil der Verwendung eines einzelnen langen Gerüststranges für die Faltung.^[8] Da die Faltungsstränge vorzugsweise mit dem Gerüststrang hybridisieren anstatt untereinander zu binden, ist ihr genaues stöchiometrisches Verhältnis nicht mehr relevant. Darüber hinaus fördert die korrekte Hybridisierung mit dem Gerüst-

strang die nachfolgende korrekte Bindung weiterer Faltungsstränge, indem mögliche falsch gebundene oder verkürzte Sequenzen einfach durch Strangaustausch verdrängt werden. Somit lassen sich mit der Origami-Technik experimentelle Fehler und die für die Synthese benötigte Zeit stark reduzieren, da nicht länger eine strenge Kontrolle über die Stöchiometrie und die Reinheit der Oligonucleotide notwendig ist. Die DNA-Origami-Technik hat sich wegen dieser praktischen Vorteile sowie der Tatsache, dass sie auch den nahezu uneingeschränkten Zugang zu komplexen Nanoobjekten mit vorherbestimmbarer Größe und molekularer Adressierbarkeit eröffnet, rasch zu einem bedeutenden Instrument für die Herstellung DNA-basierter Nanoarchitekturen entwickelt.

2. Einlagige DNA-Origami-Strukturen

Rothemund beschrieb in seinem Originalbeitrag^[6] die Herstellung verschiedener planarer quasi-zweidimensionaler Strukturen, die von einfachen rechteckigen Formen über komplexere Formen wie Sterne und Dreiecke bis zu nicht-geometrischen Figuren wie einem „Smiley“ reichten. Diese Objekte wurden nach den folgenden allgemeingültigen Aufbaueregeln entworfen: Jede Helix innerhalb der Struktur ist mit ihren beiden benachbarten Helices über ein regelmäßiges Muster aus Kreuzungspunkten verbunden, die in einem Abstand von 1.5 Helixwindungen angeordnet sind, was bei einer zum B-Typ gehörenden DNA etwa 16 Basenpaaren entspricht (Abbildung 2). Diese Anordnung der Kreuzungspunkte erzeugt Verbindungen zwischen benachbarten Helices, die im 180°-Winkel zueinander stehen. Somit entsteht eine einlagige Schicht von Helices, die eine planare Fläche bilden.

Dasselbe Prinzip kann auch dafür genutzt werden, dreidimensionale (3D-)Strukturen aufzubauen. Hierfür wird ein Origami aufgebaut, das aus mehreren zweidimensionalen (2D-)Flächen besteht, deren Kanten unter einem spezifischen Winkel über zusätzliche Kreuzungspunkte zwischen den an den Grenzflächen aufeinandertreffenden Helices verbunden werden. Dies erzeugt dreidimensionale Objekte mit einem Hohlraum in der Mitte, wie oben und unten geöffnete Prismen mit drei, vier oder sechs Seitenflächen^[10] oder geschlossene Polyeder wie Tetraeder^[11] oder Würfel.^[12,13] Beispiels-



Christof M. Niemeyer studierte an der Universität Marburg Chemie und promovierte am MPI für Kohlenforschung in Mülheim an der Ruhr bei Manfred T. Reetz. Nach einem Postdoktorat am Center for Advanced Biotechnology in Boston (USA) bei Charles R. Cantor habilitierte er sich 2000 an der Universität Bremen und ist seit 2002 Professor für Biologische und Chemische Mikrostrukturtechnik in Dortmund. Seine Forschungsinteressen gelten der Chemie und den Anwendungen von Biokonjugaten. Er ist Gründer der Firma Chimera Biotech, die kommerzielle DNA-Protein-Konjugate für diagnostische Zwecke anbietet.



Barbara Saccà studierte an der Universität Padua (Italien) Chemie und promovierte über die Synthese und Charakterisierung von Kollagen-ähnlichen Molekülen am MPI für Biochemie in Martinsried bei Luis Moroder. Nach Postdoktoraten am Muséum national d'Histoire naturelle in Paris bei Jean-Louis Mergny und am Institut Pasteur in Paris bei Aaron Bensimon kam sie 2006 in die Gruppe von Christof M. Niemeyer, wo sie ihre Arbeit im Bereich der DNA-Nanotechnologie begann. Ihre Forschungsinteressen gelten der Nutzung von DNA als Konstruktionsmaterial für Anwendungen in den Materialwissenschaften und der Nanomedizin.

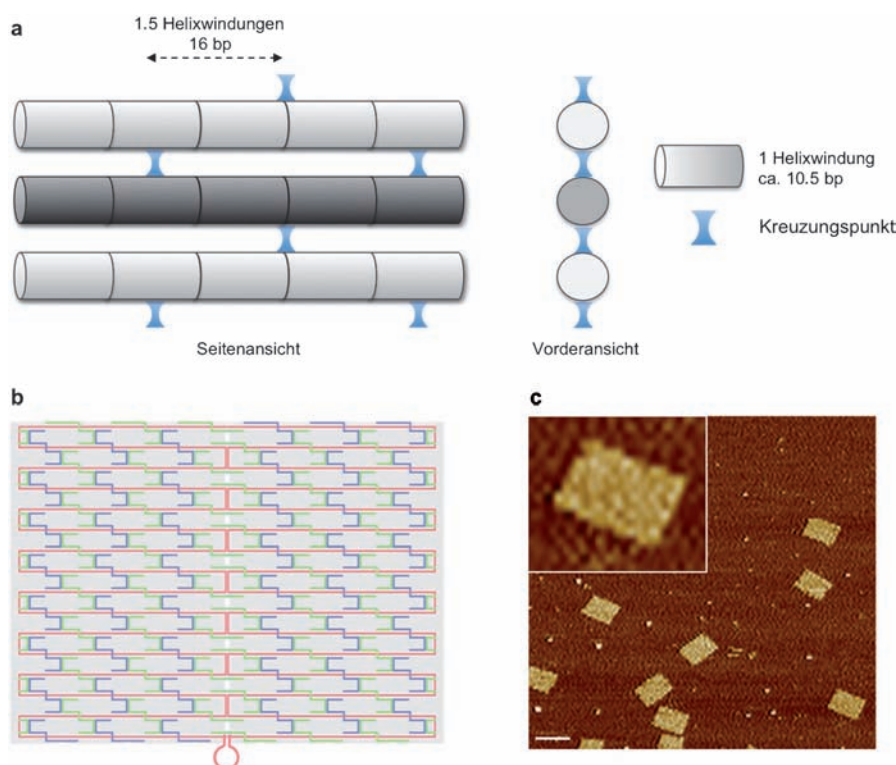


Abbildung 2. Prinzipien für die Entwicklung von zweidimensionalen DNA-Origami-Strukturen nach der Methode von Rothemund. a) Das DNA-Gerüst besteht aus antiparallelen DNA-Helices (schematisch als helle und dunkle Zylinder dargestellt), die über eine definierte Anordnung von Kreuzungspunkten (blaue Symbole) miteinander verbunden sind. Diese Kreuzungspunkte haben jeweils einen Abstand von 16 Basenpaaren (bp) zueinander, was 1.5 Helixwindungen entspricht und zu einer planaren Anordnung der Helices führt. b) Mit der Hilfe von Computerprogrammen werden die für die Faltung des Gerüststranges (langer roter Strang) in die gewünschte Form notwendigen Faltungsstränge (kurze blaue und grüne Segmente) generiert. c) Die Bildung der Zielstruktur wird mit Rasterkraftmikroskopie nachgewiesen (Maßstabsbalken = 100 nm). Der Einschub zeigt eine einzelne rechteckige Origami-Struktur mit der erwarteten Größe von $70 \times 96 \text{ nm}^2$.

weise wurde ein DNA-Kasten mit einem beweglichen Deckel entworfen (Abbildung 3a). Der Deckel ist auf einer Seite über flexible Scharniere am Kasten befestigt und kann auf der gegenüberliegenden Seite über ein Paar verlängerter Faltungsstränge den Kasten verschließen. Diese Faltungsstränge haben kurze einzelsträngige Überhänge (toeholds), die als Ansatzpunkte für die Hybridisierung vollständig komplementärer „Schlüssel“-Stränge fungieren, sodass deren Zugabe den Deckel über eine Strangverdrängung wieder öffnen kann.^[12] Damit war dies das erste Beispiel einer Origami-Struktur, deren Topologie durch einen externen Stimulus verändert werden kann.

Ein raffinierterer Weg zur Änderung der Topologie einer DNA-Überstruktur wurde kürzlich von Yan und Mitarbeitern aufgezeigt.^[14] Diese nannten ihre Methode „DNA-Kirigami“, in Anlehnung an die Variation der Origami-Technik, bei der das gefaltete Papier geschnitten wird. In der Arbeit wurde ein Möbius-Band aus DNA hergestellt, das als molekulares Analogon zum Papiermodell durch Schneiden an verschiedenen Positionen entlang des Streifens in unterschiedliche Topologien überführt werden kann. Das Möbius-Band besteht aus einer langen einzelnen Origami-Fläche mit den Abmessungen $25 \times 210 \text{ nm}^2$, die einmal um 180° um ihre zentrale Achse verdreht und nachfolgend an den schmalen Seitenkanten zu einem geschlossenen Ring verbunden wurde. Das Schneiden des Bandes wurde durch Einzelstrangver-

drängung erreicht, bei der selektiv bestimmte Faltungsstränge aus dem Origami entfernt wurden, sodass benachbarte helicale Domänen getrennt wurden. Als Resultat wurde beispielsweise eine Catenan-artige Topologie aus zwei miteinander verketteten Ringen erhalten.

In dieser Arbeit über DNA-Kirigami wurde erstmals demonstriert, dass eine gekrümmte DNA-Oberfläche aus einer einlagigen Origami-Fläche hergestellt werden kann. Erst kürzlich wurde ebenfalls von Yans Gruppe eine neue Strategie für die Bildung von DNA-Origami-Objekten mit komplexen Krümmungen beschrieben.^[15] Diese Methode basiert auf der Bildung von konzentrischen DNA-Helices, die um ihre zentrale Achse gekrümmt sind und über ein Netzwerk aus latitudinalen und longitudinalen Kreuzungspunkten miteinander verbunden sind. Wie in Abbildung 3b gezeigt, werden hierdurch zwei- und dreidimensionale Strukturen aufgebaut. Anders als bei der vorher beschriebenen Methode folgt dieses Netzwerk aus Kreuzungspunkten nicht strikt der Regel von 10.5 bp pro Drehung, sondern ermöglicht einen gewissen Grad an Strukturflexibilität (9–11 bp pro Drehung). Hierdurch wird eine präzisere Anpassung der DNA-Krümmung ermöglicht, sodass auch komplexe Formen wie planare konzentrische Ringe, Kugeln und Halbkugeln zugänglich werden, die mit der konventionellen Origami-Methode nicht erhältlich waren. Durch gleichzeitige Variation der Krümmung innerhalb und außerhalb einer Ebene konnten sogar kompli-

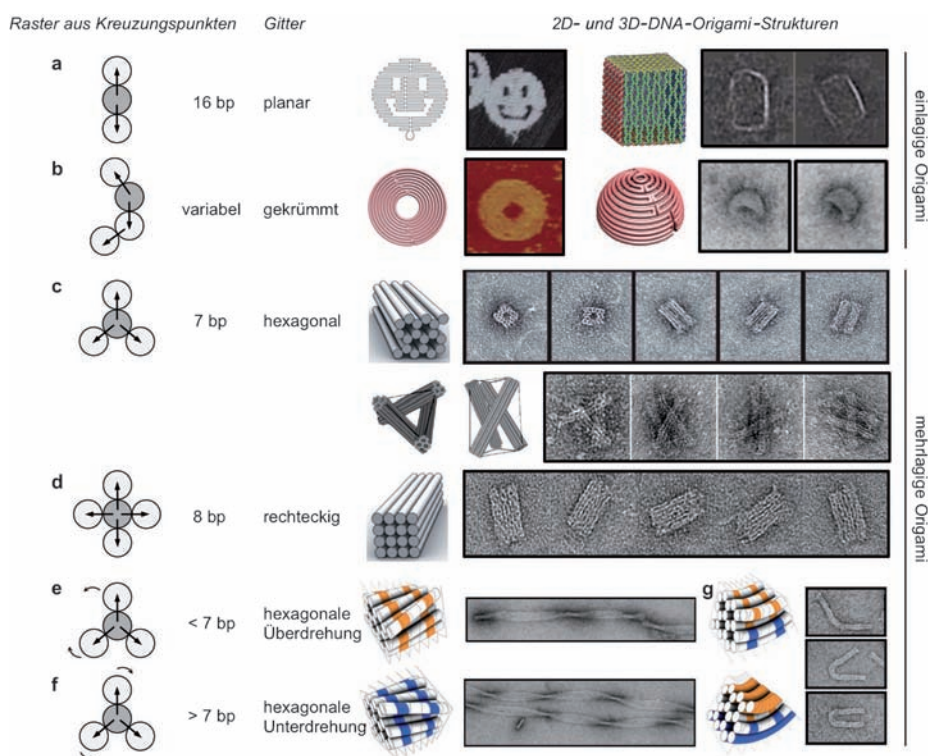


Abbildung 3. Raster aus Kreuzungspunkten und daraus resultierende Gitter, die für die Konstruktion von 2D- und 3D-DNA-Origami-Strukturen genutzt werden. Die DNA-Helices sind als Kreise dargestellt und werden entlang ihrer zentralen Helixachse betrachtet. Mit schwarzen Pfeilen werden die interhelicalen Kreuzungspunkte zwischen einer Bezugshelix (dunkelgrauer Kreis) und ihren benachbarten Helices (hellgraue Kreise) dargestellt. Außer der Zahl an Basenpaaren zwischen zwei benachbarten Kreuzungspunkten entlang einer Helix ist auch die daraus resultierende 2D- oder 3D-Anordnung der Helices gezeigt. Einlagige (a, b) und mehrlagige (c–g) DNA-Origami-Strukturen können durch eine entsprechende Anordnung der Kreuzungspunkte aufgebaut werden, was die Herstellung einer großen Vielfalt an Formen (z. B. hohlen, ausgefüllten, verdrehten und gekrümmten Objekten) ermöglicht. Wiedergabe aus Lit. [6, 12, 15, 16, 19] mit Genehmigung.

ziertere Objekte wie ein Ellipsoid und eine „Nanoflasche“ hergestellt werden. Damit erweitert diese Designmethode das Repertoire an zugänglichen Formen beträchtlich.

3. Mehrlagige DNA-Origami-Strukturen

Eine große Einschränkung einlagiger DNA-Origami-Strukturen ist ihre relativ geringe Beständigkeit gegen mechanische Belastung. Zur Lösung dieses Problems wurden rigidiere 3D-DNA-Objekte entwickelt, bei denen die Struktur entweder mit einer Vielzahl an Helices ausgefüllt wurde^[16] oder durch Druck- und Zugspannungen nach dem Tensegrity-Prinzip (siehe unten) stabilisiert wurde.^[17] Mehrlagige DNA-Origamis bestehen aus dicht gepackten, antiparallel verlaufenden Helices, die durch eine definierte dreidimensionale Anordnung von Kreuzungspunkten miteinander verbunden sind. Der Abstand von benachbarten Kreuzungspunkten zueinander entlang einer Helixachse bestimmt dabei, wie benachbarte Helices untereinander verknüpft sind, und damit auch die Geometrie eines Bausteins. Das erste Beispiel einer mehrlagigen Origami-Struktur wurde von Shih und Mitarbeitern veröffentlicht, die jede Helix mit drei benachbarten Helices verknüpften, indem sie die Kreuzungspunkte entlang einer Helixachse in einem Abstand von 7 bp zueinander anordneten. Dies führt zu einem Winkel von 120° zwischen drei

benachbarten Kreuzungspunkten (Abbildung 3c). Daher sind die Helices bei Betrachtung eines Querschnitts durch die resultierende Überstruktur hexagonal angeordnet und erinnern an die Struktur von Bienenwaben. Die Allgemeingültigkeit dieser Strategie wurde durch die Bildung einer Reihe von dreidimensionalen Formen demonstriert, die z. B. einem Monolithen oder einer Vierkantmutter ähnelten. Die Autoren konnten auch zeigen, dass Helixbündel mit verschiedenen Querschnittsmustern entweder in einer Richtung zusammengeführt werden können, um Bahnbrücken-ähnliche Strukturen zu generieren, oder sogar in verschiedene Richtungen zeigen können, um ein gespaltenes oder ein gestapeltes Kreuz zu kreieren.

Demselben Prinzip folgend wurden auch DNA-Objekte aufgebaut, die statt eines hexagonalen einen rechteckigen Querschnitt aufweisen. Dies ermöglicht die Konstruktion von flacheren Oberflächen, kleineren Hohlräumen und kompakteren Strukturen (Abbildung 3d).^[18] Eine weitere Anwendung des generellen Prinzips zum Aufbau mehrlagiger Origami-Strukturen wurde von Dietz et al. demonstriert. Diese konnten Strukturen entwickeln, deren Helixachsen überdreht oder gebogen sind (Abbildung 3e, f, g).^[19] Wie bereits oben beschrieben, beträgt bei einem regulären mehrlagigen Origami der Abstand der Kreuzungspunkte entlang einer Helixachse sieben Basenpaare. Das Entfernen oder Hinzufügen eines Basenpaares in einem ausgewählten Bereich der Heli-

ces bewirkt dementsprechend entweder eine lokale Über- oder Unterdrehung der DNA-Helix. Dies ist in Abbildung 3e,f verdeutlicht. Darüber hinaus führt das Hinzufügen eines Basenpaares auf der einen Seite und das Entfernen eines Basenpaares auf der entgegengesetzten Seite einer regulären 7-bp-Anordnung zu einem gleichzeitigen Ausdehnen und Zusammenziehen der entsprechenden Seiten, was eine globale Krümmung der Helices zur Folge hat. (Abbildung 3g). Durch Variation der Zahl an zusätzlichen und entfernten Basenpaaren kann die Krümmung in einem Bereich von 0° bis 180° in 5°-Schritten genau eingestellt werden.^[19]

Ein anderer Ansatz, um mehr mechanische Stabilität bei dreidimensionalen DNA-Objekten zu erreichen, basiert auf dem Tensegrity-Konzept. „Tensegrity“ ist ein Kunstwort aus den Worten „tension“ und „integrity“, das ausdrücken soll, dass geometrische Integrität durch Zugspannung erzeugt wird. Das Tensegrity-Prinzip wird auch in der makroskopischen Architektur angewendet, wenn geometrische Objekte aus starren Stäben (Stützbalken) aufgebaut werden, die über flexible Verbindungen (Spanndrähte) zusammengehalten werden. Während die Stützbalken nach außen drücken, üben die Spanndrähte eine Zugspannung nach innen aus, sodass das Gleichgewicht zwischen diesen beiden Kräften zu einer stabilen und mechanisch rigiden Struktur führt. Schon früher wurde dieses Prinzip dafür genutzt, mechanisch starre DNA-Nanobjekte zu konstruieren.^[20,21] Wie von Liedl et al. demonstriert wurde,^[17] können nach dem Tensegrity-Prinzip dreidimensionale Prismen aufgebaut werden, die aus starren Bündeln von drei bis sechs Helices bestehen und die Funktion eines druckresistenten Stützbalkens ausüben. Diese Helixbündel werden über einzelsträngige (ss-)DNA-Segmente an ihrer Position gehalten, die als entropische Zugdrähte wirken (Abbildung 3c, untere Bildreihe). Da die Kräfte, die durch solche Systeme generiert werden, präzise kontrollierbar sind, schlagen die Autoren vor, dass dieses Konzept für die Herstellung von mechanisch reagierenden DNA-Nanostrukturen einsetzbar sein sollte, die als Hilfsmittel zur Untersuchung von biophysikalischen Prozessen auf molekularer Ebene verwendet werden können.

Die oben beschriebenen Beispiele zeigen, dass die Ausweitung von Rothemunds Konzept auf die dritte Dimension die Herstellung von hoch komplexen und faszinierenden Nanoobjekten ermöglicht. Allerdings ist die 3D-Origami-Technik bei weitem nicht so einfach und unkompliziert wie das 2D-Origami. Insbesondere erfordert der Entwurf von 3D-Objekten eine sorgfältigere theoretische Optimierung. Glücklicherweise sind Computerprogramme für den Entwurf von 2D-^[22] und 3D-Origami-Strukturen^[23] entwickelt worden, die für die Öffentlichkeit frei zugänglich sind. Solche halbautomatischen Hilfsmittel verringern nicht nur enorm die erforderliche Zeit für die Entwicklung neuer Strukturen, sondern darüber hinaus auch drastisch die Wahrscheinlichkeit von menschlichen Fehlern, die bei einem vollständig manuellen Entwurfsprozess auftreten können. Eine Weiterentwicklung der computergestützten Designprogramme ist jedoch essenziell, wenn die Strukturen noch komplexer werden sollen. Darüber hinaus ist auch die experimentelle Synthese von 3D-Origami-Strukturen anspruchsvoller als jene von 2D-

Origami-Strukturen. So wird für den Aufbau von mehrlagigen Objekten normalerweise deutlich mehr Zeit (bis zu einer Woche) benötigt, und die Ausbeute der Zielstruktur ist geringer. Aus diesem Grund wurden bereits alternative, zumeist empirisch ermittelte Aufbauvorschriften^[24] und Reinigungsmethoden^[25] entwickelt, die in einigen Fällen schon zu einer Verbesserung der Anordnungseffizienz geführt haben.

4. Funktionalisierung von DNA-Origami-Strukturen

Ungeachtet der großen Fortschritte beim Design und der Synthese von DNA-Nanostrukturen wird über ihre praktische Anwendbarkeit noch debattiert. Ohne Zweifel ist die DNA-Origami-Technik ein äußerst wertvolles Instrument für die Organisation und Manipulation von Molekülen im Nanometermaßstab. Dennoch ist wegen der eingeschränkten chemischen, optischen oder elektronischen Funktionalität der DNA zwingend eine Funktionalisierung von DNA-Strukturen notwendig, um sinnvolle Anwendungen zu ermöglichen. Daher wurden bereits einige Strategien zur chemischen Modifizierung und Funktionalisierung von DNA-Nanostrukturen entwickelt, um Anwendungen in unterschiedlichen Bereichen der Naturwissenschaften zu realisieren.

Das erste Beispiel für eine dekorierte Origami-Oberfläche wurde bereits von Rothemund selbst gezeigt. Es basiert auf der Einführung von sperrigen DNA-Motiven in Form hantelförmiger Haarnadelschleifen, die an ausgewählten Positionen in bestimmten Faltungssträngen positioniert wurden.^[6] Diese DNA-Motive können als topographische Markierungen genutzt werden, um die Symmetrie zu brechen und damit charakteristische Bereiche von geometrischen Objekten zu identifizieren, da sie auf dem flachen Origami mit dem Rasterkraftmikroskop als helle Punkte detektierbar sind. So wurden Origami-Strukturen, die mit hantelförmigen DNA-Motiven kodiert waren, als DNA-Nanochips verwendet, um Einzelmolekülreaktionen,^[26] RNA-Sequenzen^[27] und Einzelnucleotidpolymorphismen (SNPs)^[28] zu detektieren (siehe auch Abschnitt 5.1).

Die chemische Modifizierung von Faltungssträngen mit Biotinmolekülen ermöglicht die Bindung von Streptavidin (STV) an ausgewählten Positionen der Origami-Struktur. Die so markierten Positionen lassen sich leicht mit Rasterkraftmikroskopie (AFM) sichtbar machen. Diese Methode wurde verwendet, um die Organisation von Proteinen auf Origami-Gerüsten (Abbildung 4a)^[29–31] zu demonstrieren oder um Einzelmolekülreaktionen an definierten biotinylierten Positionen auf einem Origami zu visualisieren (siehe Abschnitt 5.1 und Abbildung 5).^[26] Kürzlich wurde das tetravalente STV für die Konjugation von biotinylierten Origami-Strukturen mit biotinylierten Kohlenstoffnanoröhren eingesetzt.^[32] Komiyamas Gruppe hat mit His₆-Peptiden derivatisierte Faltungsstränge dazu verwendet, um enzymmodifizierte DNA-Origami-Strukturen über die Affinität der His₆-Gruppen zu chelatisierten Cobaltionen zu reinigen.^[33]

Unsere Gruppe hat vor Kurzem eine allgemeine Methode für die ortsspezifische und kovalente Modifizierung von DNA-Origami-Strukturen mit mehreren verschiedenen Proteinen entwickelt. Hierzu wurden Kupplungssysteme genutzt,

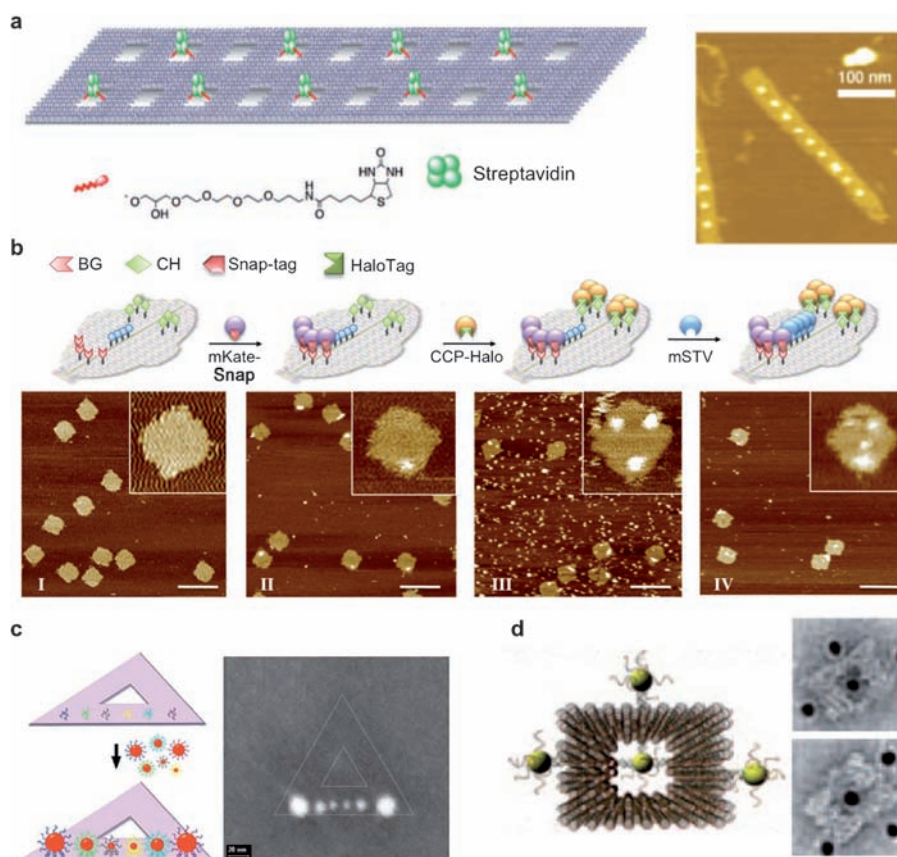


Abbildung 4. Repräsentative Beispiele für die Funktionalisierung von DNA-Origami-Strukturen. a) Die Markierung von ausgewählten Faltungssträngen mit Biotingruppen ermöglicht die ortsspezifische Bindung von Streptavidin an definierten Positionen eines Origami-Gerüsts, was mit AFM visualisiert werden kann. b) Modifizierung einer Origami-Struktur mit chemischen Gruppen, die eine Bindung von Proteinen orthogonal zum Biotin/Streptavidin-Modellsystem ermöglicht. Benzylguanin (BG) und Chlorhexan (CH) fungieren dabei als Opferliganden für die ortsspezifische Kupplung von Fusionsproteinen, die entsprechend eine Snap- oder Halo-Proteinmarkierung enthalten. Die erfolgreiche orthogonale Modifizierung der DNA-Struktur wurde durch eine schrittweise Zugabe von drei unterschiedlichen Proteinen und eine anschließende AFM-Charakterisierung der Zielstrukturen (I–IV in b) nachgewiesen. mKate = rot fluoreszierendes monomeres Katushka-Protein, CCP = Cytochrom-C-Peroxidase, mSTV = monovalentes Streptavidin. Sowohl für planare (c) als auch für dreidimensionale Origami-Strukturen (d) wurde die Hybridisierung von mit DNA konjugierten Nanopartikeln an komplementäre Sequenzen, die aus der Origami-Fläche herausragen, realisiert. Wiedergabe aus Lit. [31, 34, 35, 38] mit Genehmigung.

die orthogonal zum Biotin-STV-System sind (Abbildung 4b).^[34] So wurden niedermolekulare Benzylguanin- und Chlorhexanfunktio- nen in das DNA-Origami eingebunden, die als Opferliganden für die ortsspezifische Kupplung von Fusionsproteinen fungieren, die entweder das selbstmarkierende Protein O6-Alkylguanin-DNA-Alkyltransferase (hAGT), oft auch als „Snap-tag“ bezeichnet, oder die Halogenalkan-Dehalogenase, auch bekannt als „HaloTag“, enthielten. Diese Methode ermöglicht die effiziente Dekoration von DNA-Überstrukturen mit komplexen Mustern beliebiger Proteine und verleiht damit Kontrolle über die Zugänglichkeit und Reaktivität spezieller Proteinanordnungen, die auf einem Origami-Gerüst präsentiert werden.

Die mit Abstand am häufigsten genutzte Methode für die Modifizierung von DNA-Origami basiert auf der Hybridisierung von DNA-konjugierten Komponenten mit terminal verlängerten Faltungssträngen, die aus der Origami-Ebene herausragen. Diese Methode wurde vor allem angewendet, um Origami-Strukturen mit Nanopartikeln unterschiedlicher Größe zu modifizieren. Beispielsweise wurden dreieckige

Origami-Strukturen dazu genutzt, um Gold-^[35] oder Silber-Nanopartikel^[36, 37] auf einer Kante zu Ketten zu organisieren (Abbildung 4c). Hierfür wurden die Nanopartikel mit thio-lierter ssDNA funktionalisiert, die mit komplementären Sequenzen hybridisieren kann, die auf der Origami-Oberfläche präsentiert wurden. Indem verschiedene Fängeroligonucleotide verwendet wurden, konnten bis zu sechs verschiedene Gold-Nanopartikel (AuNPs) selektiv an die Origami-Struktur gebunden werden (Abbildung 4c).^[35] Ein ähnlicher Ansatz wurde genutzt, um unterschiedlich große AuNPs in Origami-Käfigen mit einem inneren Hohlraum von bis zu 10 nm zu verkapseln (Abbildung 4d).^[38] In dieser Arbeit wurden zudem bis zu drei zusätzliche Partikel an ausgewählten Positionen an der Außenseite des Käfigs selektiv gebunden. Dieses Beispiel zeigt deutlich, dass das Origami-System vollständig räumlich adressierbar ist. In einem anderen Beispiel konnte durch eine terminale Verlängerung der Fänger-Faltungsstränge mit einem passenden einzelsträngigen Überhang (toehold) ein Einzelstrangaustausch initiiert werden. Hierdurch war es möglich, Proteine selektiv an die

DNA-Überstrukturen zu binden und von dort wieder zu entfernen.^[30]

Die Hybridisierungs-basierte Modifizierungsmethode ist damit recht breit anwendbar, erfordert allerdings normalerweise zusätzliche Temperierungszyklen bei erhöhten Temperaturen, um die vollständige Hybridisierung und das Binden der ssDNA-konjugierten Komponenten an die komplementären Stränge des Origami sicherzustellen. Diese Temperierungszyklen schränken jedoch die Anwendbarkeit der Methode deutlich ein, wenn thermisch labile Moleküle, wie denaturierungsempfindliche Proteine, auf einem Origami-Gerüst immobilisiert werden sollen.

5. Anwendungen von DNA-Origami-Strukturen

Die DNA-Origami-Technik ist sehr vielversprechend für verschiedene Wissenschaftsbereiche, da eine DNA-Origami-Struktur als eine „molekulare Stecktafel“ mit mehr als 200 Pixeln betrachtet werden kann, die einzeln mit einer Präzision von wenigen Nanometern adressierbar sind. Dass dieser Aspekt effiziente Anwendungen im Bereich von Einzelmolekülstudien oder für die Konstruktion von neuen Materialien ermöglicht, soll in diesem Abschnitt anhand einiger repräsentativer Beispiele verdeutlicht werden.

5.1. Einzelmolekülstudien

Eine der ersten Anwendungen von DNA-Origami-Strukturen wurde von Ke et al.^[27] beschrieben, die eine rechteckige Origami-Struktur für die Einzelmoleküldetektion von Hybridisierungsereignissen nutzten (Abbildung 5 a). Hierfür wurden Faltungsstränge an definierten Positionen mit einzelsträngigen Sequenzen verlängert, die komplementär zu spezifischen RNA-Zielsequenzen waren. Nach der Bindung der RNA in homogener Lösung wurden die Origami-Nanochips auf einer Glimmeroberfläche gebunden und die Hybridisierungsereignisse mit AFM detektiert. In einer anderen Arbeit nutzte dieselbe Gruppe ein DNA-Origami, um die Auswirkung von verschiedenen Abständen zwischen zwei Liganden auf die multivalente Bindung eines Zielproteins zu untersuchen.^[39] Hierzu wurden zwei Thrombinaptamere in unterschiedlichen Abständen in ein DNA-Origami eingefügt, und die Bindung von Thrombin wurde mit Gelelektrophorese und AFM untersucht. Mit diesem System konnte die Bedeutung von divalenten Bindungen für die Bildung von stabilen Thrombin-Origami-Konjugaten eindeutig belegt werden. Voigt et al.^[26] haben DNA-Origami-Strukturen dazu genutzt, orthogonale chemische Reaktion durch Einzelmoleküldetektion zu demonstrieren. Hierzu wurden definierte Faltungsstränge einer DNA-Origami-Struktur che-

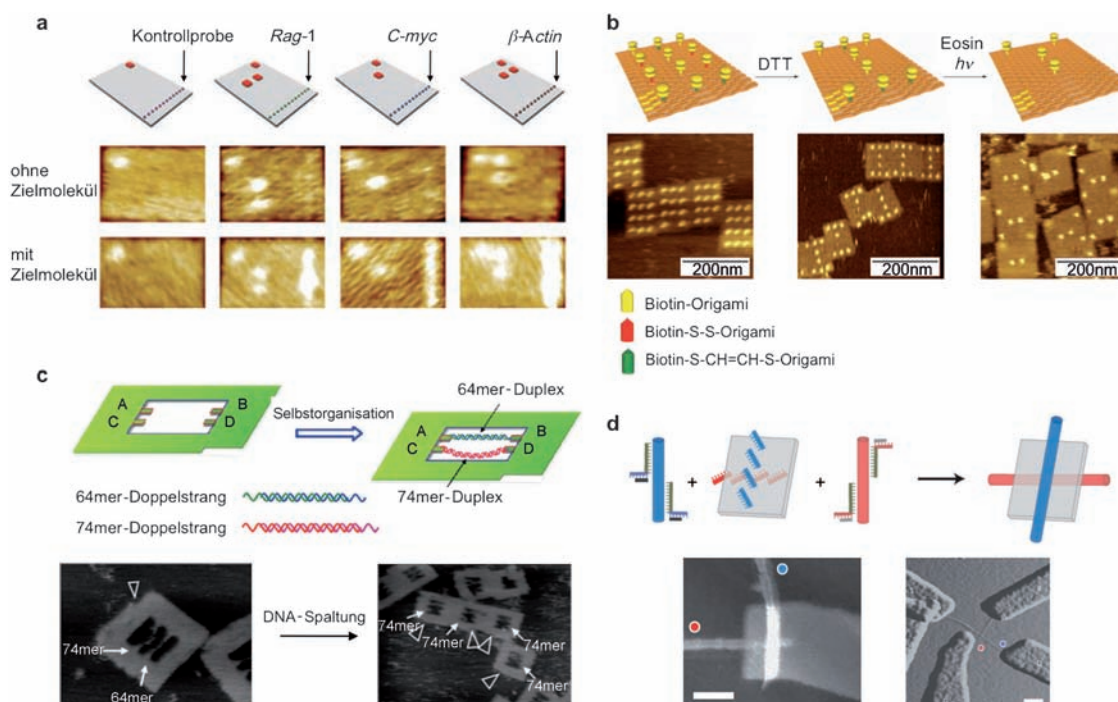


Abbildung 5. Repräsentative Anwendungsmöglichkeiten von DNA-Origami-Strukturen. a) Ein DNA-Origami-Chip wurde für die markierungsfreie Detektion von RNA-Proben genutzt. Anhand eines Strichcodes kann identifiziert werden, ob der Origami-Chip auf der rechten Seitenkante Sonden für C-myc, Rag-1, β -Actin oder eine Kontrollprobe enthält. Jede Sonde zeigt eine spezifische Bindung in Gegenwart von RNA-Proben. b) Einzelmolekülreaktionen können auf DNA-Origami-Oberflächen durchgeführt und visualisiert werden. Biotinmoleküle sind über orthogonale Linker an das Origami gebunden (durch gelbe, rote und grüne Symbole dargestellt). Die selektive chemische Spaltung dieser Linker wurde durch die Bindung von Streptavidin und anschließende AFM-Messungen nachgewiesen. DTT = Dithiothreitol. c) Rahmenartige Origami-Strukturen wurden genutzt, um den Effekt der Spannung eines DNA-Stranges auf DNA prozessierende Enzyme zu untersuchen. Die Daten zeigen, dass der entspannte, 74 bp lange Doppelstrang ein besseres Substrat für die DNA prozessierenden Enzyme ist. d) Zwei verschiedene Typen von Kohlenstoffnanoröhren (durch blaue und rote Balken dargestellt) wurden auf den entgegengesetzten Seiten einer DNA-Origami-Struktur angeordnet, und der Kreuzungspunkt dieser Röhren wurde mit Mikroelektroden elektrisch charakterisiert. Wiedergabe aus Lit. [26, 27, 41, 50] mit Genehmigung.

misch mit Biotingruppen modifiziert, die gezielt spaltbare Linker wie Disulfide oder elektronenreiche 1,2-Bis(alkylthioethen)-Gruppen enthielten. Die orthogonale Spaltung der verschiedenen Bindungen wurde über die anschließende Bindung von STV und nachfolgende AFM-Messung detektiert (Abbildung 5b). Auch die orthogonale Kupplung von Biotingruppen an das Origami-Gerüst durch Kupfer(I)-katalysierte Azid-Alkin-Cycloaddition oder Aktivester-Amidierung konnte mit diesem Aufbau detektiert werden.

Vor Kurzem wurde eine Reihe interessanter Anwendungen von DNA-Origami-Strukturen von Sugiyama et al. publiziert. Diese nutzten eine rahmenartige 2D-Origami-Struktur, um die Auswirkungen mechanischer Spannung einer DNA-Doppelhelix auf die Bindung und die Aktivität von DNA modifizierenden Enzymen zu untersuchen. Die Autoren konnten zeigen, dass die enzymatische Modifizierung des DNA-Zielstranges durch Veränderung des Krümmungsgrades der DNA gefördert oder unterdrückt werden kann. Hierzu wurden zwei unterschiedlich lange doppelsträngige (ds-)DNA-Fragmente aus entweder 64 oder 74 Basenpaaren in eine $40 \times 40 \text{ nm}^2$ große Kavität in der Mitte einer rechteckigen Origami-Fläche eingespannt (Abbildung 5c). Dasselbe DNA-Gerüst wurde auch als Substrat für die Bindung von *EcoRI*-Methyltransferase an die dsDNA verwendet.^[40] Hierzu wurden Hochgeschwindigkeits-AFM-Messungen durchgeführt. In einer zweiten Studie^[41] wurde das Origami-System genutzt, um die Aktivität von zwei DNA-Reparaturenzymen zu analysieren, die Basen aus der Doppelhelix ausschneiden können. Beide Studien führten zur Beobachtung, dass der entspannte, 75 bp lange Doppelstrang den DNA prozessierenden Enzymen mehr Raum bietet, um an die Zielsequenz zu binden und sie zu krümmen. Dagegen ist die gespannte, 64 bp lange Helix ein schlechteres Substrat für die Krümmung, obwohl die Enzyme auch an diese Helix binden können; die eingeschränkte Verformbarkeit führt zu einer weniger effizienten enzymatischen Transformation. Diese Beispiele machen deutlich, wie die definierten räumlichen Koordinaten eines DNA-Origami-Gerüsts in Kombination mit einer zeitaufgelösten Analytik wie der Hochgeschwindigkeits-AFM genutzt werden können, um fundamentale Prozesse wie DNA-Bindung und -Modifizierung auf Einzelmolekülebene zu untersuchen.

Weitere Anwendungsbeispiele folgen einem generellen Konzept: DNA-Origami-Strukturen werden als „molekulare Stecktafeln“ genutzt, um frei wählbare Zielobjekte mit einer Präzision im Nanometerbereich anzuordnen. Die Interaktion und/oder die Umwandlung der organisierten Objekte wie Nucleinsäuren, Proteine, Nanopartikel oder niedermolekulare Komponenten werden idealerweise mit Einzelmolekül-techniken analysiert. In einigen Fällen wurden jedoch auch gemittelte Ensemblemessungen verwendet. Beispiele umfassen die Verwendung von DNA-Origami-Gerüsten für die Strukturbestimmung von Membranproteinen mit NMR-Spektroskopie^[42] oder als starre nanoskalige Lineale für die supraauflösende optische Mikroskopie^[43] und Einzelmolekül-FRET-Spektroskopie (FRET = Förster-Resonanz-Energietransfer).^[44,45] Weitere bemerkenswerte Beispiele wurden publiziert, in denen molekulare Maschinen, die auch als DNA-Läufer bezeichnet werden, auf DNA-Origami-Ober-

flächen installiert und so eingestellt wurden, dass sie in vorherbestimmten Richtungen wandern und Arbeiten verrichten können. Diese Aktionen wurden durch Endpunktbestimmungen mit AFM nachgewiesen.^[46,47]

5.2. Hybridmaterialien

DNA-Origami wurde nicht nur als Gerüst für die Organisation von Proteinen oder anderen organischen Molekülen, sondern auch für die Synthese^[48,49] und die Anordnung von metallischen Partikeln^[35] und anderen anorganischen Materialien^[50] verwendet. Solche Hybridmaterialien werden benötigt, um die abstandsabhängigen Effekte der Plasmonenkupplung von metallischen Nanopartikeln zu studieren, was für mögliche Anwendungen im Bereich der Sensorik oder für optische Bauteile von Interesse ist.

Origami-basierte Hybridmaterialien mit möglichem Nutzen in der Nanoelektronik wurden kürzlich beschrieben. Hierbei wurden zwei unterschiedliche Typen von einwandigen Kohlenstoffnanoröhren (SWCNTs) auf den beiden Seiten eines quasi-zweidimensionalen rechteckigen Origami-Gerüsts angeordnet. Die SWCNTs wurden durch Hybridisierung mit am Origami gebundenen Fängersträngen überkreuzt angeordnet (Abbildung 5d). Das resultierende Nanokonstrukt zeigte Feldeffekttransistor-artige elektronische Eigenschaften.^[50] Andere Beispiele umfassen den Gebrauch von Biotin-STV-Konjugaten für die Selbstorganisation von SWCNTs an einem DNA-Origami-Gerüst^[32] und die Metallisierung von verzweigten DNA-Origamis für die Herstellung nanoskaliger Leitungsbahnen.^[51] Da die Immobilisierung und Organisation von vielen einzelnen Origami-Strukturen auf einer mikrostrukturierten Oberfläche bereits gezeigt werden konnte,^[52] besteht der nächste logische Schritt darin, die Top-down-Mikrostrukturierung mit der Bottom-up-Origami-Modifizierung für die Herstellung großflächiger Anordnungen von nanoskaligen Hybridobjekten zu kombinieren.^[53]

6. Zusammenfassung und Ausblick

Seit Rothemunds Veröffentlichung 2006^[6] haben verschiedene Forschungsgruppen die DNA-Origami-Technik aufgegriffen, und es sind bereits mehr als 100 wissenschaftliche Publikationen veröffentlicht worden. Diese Methode hat sofort einen großen Einfluss gehabt, allerdings sind noch immer technische Verbesserungen notwendig. Eine der größten Aufgaben ist dabei die Entwicklung von alternativen und möglichst orthogonalen Konjugationsstrategien, die eine effektive Bindung von empfindlichen Molekülen unter milden Bedingungen ermöglichen. Bis jetzt werden hauptsächlich Methoden genutzt, die auf der Hybridisierung von verlängerten Faltungssträngen mit DNA-markierten Molekülen beruhen. Hierzu sind jedoch erhöhte Temperaturen und eine präzise Kontrolle des Selbstorganisationsvorgangs erforderlich. Die jeweilige Vorgehensweise muss durch systematisches Ausprobieren ermittelt werden und ist deshalb in der Regel nicht als generelle Methode für die Modifizierung von DNA-Origami mit Proteinen geeignet. Selbstverständlich sollten

alternative Methoden für die Funktionalisierung von Origami-Strukturen hohe Ausbeuten der gewünschten Zielstrukturen liefern. Zudem sind eine Maßstabsvergrößerung der DNA-Origami-Synthese und deren Modifizierung mit Nicht-Nucleinsäure-Komponenten höchst wünschenswert, um Ensemblemessungen zu ermöglichen, wenn keine geeigneten Einzelmolekültechniken zur Verfügung stehen. Des Weiteren müssen geeignete Reinigungsprozeduren entwickelt werden, damit Origami-Gerüste effizient als molekulare Stecktafeln genutzt werden können.

Weitere Perspektiven ergeben sich aus der Möglichkeit, Origami-Strukturen zu entwerfen, deren Abmessungen nicht durch die Größe des üblicherweise genutzten M13mp18-Gerüststranges beschränkt sind. Zu diesem Zweck wurde von Pound et al. eine Polymerasekettenreaktions-basierte Methode entwickelt, die den Aufbau von DNA-Origamis mit frei wählbaren Größen ermöglicht.^[54] Diese Methode ist im Prinzip für die Herstellung langer DNA-Stränge einsetzbar, wurde jedoch bisher jedoch nur für 3–5 kbp lange Segmente des M13mp18-Genoms demonstriert. Alternative Gerüststränge zu M13mp18 wurden auch von Shih und Mitarbeitern hergestellt,^[16] indem genetisch manipulierte M13-Phagen eingesetzt wurden. Hierdurch konnten Gerüststränge mit verschiedenen Längen im Bereich von 7.3 bis 8.6 kb erhalten werden. Shihs Gruppe zeigte zudem, dass sogar die beiden komplementären Stränge einer doppelsträngigen DNA mithilfe von zwei Helferstrangmischungen und einer Kombination aus chemisch und thermisch induzierter Selbstorganisation parallel zu zwei unterschiedlichen Origami-Strukturen gefaltet werden können.^[55] Solche Methoden ermöglichen bereits die Verwendung einer breiten Auswahl an DNA-Quellen, es werden aber dennoch auch alternative Methoden benötigt, um DNA-Überstrukturen mit deutlich größeren Abmessungen aufbauen zu können. So würde die Herstellung längerer ssDNA-Gerüststränge die Anordnung von größeren und komplexeren Formen ermöglichen, wobei jedoch als Konsequenz aus der Verlängerung des Gerüststranges auch die Komplexität des Sequenzdesigns erhöht würde.

Ein alternativer und anscheinend praktikabler Ansatz für die Herstellung von größeren Origami-Konstrukten beruht auf der hierarchischen Selbstorganisation von Origami-Strukturen. Hierzu wurden verbrückende Stränge (bridging staples) entworfen, die einzelne Origamis über ihre Seitenkanten verbinden, sodass sich symmetrische Objekte mit endlicher Größe^[6] oder polymerartige Überstrukturen^[16] bilden. Allerdings sind für diese Strategie eine Reinigung der Intermediate und eine semiempirische Optimierung der Temperaturbedingungen notwendig. Darüber hinaus wird die Zielstruktur nur in geringer Ausbeute erhalten. Alternativ wurden einzelne DNA-Origami-Kacheln auch über die Assoziation von Einzelstrangüberhängen verknüpft, um Mikrometer-große zweidimensionale Anordnungen zu erhalten.^[56] Yans Gruppe hat kürzlich so genannte „Superorigami“-Strukturen entwickelt, die aus einer festgelegten Zahl an Acht-Helix-Bündeln^[57] oder Origami-Strukturen^[58] als Bausteinen hergestellt wurden. Diese Bausteine wurden über einen vororganisierten Gerüststrang, der die Funktion eines Rahmens hat, miteinander assoziiert. Ein anderer Ansatz, die so genannte „Puzzle-Strategie“ (jigsaw puzzle strategy),

wurde von Sugiyama und Mitarbeitern entwickelt. Sie basiert auf der Assoziation von DNA-Origami-Strukturen zu größeren Überstrukturen aufgrund einer Formkomplementarität sowie der Hybridisierung ausgewählter Einzelstrangüberhänge.^[59] Werden die beschriebenen Methoden mit den Ansätzen zur Immobilisierung an Oberflächen^[52,53] kombiniert, könnte dies helfen, die Lücke zwischen der molekularen Bottom-up-Nanotechnologie sowie der Top-down-Mikro- und Top-down-Nanostrukturierung zu schließen. Hierdurch könnte die DNA-Origami-Technik langfristig sogar als Technologie für die industrielle Produktion von Funktionsmaterialien und Bauteilen einsetzbar sein.

Die weitere Erforschung und Anwendung der DNA-Origami-Technik werden die Zusammenarbeit von Wissenschaftlern aus verschiedenen Forschungsgebieten erfordern. Jetzt schon kann resümiert werden, dass dies eine äußerst robuste und effiziente Methode ist, um DNA-Objekte mit einer großen Vielfalt an Formen und Größen herzustellen. Die molekulare Adressierbarkeit dieser Objekte mit einer Präzision von wenigen Nanometern ist einzigartig für polymere Materialien. Auch die Tatsache, dass DNA-basierte supramolekulare Architekturen prinzipiell durch Methoden der Selbstreplikation vervielfältigt werden können,^[60] eröffnet weitere Perspektiven. Zukünftige Anwendungsmöglichkeiten solcher supramolekularen Strukturen und Funktionseinheiten scheinen derzeit nur durch unsere Vorstellungskraft begrenzt zu sein.

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem Bundesministerium für Bildung und Forschung, der Alexander von Humboldt-Stiftung, der Europäischen Union und der Max-Planck-Gesellschaft für die finanzielle Unterstützung unserer Arbeiten. Dieser Aufsatz wurde übersetzt von Rebecca Meyer, TU Dortmund.

Eingegangen am 18. August 2011

Online veröffentlicht am 7. Dezember 2011

- [1] N. C. Seeman, *J. Theor. Biol.* **1982**, 99, 237.
- [2] N. C. Seeman, *Nature* **2003**, 421, 427.
- [3] C. Lin, Y. Liu, H. Yan, *Biochemistry* **2009**, 48, 1663.
- [4] N. C. Seeman, *Mol. Biotechnol.* **2007**, 37, 246.
- [5] U. Feldkamp, C. M. Niemeyer, *Angew. Chem.* **2006**, 118, 1888; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 1856.
- [6] P. W. Rothmund, *Nature* **2006**, 440, 297.
- [7] T. Topping, N. V. Voigt, J. Nangreave, H. Yan, K. V. Gothelf, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, 40, 5636.
- [8] H. Yan, T. H. LaBean, L. Feng, J. H. Reif, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, 100, 8103.
- [9] W. M. Shih, J. D. Quispe, G. F. Joyce, *Nature* **2004**, 427, 618.
- [10] M. Endo, K. Hidaka, T. Kato, K. Namba, H. Sugiyama, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 15570.
- [11] Y. Ke, J. Sharma, M. Liu, K. Jahn, Y. Liu, H. Yan, *Nano Lett.* **2009**, 9, 2445.
- [12] E. S. Andersen, M. Dong, M. M. Nielsen, K. Jahn, R. Subramani, W. Mamdouh, M. M. Golas, B. Sander, H. Stark, C. L. Oliveira, J. S. Pedersen, V. Birkedal, F. Besenbacher, K. V. Gothelf, J. Kjems, *Nature* **2009**, 459, 73.
- [13] A. Kuzuya, M. Komiyama, *Chem. Commun.* **2009**, 4182.
- [14] D. Han, S. Pal, Y. Liu, H. Yan, *Nat. Nanotechnol.* **2010**, 5, 712.

- [15] D. Han, S. Pal, J. Nangreave, Z. Deng, Y. Liu, H. Yan, *Science* **2011**, 332, 342.
- [16] S. M. Douglas, H. Dietz, T. Liedl, B. Hogberg, F. Graf, W. M. Shih, *Nature* **2009**, 459, 414.
- [17] T. Liedl, B. Hogberg, J. Tytell, D. E. Ingber, W. M. Shih, *Nat. Nanotechnol.* **2010**, 5, 520.
- [18] Y. Ke, S. M. Douglas, M. Liu, J. Sharma, A. Cheng, A. Leung, Y. Liu, W. M. Shih, H. Yan, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 15903.
- [19] H. Dietz, S. M. Douglas, W. M. Shih, *Science* **2009**, 325, 725.
- [20] R. P. Goodman, I. A. Schaap, C. F. Tardin, C. M. Erben, R. M. Berry, C. F. Schmidt, A. J. Turberfield, *Science* **2005**, 310, 1661.
- [21] G. von Kiedrowski, L.-H. Eckardt, K. Naumann, W. M. Pankau, M. Reimold, M. Rein, *Pure Appl. Chem.* **2003**, 75, 609.
- [22] E. S. Andersen, M. Dong, M. M. Nielsen, K. Jahn, A. Lind-Thomsen, W. Mamdough, K. V. Gothelf, F. Besenbacher, J. Kjems, *ACS Nano* **2008**, 2, 1213.
- [23] S. M. Douglas, A. H. Marblestone, S. Teerapittayanon, A. Vazquez, G. M. Church, W. M. Shih, *Nucleic Acids Res.* **2009**, 37, 5001.
- [24] C. E. Castro, F. Kilchherr, D. N. Kim, E. L. Shiao, T. Wauer, P. Wortmann, M. Bathe, H. Dietz, *Nat. Methods* **2011**, 8, 221.
- [25] G. Bellot, M. A. McClintock, C. Lin, W. M. Shih, *Nat. Methods* **2011**, 8, 192.
- [26] N. V. Voigt, T. Topping, A. Rotaru, M. F. Jacobsen, J. B. Ravnsbaek, R. Subramani, W. Mamdough, J. Kjems, A. Mokhir, F. Besenbacher, K. V. Gothelf, *Nat. Nanotechnol.* **2010**, 5, 200.
- [27] Y. Ke, S. Lindsay, Y. Chang, Y. Liu, H. Yan, *Science* **2008**, 319, 180.
- [28] Z. Zhang, D. Zeng, H. Ma, G. Feng, J. Hu, L. He, C. Li, C. Fan, *Small* **2010**, 6, 1854.
- [29] A. Kuzyk, K. T. Laitinen, P. Torma, *Nanotechnology* **2009**, 20, 235305.
- [30] K. Numajiri, M. Kimura, A. Kuzuya, M. Komiyama, *Chem. Commun.* **2010**, 46, 5127.
- [31] A. Kuzuya, M. Kimura, K. Numajiri, N. Koshi, T. Ohnishi, F. Okada, M. Komiyama, *ChemBioChem* **2009**, 10, 1811.
- [32] A. P. Eskelinen, A. Kuzyk, T. K. Kaltiaisenaho, M. Y. Timmermans, A. G. Nasibulin, E. I. Kauppinen, P. Torma, *Small* **2011**, 7, 746.
- [33] K. Numajiri, T. Yamazaki, M. Kimura, A. Kuzuya, M. Komiyama, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 9937.
- [34] B. Saccà, R. Meyer, M. Erkelenz, K. Kiko, A. Arndt, H. Schroeder, K. S. Rabe, C. M. Niemeyer, *Angew. Chem.* **2010**, 122, 9568; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 9378.
- [35] B. Ding, Z. Deng, H. Yan, S. Cabrini, R. N. Zuckermann, J. Bokor, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 3248.
- [36] S. Pal, Z. Deng, B. Ding, H. Yan, Y. Liu, *Angew. Chem.* **2010**, 122, 2760; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 2700.
- [37] S. Pal, R. Varghese, Z. Deng, Z. Zhao, A. Kumar, H. Yan, Y. Liu, *Angew. Chem.* **2011**, 123, 4262–4265; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50, 4176.
- [38] Z. Zhao, E. L. Jacovetty, Y. Liu, H. Yan, *Angew. Chem.* **2011**, 123, 2089; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50, 2041.
- [39] S. Rinker, Y. Ke, Y. Liu, R. Chhabra, H. Yan, *Nat. Nanotechnol.* **2008**, 3, 418.
- [40] M. Endo, Y. Katsuda, K. Hidaka, H. Sugiyama, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 1592; Aufsatz über Einzelmolekülanalysen mithilfe von DNA-Origami: A. Rajendran, M. Endo, H. Sugiyama, *Angew. Chem.*, 10.1002/ange.201102113; *Angew. Chem. Int. Ed.*, 10.1002/anie.201102113.
- [41] M. Endo, Y. Katsuda, K. Hidaka, H. Sugiyama, *Angew. Chem.* **2010**, 122, 9602; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 9412.
- [42] S. M. Douglas, J. J. Chou, W. M. Shih, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, 104, 6644.
- [43] C. Steinhauer, R. Jungmann, T. L. Sobey, F. C. Simmel, P. Tinnefeld, *Angew. Chem.* **2009**, 121, 9030; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 8870.
- [44] I. H. Stein, V. Schuller, P. Bohm, P. Tinnefeld, T. Liedl, *Chem-PhysChem* **2011**, 12, 689.
- [45] I. H. Stein, C. Steinhauer, P. Tinnefeld, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 4193.
- [46] H. Gu, J. Chao, S. J. Xiao, N. C. Seeman, *Nature* **2010**, 465, 202.
- [47] 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.
- [48] L. A. Stearns, R. Chhabra, J. Sharma, Y. Liu, W. T. Petuskey, H. Yan, J. C. Chaput, *Angew. Chem.* **2009**, 121, 8646; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 8494.
- [49] R. Schreiber, S. Kempter, S. Holler, V. Schuller, D. Schiffels, S. S. Simmel, P. C. Nickels, T. Liedl, *Small* **2011**, 7, 1795.
- [50] H. T. Maune, S. P. Han, R. D. Barish, M. Bockrath, W. A. Iii, P. W. Rothmund, E. Winfree, *Nat. Nanotechnol.* **2010**, 5, 61.
- [51] J. Liu, Y. Geng, E. Pound, S. Gyawali, J. R. Ashton, J. Hickey, A. T. Woolley, J. N. Harb, *ACS Nano* **2011**, 5, 2240.
- [52] R. J. Kershner, L. D. Bozano, C. M. Micheel, A. M. Hung, A. R. Fornof, J. N. Cha, C. T. Rettner, M. Bersani, J. Frommer, P. W. Rothmund, G. M. Wallraff, *Nat. Nanotechnol.* **2009**, 4, 557.
- [53] A. M. Hung, C. M. Micheel, L. D. Bozano, L. W. Osterbur, G. M. Wallraff, J. N. Cha, *Nat. Nanotechnol.* **2010**, 5, 121.
- [54] E. Pound, J. R. Ashton, H. A. Becerril, A. T. Woolley, *Nano Lett.* **2009**, 9, 4302.
- [55] B. Högberg, T. Liedl, W. M. Shih, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 9154.
- [56] W. Liu, H. Zhong, R. Wang, N. C. Seeman, *Angew. Chem.* **2011**, 123, 278; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 50, 264.
- [57] Z. Zhao, H. Yan, Y. Liu, *Angew. Chem.* **2010**, 122, 1456; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 1414.
- [58] Z. Zhao, Y. Liu, H. Yan, *Nano Lett.* **2011**, 11, 2997.
- [59] A. Rajendran, M. Endo, Y. Katsuda, K. Hidaka, H. Sugiyama, *ACS Nano* **2011**, 5, 665.
- [60] T. Wang, R. Sha, R. Dreyfus, M. E. Leunissen, C. Maass, D. J. Pine, P. M. Chaikin, N. C. Seeman, *Nature* **2011**, 478, 225.
- [61] P. W. Rothmund, *Proceedings of the 2005 IEEE/ACM International Conference on Computer-Aided Design*, San Jose, 6.–10. November, IEEE Computer Society, Washington, **2005**, S. 471.