

Hydrophobes Schalten einer doppelagigen DNA-Origami-Struktur**

Jonathan List, Michael Weber und Friedrich C. Simmel*

Abstract: Amphiphile Moleküle neigen in wässriger Lösung zur Aggregation. Wir zeigen, dass eine solche Aggregationswechselwirkung dazu genutzt werden kann, einlagige Cholesterin-funktionalisierte DNA-Origami-Strukturen in „Sandwich“-artige Doppelagenstrukturen zu falten, in deren Innenren die Cholesterin-Modifikationen verborgen werden. Die DNA-Strukturen entfalten sich sowohl nach Zugabe des Tensids Tween 80 als auch in Gegenwart von Lipidmembranen. Die Kinetik des Entfaltungsprozesses lässt sich mit einer gestreckten Exponentialfunktion beschreiben. Es wird auch gezeigt, wie sich das hydrophobe Schalten mit einem Schlüssel-Schloss-Mechanismus kombinieren lässt, wodurch das Entfalten der DNA-Sandwiches von einem zusätzlichen molekularen Signal, z. B. einer spezifischen DNA-Sequenz, abhängig gemacht werden kann.

Die Erzeugung großer Konformationsumwandlungen innerhalb von supramolekularen Strukturen als Reaktion auf spezifische Änderungen der Umgebungsbedingungen ist für verschiedene Anwendungen in Nanotechnologie und Biomedizin erstrebenswert. Beispielsweise wurde in der pharmazeutischen Chemie und der Nanomedizin in den vergangenen Jahren intensiv nach kontrollierbaren Wirkstofftransportsystemen gesucht, die ihren Inhalt auf einen externen Stimulus hin freigeben können. Intelligente Freisetzungssysteme werden als vielversprechende Anwendung von DNA-basierten Nanostrukturen gehandelt, und es wurde bereits eine Reihe von schaltbaren containerartigen DNA-Strukturen realisiert.^[1] Hier führen wir einen neuartigen, hydrophoben Schaltmechanismus für DNA-Nanocontainer vor, der sich die umgebungsabhängig unterschiedlich starke hydrophobe Wechselwirkung von Cholesterin-Modifikationen zunutze macht. Hydrophobe Modifikationen von DNA-Molekülen wurden für eine Vielzahl unterschiedlicher Anwendungen entwickelt. Lipid-DNA-Konjugate wurden dazu verwendet, die Aufnahme von DNA in Zellen zu erleichtern,^[2] um Vesikelfusion zu stimulieren,^[3] oder um vesikelbasierte

Nanocontainer^[4] herzustellen und sie auf Oberflächen zu immobilisieren.^[5] Erst kürzlich wurden von mehreren Arbeitsgruppen DNA-basierte Nanostrukturen auf Lipidmembranen angebunden,^[6] und es wurden sogar künstliche Membrankanäle aus DNA aufgebaut.^[7] Eine weitere Motivation stammt aus der strukturellen DNA-Nanotechnologie, in der hydrophobe Effekte das Repertoire an Wechselwirkungen für die Herstellung von selbstorganisierenden DNA-Nanostrukturen erweitern kann.^[8] Das Schalten von DNA-Nanostrukturen zwischen mehreren Konformationen wurde bereits auf verschiedenste Art erreicht.^[9] Neben der häufig verwendeten DNA-Strangverdrängung^[10] wurden Änderungen des pH-Werts,^[11] photochrome *cis-trans*-Isomerisierung^[12] oder aptamerbasierte allosterische Mechanismen^[13] für die Realisierung von DNA-basierten molekularen Schaltern verwendet.

Im Folgenden nutzen wir die starke Aggregation von DNA-Cholesterin-Konjugaten in wässriger Lösung, um einen „hydrophoben Schaltmechanismus“ für DNA-Nanostrukturen zu realisieren. Amphiphile Strukturen wie DNA-Lipid-Konjugate oder DNA-Blockcopolymere mit hydrophoben Einheiten haben eine starke Tendenz, sich zu Strukturen höherer Ordnung wie Mizellen oder Membranen zusammenzuschließen.^[14] Dies stellt für einige Anwendungen ein Problem dar, während die Aggregation in anderen Fällen erwünscht sein kann. Das auf hydrophober Wechselwirkung beruhende Schaltprinzip wird hier an torsionskorrigierten einlagigen DNA-Origami-Platten^[15] demonstriert. Diese bestehen aus 24 parallelen DNA-Doppelhelices (Maße 65 nm × 90 nm), die mit bis zu 35 Cholesterin-Modifikationen versehen wurden (Abbildung 1a). Die hohe lokale Konzentration von Cholesterin überschreitet die kritische Mizellenkonzentration (CMC) von cholesterinhaltigen Amphiphilen um mehrere Größenordnungen. Cholesterin allein weist eine CMC von ungefähr 30 nm auf.^[16] Die an den Origami-Platten angebrachten Cholesterinmoleküle sind räumlich auf einen Zylinder mit Radius $r = 32.5$ nm und einer Länge $l = 90$ nm oder einem Volumen von $V \approx 0.3$ aL beschränkt, was für 35 Cholesterin-Moleküle einer Konzentration von etwa 200 μ M entspricht. Die hydrophobe Wechselwirkung zwischen den Cholesterin-Modifikationen erwies sich tatsächlich als stark genug, um die Origami-Platten zu Strukturen mit reduzierten Abmessungen von ca. 20 nm × 90 nm zu verbiegen, wie in der TEM-Aufnahme in Abbildung 1b gezeigt. Die verringerte Größe entspricht einer Faltung der Origami-Platten entlang ihrer Längsachse, also parallel zur Achse der sie konstituierenden DNA-Helices. In Gegenwart eines Tensids wie Polyoxyethylen(20)-Sorbitanmonooleat (Tween 80) bildeten sich keine solchen DNA-Doppelagen, da dieses offenbar die cholesterininduzierte Intra-Origami-Wechselwirkung abschwächt und durch eine günstigere Wechselwirkung ersetzt.

[*] Dipl.-Phys. J. List, M. Weber, Prof. Dr. F. C. Simmel
Lehrstuhl für Systembiophysik
Physik-Department – E14 und ZNN-WSI
Technische Universität München
Am Coulombwall 4a, 85748 Garching (Deutschland)
E-Mail: simmel@tum.de
Homepage: <http://www.e14.ph.tum.de>

[**] Wir danken für die Unterstützung durch den SFB 1032 „Nanoagents“ (TP A2) und den Exzellenzcluster Nanosystems Initiative Munich (NIM). Unser Dank gilt außerdem A. Bausch für den Zugang zur NIM Microscopy Facility, H. Dietz für Unterstützung bei den TEM-Aufnahmen sowie V. Arnaut und M. Langecker für hilfreiche Diskussionen.

 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201310259> zu finden.

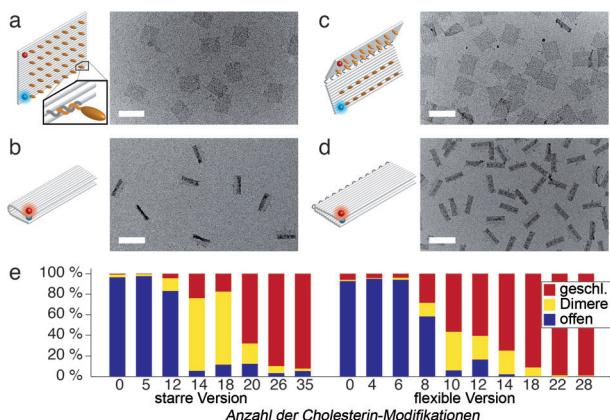


Abbildung 1. a) Darstellung und TEM-Aufnahmen der nichtmodifizierten, aus 24 parallelen Doppelhelices bestehenden DNA-Origami-Platten (mit nominellen Dimensionen von $65 \text{ nm} \times 90 \text{ nm}$). Die Positionen der für FRET-Messungen verwendeten Donor- (blau) und Akzeptor-Farbstoffe (rot) sind in der Schemazeichnung markiert. Cholesterin-modifizierte Oligonukleotide sind orange gezeichnet. b) Gefaltete DNA-Origami-Strukturen, die durch die hydrophobe Wechselwirkung von 35 Cholesterin-Modifikationen zusammengehalten werden, was in einer doppelheligen Struktur mit Dimensionen $20 \text{ nm} \times 90 \text{ nm}$ resultiert. c,d) Variante der Origami-Doppelhelix mit einem flexiblen Scharnier entlang der Symmetriechse in der offenen (c) sowie in der geschlossenen Konformation (d). e) Statistische Auswertung von TEM-Bildern verschiedener Versionen der Struktur mit einer unterschiedlichen Zahl an Cholesterin-Modifikationen sowohl für die starre als auch die flexible Variante. Maßstab: 100 nm.

TEM-Aufnahmen zeigten, dass das Tensid die Origami-Platten weder denaturierte noch anderweitig deformierte.

Um die Faltung zu Doppelhelixen gezielter steuern zu können, stellten wir auch Origami-Strukturen mit molekularen Scharnieren her. Dazu fügten wir zwei zusätzliche Thymin-Nukleotide als flexible Abstandshalter in die Verbindungen zwischen zwei Helices in der Mitte der Struktur ein. Für diese Struktur musste die mittlere Reihe von Cholesterin-Modifikationen entfernt werden, wodurch sich die Maximalzahl an Cholesterin-Molekülen pro Origami auf 28 reduzierte (Abbildung 1c,d). Im geschlossenen Zustand (ohne Zugabe von Tensiden) erschienen diese flexiblen Strukturen etwas größer (ca. $26 \text{ nm} \times 90 \text{ nm}$) als die starren Strukturen. Dies stützt die Annahme, dass die flexiblen Strukturen entlang des Scharniers in der Mitte gefaltet werden, während die starren Strukturen eher gebogen werden.

Anhand von TEM-Abbildungen einer großen Zahl an DNA-Strukturen werteten wir den Anteil an gefalteten oder gebogenen Strukturen in Abhängigkeit von der Zahl der Cholesterin-Modifikationen und der Flexibilität der Konstrukte statistisch aus (Abbildung 1e). Anstatt des üblichen negativen Kontrasts verwendeten wir positiven Färbekontrast für die TEM-Abbildung, wodurch auch einlagige Origami-Strukturen erkannt und klassifiziert werden konnten. Der Anteil gefalteter Strukturen nahm mit der Zahl an Cholesterin-Modifikationen zu. Bei gleicher Cholesterin-Anzahl befanden sich die flexiblen Strukturen öfters in der geschlossenen Konformation als die starren. Zudem neigten die starren Strukturen bei einer mittleren Zahl an Cholesterin-

Modifikationen eher zur Dimerisierung, was auch durch die niedrigere Mobilität dieser Strukturen bei Elektrophorese-Experimenten bestätigt wurde (Abbildung S6). Bemerkenswerterweise ergibt sich aus rasterkraftmikroskopischen Aufnahmen auf Glimmer eine scheinbar geringere Faltungseffizienz (Abbildung S7). Wir beobachteten generell weniger gefaltete Strukturen im Vergleich zu den TEM-Aufnahmen und eine Abhängigkeit vom Salzgehalt, was darauf hindeutet, dass die elektrostatische Wechselwirkung zwischen Glimmer und Origami-Strukturen gegenüber der hydrophoben Wechselwirkung im Inneren der DNA-Doppelhelix überwiegt.

Um die Öffnung von gefalteten Origami-Doppelhelixen nach Zugabe eines Tensids ohne den Einfluss von geladenen Oberflächen untersuchen zu können, führten wir Förster-Energietransfer(FRET)-Experimente in Lösung durch. Wie in Abbildung 1 angedeutet, wurden die Strukturen mit den Fluorophoren ATTO 532 und ATTO 647-N versehen, die zusammen ein FRET-Paar mit einem Förster-Radius von ungefähr 6 nm bilden. Die Faltung der Struktur zu DNA-Doppelhelixen führt zu einer hohen FRET-Effizienz, während das Öffnen der Strukturen zu einer Verringerung des FRET-Signals führt. Wie in Abbildung 2a gezeigt, nahm das FRET-Signal oberhalb von kritischen Konzentrationen von Tween 80 im mikromolaren Bereich abrupt ab. Bei einer größeren Zahl an Cholesterin-Modifikationen erschien der Übergang bei der Entfaltung steiler und setzte erst bei höheren Konzentrationen ein. Um FRET-Signale verschiedener

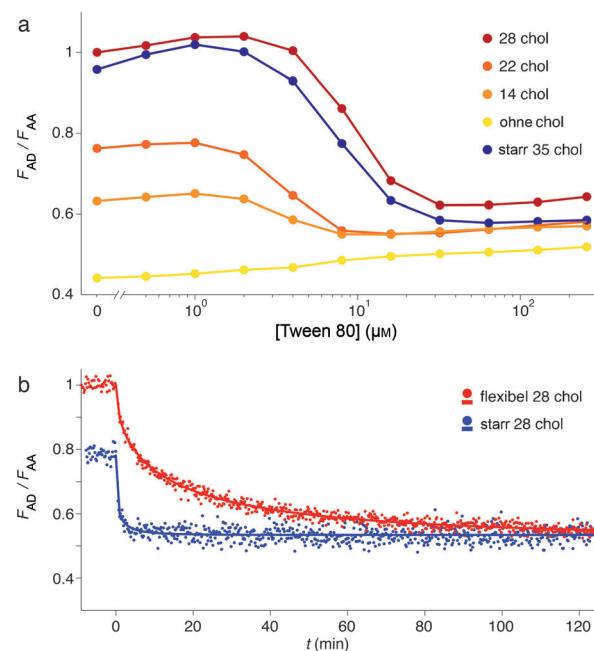


Abbildung 2. a) Öffnen der gefalteten Origami-Doppelhelixen mit zunehmender Konzentration des Tensids Tween 80, bestimmt durch FRET (FRET-induzierte Akzeptor-Emission F_{AD} normiert durch die Emission F_{AA} nach direkter Anregung). b) Kinetik der Öffnung von gefalteten Strukturen mit und ohne flexibles Scharnier für die gleiche Zahl an Cholesterin-Modifikationen nach Zugabe von $6 \mu\text{M}$ Tween bei $t=0$. Der Öffnungsvorgang wird sehr gut durch gestreckt-exponentielle Kinetik beschrieben (durchgezogene Linien; Anpassungsparameter – flexibel: $\beta=0.52$, $k=0.069 \text{ min}^{-1}$, starr: $\beta=0.44$, $k=1.91 \text{ min}^{-1}$).

Strukturen zu vergleichen, normierten wir die Fluoreszenz des Akzeptors nach FRET-Anregung (F_{AD}) mit der Fluoreszenz des Akzeptors bei direkter Anregung (F_{AA}). Die normierten FRET-Werte von DNA-Doppelhelixen waren höher bei einer größeren Zahl an Cholesterin-Modifikationen, was ein dichteres Schließen der Strukturen andeutet. Wir verglichen auch die Entfaltungskinetik von flexiblen und starren Doppelhelixen mit der gleichen Zahl an Cholesterin-Molekülen nach Zugabe einer kritischen Menge an Tween 80. Wie in Abbildung 2b gezeigt, war der anfängliche FRET-Wert der flexiblen Struktur höher, während ihre Entfaltungskinetik deutlich langsamer war. Dies zeigt, dass die starre Struktur anfänglich weniger dicht geschlossen war und nach Zugabe des Tensids instantan aufsprang.

Der Öffnungsprozess folgte keiner Kinetik erster Ordnung, wurde aber sehr gut von einer gestreckten Exponentenalfunktion $\exp[-(kt)^\beta]$ beschrieben (Abbildung 2b). Dies deutet das Vorhandensein von Unordnung in den Strukturen an, die möglicherweise durch mikroskopische Unterschiede in den Cholesterin-Wechselwirkungen innerhalb der Origami-Doppelhelixen verursacht wird. In ähnlicher Weise wurde zuvor die nichtexponentielle Relaxationskinetik von Proteinen mit dem Vorhandensein einer großen Zahl energetisch ähnlicher konformativer Subzustände assoziiert.^[17] Wir fanden überdies, dass die Stärke des hydrophoben Schließens und die Öffnungskinetik nicht nur von der Zahl an Cholesterin-Modifikationen, sondern auch von deren genauer chemischer Natur und ihrer Anbindung an die Origami-Strukturen abhing (Abbildung S1–S5).

Wir vermuteten, dass die Öffnung der DNA-Doppelhelixen auch durch hydrophobe Wechselwirkungen der Cholesterin-Modifikationen mit einer Lipidmembranen induziert werden könnte. Tatsächlich resultierte auch die Zugabe von kleinen unilamellaren Vesikeln (SUV) aus Palmitoyl-Oleoyl-Phosphatidylcholin (POPC) zu geschlossenen Origami-Strukturen in einer starken Abnahme des FRET-Signals mit der Zeit (Abbildung 3a). DNA-Origami-Platten ohne Cholesterin wurden nicht von den SUVs beeinflusst, was eine direkte Wechselwirkung der Fluorophore mit den Lipidmembranen ausschließt. Da eine Öffnung der DNA-Doppelhelixen auch durch elektrostatische Wechselwirkungen zwischen DNA und PC-Lipiden verursacht werden könnte,^[18] führten wir Experimente unter verschiedenen Pufferbedingungen durch. Bei niedrigen Konzentrationen von einwertigen und in Gegenwart von zweiwertigen Ionen zeigten Experimente mit nicht-modifizierten DNA-Origami-Strukturen auf substratgestützten Lipiddoppelschichten sowie mit großen unilamellaren Vesikeln (GUVs) eine unspezifische Anbindung. Bei erhöhten Salzkonzentrationen lösen sich die Origami-Strukturen jedoch von den Membranen, sofern sie nicht über Cholesterin-Modifikationen verankert wurden. Wir führten daher auch Entfaltungsexperimente mit FRET in Abwesenheit von Mg^{2+} , aber bei einer hohen Ionenstärke ($[NaCl] = 1\text{ M}$) durch, bei der die Origami-Strukturen noch stabil waren (Abbildung S8, S10). Auch hier beobachteten wir eine starke Reduktion der FRET-Effizienz in Gegenwart von SUVs, was ein Szenario nahelegt, in dem die Origami-Strukturen sich entfalten und über die Cholesterin-Funktionen an die Lipidmembranen anbinden. Mit konfokaler Lasermikroskopie

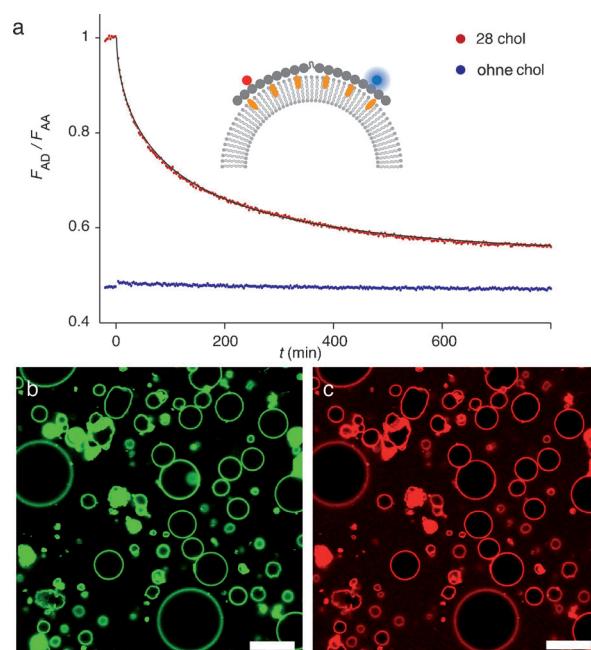


Abbildung 3. a) Entfaltungskinetik der Strukturen nach Zugabe von SUVs. Der Reaktionsverlauf lässt sich sehr gut durch eine gestreckte Exponentenalfunktion ($\beta = 0.40$, $k = 0.025\text{ min}^{-1}$) beschreiben. Im Vergleich dazu zeigen Strukturen ohne Cholesterin-Modifikation keine Veränderung im FRET-Signal nach SUV-Zugabe. b) Konfokale Lasermikroskopie von mit BODIPY FL markierten GUVs. c) Konfokales Bild der selben Probe, wobei mit ATTO-647N markierte Cholesterin-modifizierte DNA-Origami-Platten auf den GUVs angeregt wurden. Maßstabsbalken: 20 μm .

konnte die Anbindung von Origami-Strukturen an GUVs direkt visualisiert werden (Abbildung 3b,c und Abbildung S9).

Wie es auch für andere Schaltmechanismen der Fall ist, die nur auf der Veränderung der Pufferbedingungen (pH-Änderungen, Zugabe oder Entfernung von Metallionen usw.)^[9] beruhen, so hat auch das hydrophobe Schalten den Nachteil, relativ unspezifisch zu sein. Die Anwesenheit von Tensiden oder Lipiden kann viele andere Prozesse in einer komplexen Umgebung beeinflussen, und das Öffnen der DNA-Doppelhelixen könnte auch irrtümlich vom „falschen“ externen Stimulus ausgelöst werden. Um die Spezifität des Öffnungsprozesses zu erhöhen, machten wir den hydrophoben Schaltvorgang daher von einem zusätzlichen molekularen Eingabe-Parameter abhängig. Einem einfachen Schlüssel-Schloss-Prinzip folgend, das zuvor z. B. schon für eine „DNA-Origami-Box“^[1d] genutzt wurde, wurden die flexiblen DNA-Origami-Strukturen mit zusätzlichen DNA-„Klammersträngen“ verschlossen (Abbildung 4e). Die Klammerstränge wurden mit einem einzelsträngigen Fortsatz versehen, an dem DNA-„Signalstränge“ anbinden und die Klammern durch Strangverdrängung lösen konnten. Wie in Abbildung 4 gezeigt, wurden die geklammerten DNA-Doppelhelixen tatsächlich nur bei gleichzeitiger Zugabe von DNA-Signalen und Tensidmolekülen geöffnet.

Zusammenfassend haben wir gezeigt, dass hydrophobe Wechselwirkungen als Grundlage für einen neuen Schaltmechanismus für DNA-Nanostrukturen genutzt werden können.

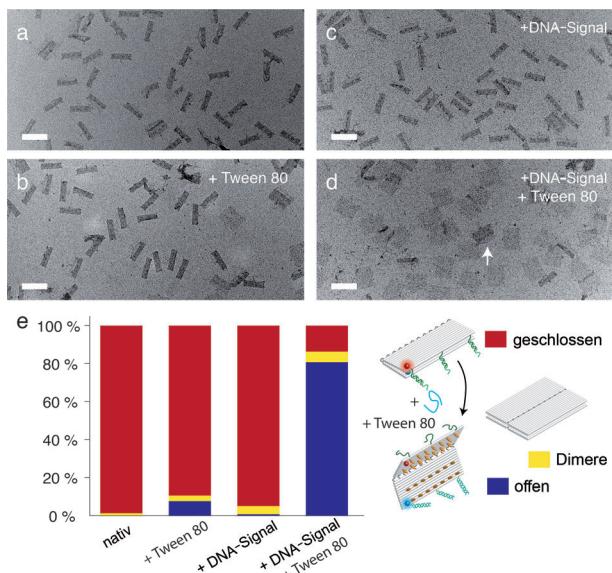


Abbildung 4. Konditionale Öffnung von Origami-Doppelplatten. a) TEM-Aufnahme flexibler DNA-Platten in der geschlossenen Konformation. Die Strukturen sind, wie in (e) gezeigt, zusätzlich mit DNA-Duplexen verklammert. b) TEM-Aufnahme nach Zugabe von Tween 80. c) TEM-Aufnahme nach Zugabe von DNA-Öffnungssträngen. d) Nur bei der Zugabe von sowohl Tween 80 als auch DNA-Öffnungssignalen werden die DNA-Sandwiches geöffnet. e) Statistische Analyse der Öffnung der Origamistrukturen. Die Abbildung rechts zeigt den Öffnungsprozess in Anwesenheit von Tween- und Signal-DNA. Dimere treten ebenfalls auf, wie mit dem Pfeil in (d) markiert. Maßstabsbalken: 100 nm.

Die intramolekulare Aggregation von Cholesterin-Modifikationen ist stark genug, um DNA-Origami-Strukturen zu verbiegen und zu falten. In Gegenwart von Tensiden oder Lipidmembranen wird die Aggregation aufgelöst, was zu einer Öffnung der Strukturen führt. Hydrophobes Schalten kann mit anderen Schaltmechanismen kombiniert werden. Dies ist von Interesse, wenn das Öffnen und das Anbinden einer DNA-Nanostruktur, z. B. eines Nanocontainers, an eine Lipidmembran ausschließlich in Gegenwart eines spezifischen Umweltsignals erwünscht ist. Ganz allgemein erweitern hydrophobe Wechselwirkungen das Repertoire der Schaltmechanismen für rekonfigurierbare Nukleinsäure-Nanostrukturen und ermöglichen damit auch strukturelle Merkmale, die normalerweise Proteinen vorbehalten sind. Bemerkenswert ist unter anderem, dass die tensidinduzierte Entfaltung der DNA-Doppelplatten recht analog zur chemischen Denaturierung von Proteinen verläuft, deren hydrophobe Reste in Gegenwart von Denaturierungsmitteln exponiert werden.

Eingegangen am 26. November 2013
Online veröffentlicht am 11. März 2014

Stichwörter: DNA-Nanotechnologie · DNA-Origami · Hydrophober Effekt · Lipidmembranen · Molekulare Schalter

[1] a) R. P. Goodman, M. Heilemann, S. Doose, C. M. Erben, A. N. Kapanidis, A. J. Turberfield, *Nat. Nanotechnol.* **2008**, *3*, 93–96;

b) A. S. Walsh, H. Yin, C. M. Erben, M. J. A. Wood, A. J. Turberfield, *ACS Nano* **2011**, *5*, 5427–5432; c) F. A. Aldaye, H. F. Sleiman, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 13376–13377; d) E. S. Andersen, M. Dong, M. M. Nielsen, K. Jahn, R. Subramani, W. Mamdouh, M. M. Golas, B. Sander, H. Stark, C. L. P. Oliveira, J. S. Pedersen, V. Birkedal, F. Besenbacher, K. V. Gothelf, J. Kjems, *Nature* **2009**, *459*, 73–76; e) S. M. Douglas, I. Bachelet, G. M. Church, *Science* **2012**, *335*, 831–834; f) A. Banerjee, D. Bhatia, A. Saminathan, S. Chakraborty, S. Kar, Y. Krishnan, *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 6992–6995; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 6854–6857.

- [2] a) A. Krieg, J. Tonkinson, S. Matson, Q. Zhao, M. Saxon, L.-M. Zhang, U. Bhanja, L. Yakubov, C. Stein, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, *90*, 1048–1052; b) J. Soutschek, A. Akinc, B. Bramlage, K. Charisse, R. Constien, M. Donoghue, S. Elbashir, A. Geick, P. Hadwiger, J. Harborth, *Nature* **2004**, *432*, 173–178.
- [3] Y.-H. M. Chan, B. van Lengerich, S. G. Boxer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 979–984.
- [4] M. Loew, J. Kang, L. Dähne, R. Hendus-Altenburger, O. Kaczmarek, J. Liebscher, D. Huster, K. Ludwig, C. Böttcher, A. Herrmann, A. Arbuzova, *Small* **2009**, *5*, 320–323.
- [5] S. M. Christensen, D. Stamou, *Soft Matter* **2007**, *3*, 828–836.
- [6] a) K. Börjesson, E. Lundberg, J. Woller, B. Nordén, B. Albins, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 8462–8465; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 8312–8315; b) A. Czogalla, E. P. Petrov, D. J. Kauert, V. Uzunova, Y. Zhang, R. Seidel, P. Schwille, *Faraday Discuss.* **2013**, *161*, 31.
- [7] a) M. Langecker, V. Arnaut, T. G. Martin, J. List, S. Renner, M. Mayer, H. Dietz, F. C. Simmel, *Science* **2012**, *338*, 932–936; b) J. R. Burns, E. Stulz, S. Howorka, *Nano Lett.* **2013**, *13*, 2351–2356; c) J. R. Burns, K. Göpfrich, J. W. Wood, V. V. Thacker, E. Stulz, U. F. Keyser, S. Howorka, *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 12291–12294; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 12069–12072.
- [8] T. G. W. Edwardson, K. M. M. Carneiro, C. K. McLaughlin, C. J. Serpell, H. F. Sleiman, *Nat. Chem.* **2013**, *5*, 868–875.
- [9] Y. Krishnan, F. C. Simmel, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 3180–3215; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 3124–3156.
- [10] a) B. Yurke, A. Mills, *Genetic Programming Evolvable Machines* **2003**, *4*, 111–122; b) D. Y. Zhang, G. Seelig, *Nat. Chem.* **2011**, *3*, 103–113.
- [11] a) D. Liu, S. Balasubramanian, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 5912–5914; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 5734–5736; b) W. Wang, Y. Yang, E. Cheng, M. Zhao, H. Meng, D. Liu, D. Zhou, *Chem. Commun.* **2009**, 824–826; c) S. Modi, M. G. Swetha, D. Goswami, G. D. Gupta, S. Mayor, Y. Krishnan, *Nat. Nanotechnol.* **2009**, *4*, 325–330.
- [12] a) X. Liang, H. Nishioka, N. Takenaka, H. Asanuma, *Chem-BioChem* **2008**, *9*, 702–705; b) F. Tanaka, T. Mochizuki, X. Liang, H. Asanuma, S. Tanaka, K. Suzuki, S.-i. Kitamura, A. Nishikawa, K. Utei, M. Hagiya, *Nano Lett.* **2010**, *10*, 3560–3565; c) Y. Ogura, T. Nishimura, J. Tanida, *Appl. Phys. Express* **2009**, *2*, 025004; d) F. Lohmann, D. Ackermann, M. Famulok, J. Am. Chem. Soc. **2012**, *134*, 11884–11887; e) J. Cheng, S. Sreelatha, R. Hou, A. Efremov, R. Liu, J. R. C. van der Maarel, Z. Wang, *Phys. Rev. Lett.* **2012**, *109*, 238104; f) Y. Yang, M. Endo, K. Hidaka, H. Sugiyama, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 20645–20653; g) M. Endo, Y. Yang, Y. Suzuki, K. Hidaka, H. Sugiyama, *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 10670–10674; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 10518–10522.
- [13] a) S. Jhaveri, M. Rajendran, A. D. Ellington, *Nat. Biotechnol.* **2000**, *18*, 1293–1297; b) R. Nutiu, Y. F. Li, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4771–4778; c) B. Shlyahovsky, L. Di, Y. Weizmann, R. Nowarski, M. Kotler, I. Willner, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 3814; d) J. Elbaz, M. Moshe, I. Willner, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 3892–3895; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 3834–3837.
- [14] J. N. Israelachvili, *Intermolecular and Surface Forces*, Academic Press, Burlington, **2011**.

[15] P. W. K. Rothemund, *Nature* **2006**, *440*, 297–302.

[16] M. E. Haberland, J. A. Reynolds, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1973**, *70*, 2313–2316.

[17] I. Iben, D. Braunstein, W. Doster, H. Frauenfelder, M. Hong, J. Johnson, S. Luck, P. Ormos, A. Schulte, P. Steinbach, *Phys. Rev. Lett.* **1989**, *62*, 1916–1919.

[18] S. Gromelski, G. Brezesinski, *Langmuir* **2006**, *22*, 6293–6301.