



Oberflächenunterstützte großflächige Anordnung von DNA-Origami-Kacheln**

Ali Aghebat Rafat, Tobias Pirzer, Max B. Scheible, Anna Kostina und Friedrich C. Simmel*

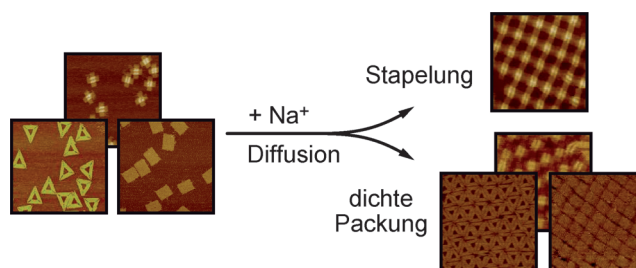
Abstract: Die großflächige Anordnung von DNA-basierten Nanostrukturen in geordnete Überstrukturen ist ein wichtiger Schritt auf dem Weg zu deren Nutzung als funktionale molekulare Materialien. In dieser Arbeit zeigen wir, dass durch elektrostatische Kontrolle der Adhäsion und der Mobilität von DNA-Origami-Strukturen auf Glimmeroberflächen mittels einfacher Zugabe von monovalenten Kationen große geordnete 2D-Gitterstrukturen aus Origami-Kacheln erzeugt werden können. Die Gitter können entweder durch dichtes Packen symmetrischer, wechselwirkungsloser DNA-Origami-Strukturen erzeugt werden oder durch Nutzung von Basenstapelwechselwirkungen zwischen Origamieinheiten. Die resultierenden kristallinen Gitter können direkt als Vorlage für die strukturierte Anordnung von Proteinen genutzt werden.

In den vergangenen Jahrzehnten wurde Selbstassemblierung auf der Grundlage der spezifischen und programmierbaren Erkennungswechselwirkungen zwischen DNA-Molekülen als Strategie für die Erzeugung von künstlichen molekularen Strukturen auf der Nanoskala etabliert.^[1] Vor allem die DNA-Origami-Methode^[2] machte es möglich, nahezu beliebig geformte Objekte herzustellen, die zusätzlich mit funktionalen Molekülen oder Nanopartikeln mit einer räumlichen Auflösung von nur wenigen Nanometern bestückt werden können. Diese Fähigkeit resultierte bereits in einer Vielzahl von möglichen Anwendungen der DNA-Nanotechnologie, ausgehend von Nanomaterialien^[3] über Biosensoren^[4] bis hin zur Nanomedizin.^[5] Für viele Anwendungen wäre es wünschenswert, die durch DNA-Selbstassemblierung erzielte „lokale Ordnung“ auf größere Längenskalen auszudehnen, z. B. für die Herstellung von DNA-basierten Materialien oder die Zusammenführung mit Top-down-Herstellungsmethoden.

Für die Erzeugung von großskaligen Strukturen aus kleinen (d. h., nicht auf Origami basierenden) DNA-Kacheln wurden zuvor mehrere nützliche Ansätze gefunden. Abgesehen von der Entwicklung starrer molekularer Bausteine^[6] haben sequenzsymmetrische Wechselwirkungen,^[7] die präzise Kontrolle von Nukleations- und Wachstumsparametern^[8] und die Verwendung schwacher, kooperativer Wechselwirkungen zu besonders gut geordneten Strukturen in zwei und sogar drei Dimensionen geführt.^[9] Auch wurde gezeigt, dass die Anwesenheit einer Oberfläche die Erzeugung von ausgedehnten Gittern aus kleinen T-förmigen DNA-Strukturen^[10] oder sternförmigen Kacheln^[11] unterstützen kann.

Im Gegensatz zu kleinen DNA-Kacheln können DNA-Origami-Strukturen eine Vielzahl von Formen annehmen, und sie erlauben auch eine komplexere chemische Funktionalisierung. Frühere Ansätze zur großskaligen Anordnung von DNA-Origami-Strukturen nutzten lithographische Strukturierung,^[12] längere DNA-Gerüststränge,^[13] Polymerisation^[14] und die Assemblierung in Superstrukturen durch Hybridisierung^[15] oder Basenstapelwechselwirkungen.^[10,16] Das einzige erfolgreiche Beispiel eines ausgedehnten 2D-Kristalls aus DNA-Origami-Kacheln wurde zuvor von Liu et al.^[17] vorgestellt und basierte auf der Hybridisierung der einzelsträngigen Enden kreuzförmiger Origami-Strukturen. Eine Temperaturrampe über mehrere Tage resultierte in kristallinen 2D-Gittern mit Abmessungen von bis zu $5 \times 10 \mu\text{m}^2$.

Hier zeigen wir, dass eine oberflächenunterstützte Anordnung^[10,11] von DNA-Origami-Strukturen ebenfalls erreicht werden kann, wenn schlichtweg deren Oberflächenmobilität durch Zugabe von monovalenten Salzen (Schema 1) erhöht wird. In der Regel werden DNA-Origami-Strukturen in Experimenten mit dem Rasterkraftmikroskop (AFM) auf negativ geladenem Glimmer stark adsorbiert, um ein stabiles Abbilden zu gewährleisten. Dabei wird die Ad-



Schema 1. Die Oberflächenbeweglichkeit von DNA-Origami-Strukturen auf Glimmer kann durch die Zugabe von monovalenten Kationen verändert werden. Abhängig von der Symmetrie der Origami-Bausteine und deren Wechselwirkungen können sich großskalige zweidimensionale Anordnungen bilden.

[*] A. Aghebat Rafat,^[†] Dr. T. Pirzer,^[†] M. B. Scheible, A. Kostina, Prof. Dr. F. C. Simmel
Physik-Department E14 und ZNN/WSI, TU München
Am Coulombwall 4a, 85748 Garching (Deutschland)
E-Mail: simmel@tum.de
Prof. Dr. F. C. Simmel
Nanosystems Initiative Munich
Schellingstraße 4, 80539 München (Deutschland)

[†] Diese Autoren haben zu gleichen Teilen zu der Arbeit beigetragen.

[**] Wir danken der Volkswagen Stiftung (FKZ 86 395), dem EU Marie Curie Initial Training Network EscoDNA und dem DFG-Exzellenzcluster Nanosystems Initiative Munich (NIM) für die finanzielle Unterstützung sowie A. Kuzyk für initiale Arbeiten zu diesem Projekt.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201403965> zu finden.

sorption durch Mg^{2+} -Ionen vermittelt, die typischerweise schon im Origami-Faltungspuffer vorhanden sind und als Salzbrücken zwischen Glimmer und DNA dienen (Abbildung 1 A). Diese Wechselwirkung kann durch die Zugabe von

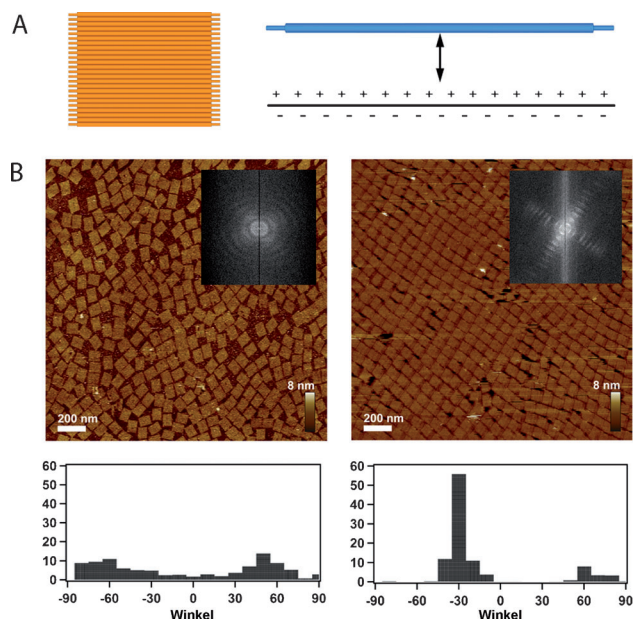


Abbildung 1. A) Links: Skizze einer regelmäßigen rechteckigen DNA-Origami-Kachel. Rechts: Schematische Darstellung einer adsorbierten Origami-Struktur (blau) auf einem negativ geladenen Glimmer-Substrat (durchgezogene Linie). Kationen befinden sich zwischen den Fliesen und Glimmer. Mg^{2+} -Ionen wirken als Salzbrücken, während Na^{+} -Ionen die negative Oberflächenladung in einer diffusen Ladungsschicht abschirmen. B) AFM-Bilder von rechteckigen Origami-Kacheln auf Glimmer in Abwesenheit von NaCl (links) und in Gegenwart von 200 mM NaCl (rechts) in der Pufferlösung. Die eingefügten FFT-Bilder zeigen die Symmetrie und den Grad der Ordnung der Oberflächen (siehe Text). Die Histogramme zeigen die Verteilung der Origami-Orientierungen bezüglich der y-Achse der Bilder. Die Scanfläche beträgt $2\text{ }\mu\text{m} \times 2\text{ }\mu\text{m}$. Die Länge und Breite der Kacheln wurde aus den AFM-Aufnahmen zu 100 nm und 80 nm bestimmt.

monovalenten Ionen wie Na^{+} abgeschwächt werden, da diese teilweise Mg^{2+} -Ionen ersetzen und eine eher diffuse Ladungsschicht zwischen der Oberfläche und dem Polyelektrolyten erzeugen.^[18] Dies resultiert in einer höheren Mobilität der Origami-Strukturen auf der Oberfläche, welche dort dann ausgedehnte geordnete Strukturen bilden können. Wir zeigen im Folgenden, dass wechselwirkungslose, gleichmäßig geformte Origami-Strukturen wie z.B. Rechtecke^[2a,19] oder Dreiecke^[2a] sich einfach in dicht gepackten Strukturen anordnen, was durch die sterische Abstoßung der Bausteine bedingt ist. Im Fall von torsionskorrigierten, kreuzförmigen Origami-Kacheln^[17] nutzen wir zusätzlich Basenstapelwechselwirkungen, die in Kombination mit der Oberflächendiffusion großskalig geordnete Gitter aus Origami-Kreuzen entstehen lassen.

In Abbildung 1 ist die oberflächenunterstützte Anordnung von rechteckigen Origami-Kacheln durch dichtes Packen auf Glimmer zu sehen. Ist nur Mg^{2+} vorhanden, adsorbieren DNA-Origami-Rechtecke aus Lösung auf die

Glimmeroberfläche in nur schwach korrelierter Orientierung (Abbildung 1 B, links). Im Gegensatz dazu zeigt eine Probe mit zusätzlichem NaCl ($[\text{NaCl}] = 200\text{ mM}$) eine großflächige Ordnung, bei der nahezu alle Origami-Strukturen dieselbe Orientierung besitzen (Abbildung 1 B, rechts). Als objektives Maß für die Symmetrie und Ordnung der Strukturen wurde eine schnelle Fourier-Transformation (FFT) der AFM-Bilder durchgeführt (siehe Abbildungen 1 B, 2 A–C). Die auftretenden FFT-Maxima sind dabei entlang der Achsen der hauptsächlichsten Ausrichtung der Strukturen zu finden. Punktartige FFT-Reflexe deuten auf eine kristalline Anordnung hin, wohingegen unscharfe Ringe auf amorphe Strukturen hinweisen. Im Falle der dicht-gepackten rechteckigen Origami-Kacheln ist die rechteckige Symmetrie des Gitters klar zu erkennen.

Wie in Abbildung 2 zu sehen ist, gelingt das diffusionsunterstützte Packen von Origami-Strukturen ebenfalls für andere einzellige Origami-Kacheln wie etwa Dreiecke,^[2a] lange Rechtecke^[19] und kreuzförmige Strukturen.^[17] Der zu erreichende Grad der Ordnung hängt offenbar von der Symmetrie der Grundstruktur, ihrer Konvexität und auch von ihrer „Kompaktheit“ (oder Querschnittsverhältnis) ab. Dreieckige Origami-Kacheln bilden ein Gitter mit einer trigonalen Symmetrie, die klar ersichtlich durch die FFT-Analyse wiedergegeben wird. Verglichen mit dem Gitter der rechteckigen Kacheln in Abbildung 1 sind weniger Punktdefekte (wie fehlende oder beschädigte Kacheln) zu finden,

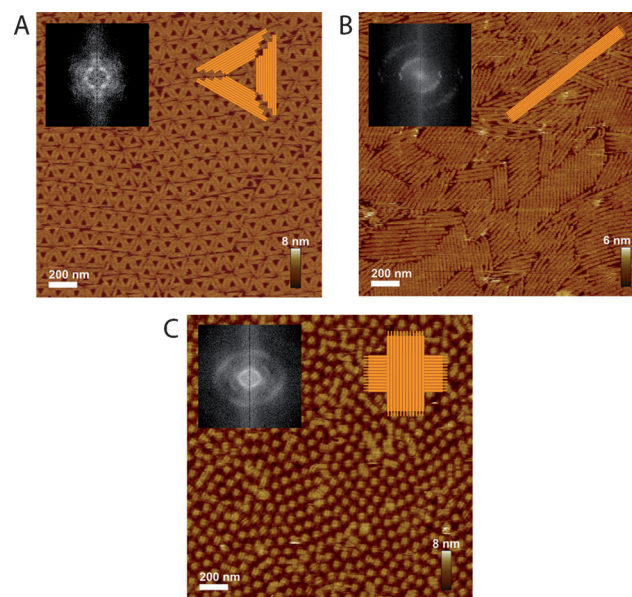


Abbildung 2. AFM-Bilder von Origami-Anordnungen von A) Dreiecken, B) langen Rechtecken und C) kreuzförmigen Kacheln. Die Symmetrie der Basiseinheiten bestimmt die Qualität und den Grad der Ordnung, der auch in den FFT-Analysen (eingefügte Bilder) wiedergespiegelt wird. Die Anordnung der langen Rechtecke erfolgt senkrecht zur Längsachse. Kreuzförmige Kacheln zeigen geringe Ordnung bei rechteckiger Symmetrie. Unscharfe Merkmale in den FFT-Bildern deuten eine Verteilung der Richtung der Symmetrieachsen und der räumlichen Frequenzen der Basiseinheiten an. Die Scanfläche beträgt $2\text{ }\mu\text{m} \times 2\text{ }\mu\text{m}$. Die gemessenen Abmessungen der Kacheln sind $25\text{ nm} \times 280\text{ nm}$ für die langen Rechtecke, 126 nm pro Seite für die Dreiecke und 95 nm für die Länge eines Kreuzes.

jedoch verleihen Versetzungen dem Gitter eine wellige Struktur, die den Grad der Ordnung im FFT-Bild reduziert. Über einen Bereich von 1 μm und mehr ordnen sich lange rechteckige Origami-Kacheln recht gut senkrecht zu ihrer langen Achse, zeigen aber keine langreichweitige Ordnung in 2D. Obgleich kreuzförmige Kacheln die Oberfläche im Prinzip lückenlos bedecken könnten, weisen sie einen noch niedrigeren Grad an Ordnung auf, was von Diffusionsfallen herrührt, die von ihrer konkaven Form erzeugt werden. Eine Erhöhung der Natriumkonzentration auf mehr als 200 mM führt schließlich zum Zerfall der dichtgepackten Gitter. Die Strukturen sind nur noch locker gepackt und isolierte Origami-Kacheln desorbieren vom Substrat (siehe Abbildung S1 in den Hintergrundinformationen).

Um eine Auflösung der Origami-Überstrukturen bei höheren monovalenten Salzkonzentrationen zu verhindern, nutzten wir auch stabilisierende anziehende Wechselwirkungen zwischen den Origami-Kacheln. Zu starke Wechselwirkungen (wie z.B. Hybridisierung von Einzelstrangüberhängen) können jedoch zu fraktalem Wachstum aufgrund diffusionslimitierter Aggregation^[20] führen. Für das Wachstum von großen kristallinen Flächen aus Origami-Kacheln verwendeten wir daher die schwächeren Basenstapelwechselwirkungen,^[2a,16] die reversible Bildung und Auflösung von Bindungen ermöglichen, und somit eine Reorganisation und Ausheilung der wachsenden Kristalle. Wie in Abbildung 3 A gezeigt, verwendeten wir eine torsionskorrigierte Version der kreuzförmigen Origami-Kachel von Liu et al.^[17] für die 2D-Kristallisation durch Basenstapelwechselwirkungen.

Unsere Experimente zeigen, dass die kreuzförmigen Origami-Kacheln bereits in Lösung oligomerisieren (Abbildung S2). Die Oligomere können auf Glimmer adsorbieren und anschließend in einem typischen Nukleations- und Wachstumsprozess als Keim für 2D-Kristallisation auf der Oberfläche dienen. Anfangs diffundieren die wachsenden

Nuklei auf der Oberfläche, um schließlich stabile, nicht-mobile Strukturen zu bilden. Einzelne Kacheln oder kleinere Aggregate können weiterhin auf der Oberfläche adsorbieren und neue Nukleationskeime bilden oder mit größeren Anordnungen fusionieren.

In Abbildung 3 B sind AFM-Aufnahmen bei $[\text{NaCl}] = 420 \text{ mM}$ zu sehen, die den Verlauf der 2D-Kristallisation zeigen. Es lassen sich verschiedene Prozesse identifizieren, die zum Kristallwachstum beitragen: Kleine Versetzungen im Gitter heilen aus und ausgefranzte Ränder werden während des 2D-Assemblierungsprozesses vollendet. Punktdefekte wie das Fehlen einzelner Kacheln werden mit Monomeren aus der Lösung aufgefüllt.

Der limitierende Faktor für unbegrenztes Kristallwachstum ist, wie ebenfalls in Abbildung 3 zu sehen ist, die Anwesenheit von benachbarten, aber anders orientierten, nicht-mobilen kristallinen Domänen. Das Kristallwachstum konnte durch Spülung der komplett bedeckten Glimmroberfläche mit reinem Wasser verbessert werden, wodurch Ionen und alle schwach gebundenen Aggregate von der Oberfläche entfernt wurden (Abbildungen S3A und B). Nach Trocknung und weiterer Inkubation über Nacht in $1 \times \text{TAE}$ -Puffer mit 12.5 mM Mg_2Cl und 400 mM NaCl bildeten sich größere kristalline Domänen mit typischen Abmessungen im Mikrometerbereich (Abbildung 4, FFT in Abbildung S4). Es sind

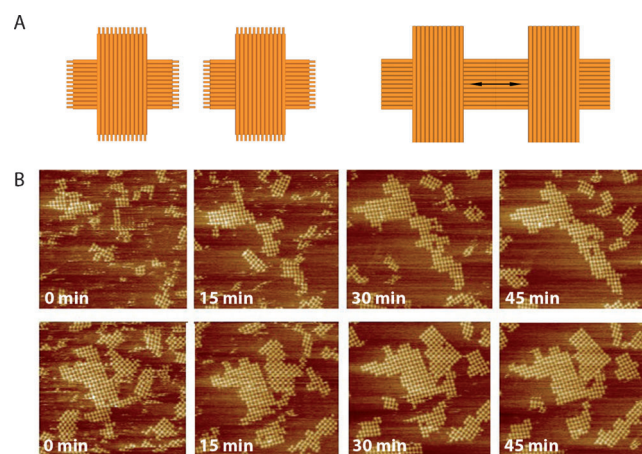


Abbildung 3. A) Links: Kreuzförmige Origami-Kacheln ohne Randstränge (Einzelstrang-Gerüst orange) wechselwirken nicht miteinander. Rechts: Der Einbau von Randklammern erzeugt glatte Enden, die Stapelwechselwirkungen zwischen den Kacheln ermöglichen. B) Zwei AFM-Bilderserien von kreuzförmigen Kacheln mit glatten Enden auf Glimmer während der 2D-Kristallisation, die durch einen typischen Nukleations- und Wachstumsprozess fortschreitet. $[\text{NaCl}] = 420 \text{ mM}$. Die Scan-Fläche ist $3 \mu\text{m} \times 3 \mu\text{m}$.

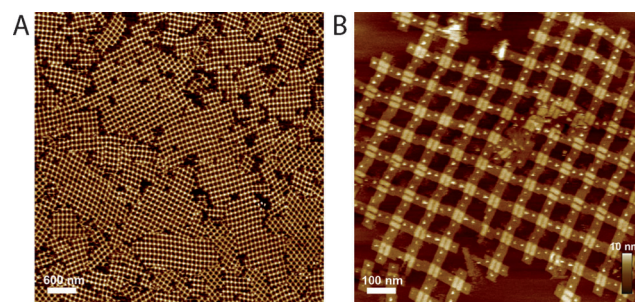


Abbildung 4. A) AFM-Bild von 2D-Gittern aus kreuzförmigen DNA-Origami-Kacheln. Die zentrale Gitter-Domäne hat eine Länge von etwa $6 \mu\text{m}$ und eine Breite zwischen 1 und $3 \mu\text{m}$. B) AFM-Bild von Streptavidin auf einem 2D-Gitter von biotinylierten kreuzförmigen Origami-Kacheln.

weiterhin typische Kristalldefekte wie Punktdefekte oder Versetzungen zu sehen, die hauptsächlich an den Rändern zwischen den Domänen auftreten. Wenn die Anfangskonzentration der Kristallisationskeime auf der Oberfläche weiter reduziert werden könnte, wären potentiell größere Gitter möglich. Niedrige Konzentrationen führen aber zu kleineren, weniger stabilen und mobileren Clustern, weswegen die Verwendung von speziellen Initiatorstrukturen erforderlich sein könnte.

Um eine mögliche Anwendung für unsere einfache Kristallisationsstrategie zu demonstrieren, nutzten wir das Kreuzgitter auch für die Anordnung von Proteinen (Abbildung 4B, Abbildung S4B). Hierfür wurden kreuzförmige Kacheln mit jeweils acht biotinylierten Klammersträngen funktionalisiert, wobei zwei Biotin-Einheiten je Arm in entgegengesetzte Richtungen senkrecht zur Ebene der Kreuz-

struktur ausgerichtet waren. Zuerst wurde das Gitter auf der Glimmeroberfläche erzeugt, um anschließend in situ mit Streptavidin bestückt zu werden. Dies führte zu einer hohen Ausbeute von 98 % für die Besetzung der Gitterpositionen. Da die Bindungsausbeute an einem einzelnen Biotinstrang in einer Origami-Struktur auf ca. 86 % geschätzt wird,^[21] deutet dies darauf hin, dass tatsächlich beide Biotinmoleküle (unterhalb und oberhalb einer Kachel) für die Anbindung zur Verfügung stehen. Dies könnte durch ein Durchdringen der Origami-Kacheln durch die biotinylierten Stränge erklärt werden.^[22]

Gegenwärtig können wir die Orientierung der Kacheln während des Adsorptionsprozesses nicht kontrollieren. Insbesondere sind weder beide Seiten noch alle vier Arme der Kacheln äquivalent. Nichtsdestotrotz scheinen sich die Kreuzkacheln lokal in einer bevorzugten Orientierung anzuordnen, was auch in der Origami-Substruktur in Abbildung 4B zu erkennen ist. Benutzt man ein symmetrisches und redundantes Anbindungsschema wie in Abbildung 4B, kann aber die zunächst „gebrochene Symmetrie“ wieder hergestellt werden.

Wir haben gezeigt, dass durch die elektrostatische Kontrolle der Mobilität von DNA-Origami-Strukturen auf Glimmeroberflächen sehr einfach großflächig geordnete Gitter aus Origami-Kacheln erzeugt werden können. Inerte Origami-Strukturen assemblieren zu dicht gepackten Strukturen, während miteinander wechselwirkende Origami-Kacheln durch Basenstapelwechselwirkung ausgedehnte 2D-Kristalle bilden, deren Symmetrie durch die Richtung der Bindung vorgegeben ist. Es sollte möglich sein, einen ähnlichen Kristallisationsansatz auch auf anderen Oberflächentypen anzuwenden, was für Anwendungen als Nanomaterial von Interesse wäre. Es ist außerdem denkbar, die Gitter nach ihrer Bildung chemisch zu vernetzen und mithilfe weichtographischer Methoden auf andere Substrate zu übertragen. Es sollte auch möglich sein, Gitter aus Origami-Kacheln entlang von Templatstrukturen auf Oberflächen wachsen zu lassen und sogar Origami-basierte kristalline Selbstreplikation^[23] zu implementieren.

Experimentelles

Design und Herstellung der DNA-Nanostrukturen: DNA-Origami-Kacheln wurden mit einem 7249 Nukleotide langen einzelsträngigen Gerüststrang auf der Basis des Genoms des Phagen M13mp18 und kurzen Klammersträngen (Eurofins MWG) gefaltet. Für das Design der vier verschiedenen Kachelformen, nämlich drehkorrigiertes Rechteck, langes Rechteck, Dreieck und Kreuzform wurde das Programm caDNA^[24] benutzt und damit die Sequenzen der 186, 186, 233 bzw. 186 Klammerstränge bestimmt (siehe Abbildungen S5 bis S9). Die Klammerstränge wurden in Faltungspuffer (1 × TAE mit 12.5 mM MgCl₂) mit dem Gerüststrang gemischt, für das Dreieck im 3.4-fachen Überschuss, im 1.4-fachen Überschuss (5.6-fach für Randstränge) für alle anderen Origami-Kacheln; im Streptavidin-Experiment wurde ein 4.2-facher Überschuss an Klammersträngen und ein 4.5-facher Überschuss an Biotinsträngen verwendet. Das Gemisch wurde auf 70 °C erhitzt und langsam auf Raumtemperatur herabgekühlt (0.5 °C min⁻¹ zwischen 65–45 °C). Für die Aufreinigung der Origami-Strukturen wurde PEG-Fällung verwendet.^[25] Zwei identische Volumina aus Probe und modifiziertem Faltungspuffer (mit zusätzlichen 15 % PEG-8000 und 500 mM NaCl) wurden vor-

sichtig vermischt und für 30 Minuten bei 4 °C (20000 rcf) zentrifugiert. Der Überstand wurde vorsichtig entfernt und das verbliebene Pellet mit Faltungspuffer resuspendiert; dieser Schritt wurde dreimal durchgeführt.

Abbildung der DNA-Nanostrukturen: AFM wurde auf einem Veeco Multimode-V (mit einem Bruker Multimode-8 Controller) im intermittierenden Kontaktmodus unter Flüssigkeit mit Siliciumnitrid-Cantilevern (ScanAsyst-Fluid + von Bruker und BL-AC40TS-C2 von Olympus) durchgeführt. Typische Resonanzfrequenzen lagen zwischen 25–33 kHz und Abtastraten zwischen 2–6 Hz. Bilder wurden durch Subtraktion eines Polynoms 2. Ordnung mit der Nanoscope 8.15-Software nachbearbeitet. Um kristalline Strukturen zu erzeugen, wurden 40 µL Probenlösung auf frisch gespaltene Glimmerplättchen für die oberflächenunterstützte 2D-Assemblierung aufgebracht. Um die Anziehungskräfte zwischen den Strukturen und der Glimmeroberfläche zu schwächen, wurde der magnesiumhaltige Faltungspuffer mit verschiedenen Konzentrationen von Natriumchlorid ([NaCl] = 0.1–0.5 M) ergänzt, was zu einer Erhöhung der diffusiven Beweglichkeit der Origami-Strukturen führte und damit kristallines Wachstum ermöglichte. Die Herstellung der Proben für Abbildung 4A und S3B wird im Haupttext beschrieben.

Protein-Anbindung: Kreuzförmige Kacheln wurden mit zwei biotinylierten einzelsträngigen Erweiterungen auf jedem Seitenarm versehen, an die Streptavidin-Proteine binden können. Nach der Assemblierung und einer Wartezeit von 1 Stunde wurde die Glimmeroberfläche in einer Petrischale mit Faltungspuffer gewaschen, um die Probe von ungebundenen Kacheln zu reinigen. Anschließend wurde die Probe mit 20 µL einer 2 µM Streptavidin-Lösung und weiteren 30 µL Faltungspuffer für 90 Minuten inkubiert. Danach wurde die Glimmerprobe erneut in einer Petrischale gewaschen und anschließend in Faltungspuffer abgebildet.

Eingegangen am 3. April 2014

Online veröffentlicht am 4. Juni 2014

Stichwörter: DNA-Nanotechnologie · DNA-Origami · Selbstassemblierung

- [1] N. C. Seeman, *Annu. Rev. Biochem.* **2010**, 79, 65–87.
- [2] a) P. W. K. Rothmund, *Nature* **2006**, 440, 297–302; b) S. M. Douglas, H. Dietz, T. Liedl, B. Högberg, F. Graf, W. M. Shih, *Nature* **2009**, 459, 414–418.
- [3] a) H. T. Maune, S.-p. Han, R. D. Barish, M. Bockrath, W. A. G. Iii, P. W. K. Rothmund, E. Winfree, *Nat. Nanotechnol.* **2010**, 5, 61–66; b) P. K. Dutta, R. Varghese, J. Nangreave, S. Lin, H. Yan, Y. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 11985–11993; c) A. Kuzyk, R. Schreiber, Z. Y. Fan, G. Pardatscher, E. M. Roller, A. Hoge, F. C. Simmel, A. O. Govorov, T. Liedl, *Nature* **2012**, 483, 311–314.
- [4] a) Y. G. Ke, S. Lindsay, Y. Chang, Y. Liu, H. Yan, *Science* **2008**, 319, 180–183; b) B. Saccà, R. Meyer, M. Erkelenz, K. Kiko, A. Arndt, H. Schroeder, K. S. Rabe, C. M. Niemeyer, *Angew. Chem.* **2010**, 122, 9568–9573; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 9378–9383.
- [5] a) V. J. Schüller, S. Heidegger, N. Sandholzer, P. C. Nickels, N. A. Suhartha, S. Endres, C. Bourquin, T. Liedl, *ACS Nano* **2011**, 5, 9696–9702; b) A. S. Walsh, H. Yin, C. M. Erben, M. J. A. Wood, A. J. Turberfield, *ACS Nano* **2011**, 5, 5427–5432; c) J. Li, H. Pei, B. Zhu, L. Liang, M. Wei, Y. He, N. Chen, D. Li, Q. Huang, C. Fan, *ACS Nano* **2011**, 5, 8783–8789; d) S. M. Douglas, I. Bachelet, G. M. Church, *Science* **2012**, 335, 831–834.
- [6] a) E. Winfree, F. Liu, L. A. Wenzler, N. C. Seeman, *Nature* **1998**, 394, 539–544; b) D. Liu, M. S. Wang, Z. X. Deng, R. Walulu, C. D. Mao, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 2324–2325.

- [7] Y. He, Y. Tian, Y. Chen, Z. Deng, A. E. Ribbe, C. Mao, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 6852–6854; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 6694–6696.
- [8] a) R. Schulman, E. Winfree, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 15236–15241; b) W. Li, Y. Yang, S. Jiang, H. Yan, Y. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 3724–3727.
- [9] a) M. Meng, C. Ahlborn, M. Bauer, O. Plietzsch, S. A. Soomro, A. Singh, T. Muller, W. Wenzel, S. Bräse, C. Richert, *Chem-BioChem* **2009**, *10*, 1335–1339; b) J. Zheng, J. J. Birktoft, Y. Chen, T. Wang, R. Sha, P. E. Constantinou, S. L. Ginell, C. Mao, N. C. Seeman, *Nature* **2009**, *461*, 74–77.
- [10] S. Hamada, S. Murata, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 6952–6955; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 6820–6823.
- [11] X. P. Sun, S. H. Ko, C. A. Zhang, A. E. Ribbe, C. D. Mao, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 13248–13249.
- [12] a) 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. K. Rothmund, G. M. Wallraff, *Nat. Nanotechnol.* **2009**, *4*, 557–561; b) A. E. Gerdon, S. S. Oh, K. Hsieh, Y. Ke, H. Yan, H. T. Soh, *Small* **2009**, *5*, 1942–1946.
- [13] H. Zhang, J. Chao, D. Pan, H. Liu, Q. Huang, C. Fan, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 6405–6407.
- [14] R. Jungmann, M. Scheible, A. Kuzyk, G. Pardatscher, C. E. Castro, F. C. Simmel, *Nanotechnology* **2011**, *22*, 275301.
- [15] Z. Li, M. Liu, L. Wang, J. Nangreave, H. Yan, Y. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 13545–13552.
- [16] S. Woo, P. W. K. Rothmund, *Nat. Chem.* **2011**, *3*, 620–627.
- [17] W. Liu, H. Zhong, R. Wang, N. C. Seeman, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 278–281; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 264–267.
- [18] D. Pastré, O. Pietrement, P. Fusil, F. Landousy, J. Jeusset, M. O. David, C. Hamon, E. Le Cam, A. Zozime, *Biophys. J.* **2003**, *85*, 2507–2518.
- [19] R. Jungmann, C. Steinhauer, M. Scheible, A. Kuzyk, P. Tinnefeld, F. C. Simmel, *Nano Lett.* **2010**, *10*, 4756–4761.
- [20] T. A. Witten, L. M. Sander, *Phys. Rev. Lett.* **1981**, *47*, 1400–1403.
- [21] N. V. Voigt, T. Torring, A. Rotaru, M. F. Jacobsen, J. B. Ravnsbaek, R. Subramani, W. Mamdouh, J. Kjems, A. Mokhir, F. Besenbacher, K. V. Gothelf, *Nat. Nanotechnol.* **2010**, *5*, 200–203.
- [22] N. Wu, D. M. Czajkowsky, J. J. Zhang, J. X. Qu, M. Ye, D. D. Zeng, X. F. Zhou, J. Hu, Z. F. Shao, B. Li, C. H. Fan, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 12172–12175.
- [23] a) R. Schulman, B. Yurke, E. Winfree, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2012**, *109*, 6405–6410; b) T. Wang, R. Sha, R. Dreyfus, M. E. Leunissen, C. Maass, D. J. Pine, P. M. Chaikin, N. C. Seeman, *Nature* **2011**, *478*, 225–228.
- [24] S. M. Douglas, A. H. Marblestone, S. Teerapittayanon, A. Vazquez, G. M. Church, W. M. Shih, *Nucleic Acids Res.* **2009**, *37*, 5001–5006.
- [25] S. M. Douglas, J. J. Chou, W. M. Shih, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 6644–6648.