

Ionenselektive Guanin-Quadruplex-Faltung auf DNA-Origami-Strukturen**

Lydia Olejko, Piotr J. Cywinski* und Ilko Bald*

Abstract: DNA-Origami-Nanostrukturen sind vielseitig anwendbare Hilfsmittel, die genutzt werden können, um Funktionalitäten mit hoher lokaler Kontrolle anzuordnen. Hier zeigen wir, dass DNA-Origami-Substrate genutzt werden können, um die Faltung bestimmter Guanin(G)-Quadruplex-Strukturen zu unterdrücken. Die Faltung von Telomer-DNA zu G-Quadruplexen in Gegenwart einwertiger Kationen (z. B. Na^+ und K^+) wird derzeit zur Detektion von K^+ -Ionen genutzt, allerdings mit ungenügender Selektivität gegenüber Na^+ . Mithilfe von FRET zwischen zwei organischen Farbstoffen, die am 3'- und 5'-Ende der Telomer-DNA immobilisiert werden, zeigen wir, dass die G-Quadruplex-Faltung auf DNA-Origami-Strukturen in Gegenwart von Natriumionen sterisch gehindert wird. Dadurch stellt die an DNA-Origami-Strukturen gebundene Telomer-DNA ein hochempfindliches und selektives Detektionssystem für Kaliumionen dar, sogar in Gegenwart hoher Natriumionenkonzentration.

DNA kann in fast jede beliebige 2D- und 3D-Form mithilfe der DNA-Origami-Technik gefaltet werden.^[1] DNA-Nanostrukturen lassen sich mit den unterschiedlichsten Molekülen mit hoher Präzision modifizieren, z. B. mit Proteinen, Nanopartikeln, fluoreszierenden Farbstoffen und anderen DNA-Strukturen. Daher eignen sie sich sehr gut für analytische Untersuchungen.^[2] DNA-Origami-Strukturen können als Substrat genutzt werden, um RNA-Sequenzen^[3] und andere Moleküle mithilfe der Rasterkraftmikroskopie (AFM) zu

detektieren,^[4] um einzelne Moleküle durch oberflächenverstärkte Raman-Streuung zu identifizieren^[5] oder die Strangbruchausbeute verschiedener DNA-Sequenzen zu bestimmen.^[6] Die Faltung von Guanin(G)-Quadruplexen wurde umfangreich auf DNA-Origami-Gerüsten mittels Hochgeschwindigkeits-AFM untersucht.^[7] Telomer-DNA befindet sich an den Enden von eukaryotischen Chromosomen und stabilisiert und schützt das Genom.^[8] Die G-reiche einzelsträngige Säugetier-Telomer-DNA hat die Sequenz 5'-(TTAGGG)_n und kann G-Quadruplexe in Gegenwart von einwertigen Kationen bilden. In diesen Komplexen werden vier G-Basen durch Ausbildung von acht Wasserstoffbrücken zu G-Tetraden assoziiert. Zwei oder mehr gestapelte G-Tetraden bilden einen G-Quadruplex. Da die Assoziationskonstante der G-Quadruplexe für Na^+ kleiner als die für K^+ ist,^[10,11] wurden Telomersequenzen als selektive K^+ -Sensoren basierend auf FRET (resonanter Energietransfer nach Förster) vorgeschlagen.^[10–12] Allerdings induziert Na^+ die G-Quadruplex-Faltung von menschlicher Telomer-DNA in einem Konzentrationsbereich von 10–205 mM. Dies kann unter physiologischen Bedingungen (ca. 145 mM Na^+) zu beträchtlichen Fehlern in der K^+ -Bestimmung führen. Wie wir hier zeigen, wird die G-Quadruplex-Bildung aus Telomer-DNA, welche an DNA-Origami-Strukturen gebunden ist, in Gegenwart von Na^+ komplett unterdrückt, wohingegen die Faltung der G-Quadruplexe in Gegenwart von K^+ unbeeinflusst bleibt.

In unserer Studie haben wir FRET genutzt, um die durch Na^+ und K^+ induzierte G-Quadruplex-Faltung aus freien Telomersequenzen und an DNA-Origami-Dreiecken gebundenen Sequenzen detailliert zu untersuchen. FRET ist ein strahlungsloser Energietransfer, bei dem die Energie von einem angeregten Donor auf einen Akzeptor durch Dipol-Dipol-Wechselwirkungen übertragen wird. Die FRET-Effizienz η hängt sehr stark von dem Donor-Akzeptor-Abstand nach folgender Gleichung ab:

$$\eta = \frac{R_0^6}{R_0^6 + R^6}, \quad (1)$$

wobei R der Donor-Akzeptor-Abstand ist und R_0 der Förster-Abstand, bei dem die FRET-Effizienz 50% beträgt. Die FRET-Effizienz kann basierend auf der Donor-Abklingzeit mit folgender Gleichung berechnet werden:

$$\eta = 1 - \frac{\tau_{\text{DA}}}{\tau_{\text{D}}}, \quad (2)$$

wobei τ_{D} die Donor-Abklingzeit in Abwesenheit des Akzeptors ist und τ_{DA} die Abklingzeit in Gegenwart des Akzeptors.^[13]

[*] L. Olejko, Prof. Dr. I. Bald
Institut für Chemie, Universität Potsdam
Karl-Liebknecht-Straße 24–25, 14476 Potsdam (Deutschland)
E-Mail: bald@uni-potsdam.de

Dr. P. J. Cywinski
NanoPolyPhotonics, Fraunhofer IAP
Geiselbergstraße 69, 14476 Potsdam (Deutschland)
E-Mail: piotr.cywinski@iap.fraunhofer.de

Prof. Dr. I. Bald
Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung
Richard-Willstätter Straße 11, 12489 Berlin (Deutschland)

L. Olejko
School of Analytical Sciences Adlershof
Humboldt-Universität zu Berlin
Unter den Linden 6, 10099 Berlin (Deutschland)

[**] Wir danken Prof. Michael Kumke für Diskussionen und Zugang zum Fluoreszenzspektrometer sowie A. Keller für das Korrekturlesen des Manuskripts. Unsere Forschungen wurden durch einen Marie Curie FP7 Integration Grant im Rahmen des 7th European Union Framework Programme, die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG), die Universität Potsdam und das DFG-Projekt GSC 1013 (SALSA) unterstützt.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201409278> zu finden.

Wir nutzten freie Telomer-DNA als Referenzsystem, wobei das 5'-Ende mit Cyanin3 (Cy3) und das 3'-Ende mit Fluorescein (FAM) modifiziert wurden (5'-Cy3-TT(GGA)TTG GGA TTG GGA TTG GGA TT-FAM). Wird K^+ oder Na^+ zu solch einer Lösung hinzugegeben, so ändert sich die Konformation des DNA-Stranges von einer Random-Coil-Struktur zu einer G-Quadruplex-Struktur. Hierbei ist der Donor-Akzeptor-Abstand in Gegenwart von K^+ 4.6 nm und von Na^+ 5.8 nm (siehe Abbildung 1 A und Abbildung S1 in

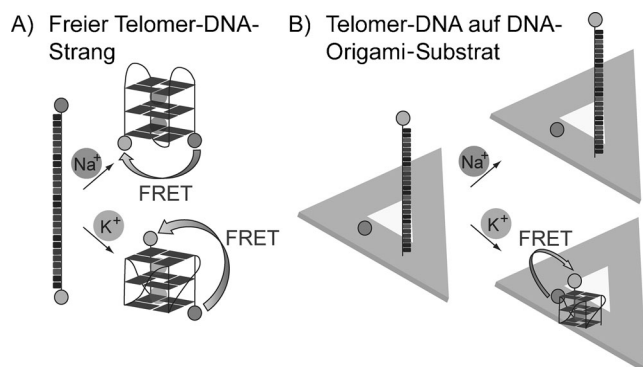


Abbildung 1. Prinzip des Kaliumdetektionssystems basierend auf Telomer-DNA. A) Freier Telomer-DNA-Strang (5'-Cy3-TT(GGA)TT-FAM, T = schwarz, G = dunkelgrau, A = hellgrau) mit Fluorescein (FAM, dunkelgrau) als Donorfarbstoff und Cyanin 3 (Cy3, hellgrau) als Akzeptorfarbstoff. Sind einwertige Kationen wie K^+ und Na^+ in Lösung vorhanden, faltet sich der DNA-Strang in eine G-Quadruplex-Struktur. Die unterschiedlichen Kationen bewirken die Bildung von verschiedenen G-Quadruplex-Strukturen. Mithilfe des freien Telomer-DNA-Stranges können beide G-Quadruplexe gebildet und K^+ und Na^+ mittels FRET detektiert werden. B) Der Telomer-DNA-Strang ist als Verlängerung eines Helferstrangs auf dem DNA-Origami-Substrat immobilisiert. Der Telomer-DNA-Strang wurde 3.3 nm von FAM auf der DNA-Origami-Struktur entfernt platziert. Der G-Quadruplex kann nun nur in Gegenwart von Kalium gebildet werden.

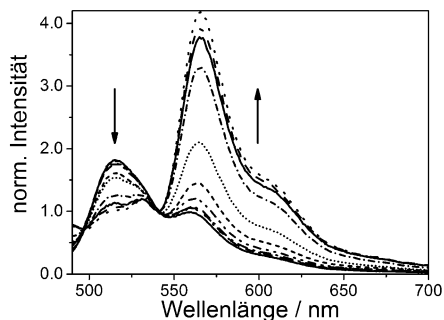
den Hintergrundinformationen (SI)). Im zweiten System, in dem dreieckige DNA-Origami-Strukturen verwendet werden (AFM-Bild ist in Abbildung S2 in den SI gezeigt), wurde FAM 3.3 nm entfernt vom 3'-Ende des verlängerten Telomerstrangs platziert. Die Sequenz wurde am 5'-Ende mit Cy3 modifiziert (Abbildung 1 B und Abbildung S1 in den SI). In der gefalteten G-Quadruplex-Struktur beträgt der Donor-Akzeptor-Abstand maximal 7.5 nm.

Emissionsspektren wurden bei einer DNA-Konzentration von 5 nM mit einer Anregungswellenlänge von 450 nm aufgenommen und sind in Abbildung 2 gezeigt. Abbildung 2 A und B zeigen die Fluoreszenzemissionsspektren der freien Telomer-DNA-Sequenz in Abhängigkeit der KCl- (A) und NaCl-Konzentration (B). In Abbildung 2 C und B sind die Emissionsspektren für das Telomer-DNA-Origami-System dargestellt. Findet kein FRET statt, ist die Emission von FAM bei 515 nm dominant. Da die organischen Farbstoffe in der Random-Coil-Struktur schon so nahe beieinander sind, dass FRET stattfinden kann, ist das Cy3-Emissionsmaximum bei 565 nm in den Emissionsspektren (Abbildung 2 A,B) auch

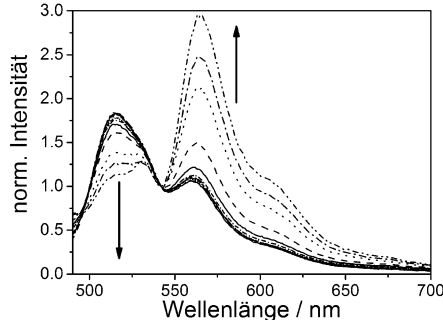
ohne Salzzugabe sichtbar. Wird entweder KCl oder NaCl zu den freien Telomer-DNA-Strängen gegeben (Abbildung 2 A,B), kommen sich die organischen Farbstoffe aufgrund der G-Quadruplex-Faltung immer näher, sodass die FRET-Effizienz steigt. Die Fluoreszenz von FAM wird gelöscht, und gleichzeitig wird die Emission von Cy3 verstärkt. Die Zugabe von 1 mM KCl (Abbildung 2 A) ist ausreichend, um eine Änderung der Emissionseigenschaften des Systems zu bewirken. Wegen der kleineren Assoziationskonstante von $Na^{+[1]}$ im Vergleich zu der von K^+ , wird eine Änderung des Emissionsspektrums erst nach Zugabe von 25 mM NaCl sichtbar (Abbildung 2 B). Jedoch ist diese Unterscheidung für biologisch relevante Bedingungen nicht ausreichend, da in extrazellulären Flüssigkeiten die Konzentration von Na^+ ca. 145 mM und von K^+ nur 4 mM beträgt. Der freie Telomer-DNA-Strang zeigt eine hohe Sensitivität für Na^+ in einem Bereich von 25–205 mM, wie in Abbildung 2 B zu sehen ist. Demnach ist ein Kalium-Sensor unter Verwendung von freier Telomer-DNA in biologischen Medien nicht realisierbar. Um dieses Problem zu überwinden, wurde die Telomer-Sequenz auf DNA-Origami-Substraten immobilisiert, um das DNA-Origami-Telomer-FRET-Sensorsystem zu erhalten. In Abbildung 2 C sind die Emissionsspektren des Telomer-DNA-Origami-Systems in Abhängigkeit der KCl-Konzentration gezeigt. Im Allgemeinen sind die FRET-Effizienzen dieses Systems geringer, da der Donor-Akzeptor-Abstand größer als im freien Telomerstrang ist (Abbildung 1). Dennoch wird eine klare Änderung der Donor- und Akzeptoremission in einem Konzentrationsbereich von 5–110 mM KCl beobachtet. Die Emission von Cy3 nimmt von 0.1 bis 2.5 mM KCl leicht ab, was auf ein mäßiges Erwärmen auf 40 °C zurückgeführt wird, welches den durchschnittlichen Abstand zwischen den Farbstoffen im ungefalteten Telomer erhöhen könnte. Ab einer Konzentration von 5 mM KCl nimmt die FRET-Effizienz deutlich zu. Bei Zugabe von NaCl zu den Telomer-DNA-Origami-Strukturen zeigt sich ein vollständig anderes Verhalten (Abbildung 2 D). Die Emissionsspektren bleiben durch Na^+ unbeeinflusst, sogar bei einer Konzentration von 205 mM NaCl. Das zeigt, dass sich der durchschnittliche Donor-Akzeptor-Abstand mit Erhöhung der NaCl-Konzentration nicht ändert. Dies deutet darauf hin, dass sich die G-Quadruplexe auf DNA-Origami-Strukturen in Gegenwart von Na^+ nicht ausbilden können. In Abbildung 2 E ist gezeigt, dass die hohe Selektivität für K^+ auch in Gegenwart von 145 mM NaCl erhalten bleibt. Außerdem ist zu erwähnen, dass ebenfalls kein FRET durch Na^+ -Zugabe zu dem DNA-Origami-Substrat beobachtet wird, wenn ein Farbstoff direkt neben dem 3'-Ende der Telomersequenz platziert wird, um das freie Telomersystem nachzuahmen, (Abbildung S3 in den SI).

Basierend auf den Fluoreszenzintensitäten von FAM und Cy3 wurden die Assoziationskonstanten für den freien Telomer-DNA-Strang mit $1.5 \times 10^4 \text{ M}^{-2}$ für K^+ und 33.7 M^{-2} für Na^+ berechnet (Abbildung S4 in den SI). Die Assoziationskonstante des Telomer-DNA-Origami-Systems beträgt $2.6 \times 10^4 \text{ M}^{-2}$ für K^+ (Abbildung S4 in den SI), was dem Wert des freien Telomer-DNA-Strangs sehr nahe kommt. In Gegenwart von 145 mM NaCl beträgt die Assoziationskonstante für die KCl-Zugabe $1.4 \times 10^4 \text{ M}^{-2}$ (Abbildung S4 in den SI). Das

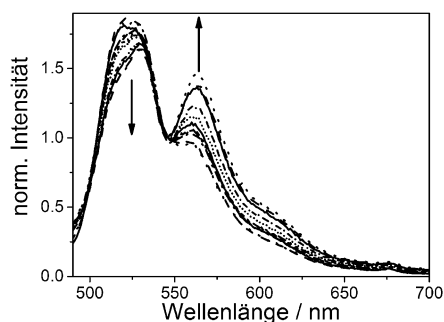
A) Freier Telomer-Strang + KCl



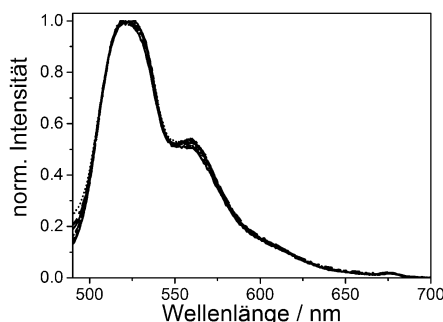
B) Freier Telomer-Strang + NaCl



C) DNA-Origami + KCl



D) DNA-Origami + NaCl



E) DNA-Origami + KCl + NaCl

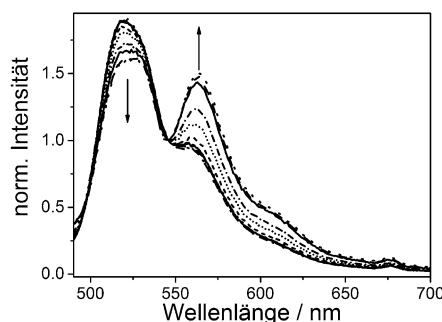


Abbildung 2. Normierte Emissionsspektren ($\lambda_{\text{ex}} = 450 \text{ nm}$) der freien Telomer-DNA ($c = 5 \text{ mM}$) (A,B) und von Telomer-DNA auf DNA-Origami-Strukturen (C,D,E) für unterschiedliche Salzkonzentrationen (KCl und NaCl). A,B) Zugabe von KCl (A; $c = 0\text{--}110 \text{ mM}$) und NaCl (B; $c = 0\text{--}205 \text{ mM}$) resultiert in einer Abnahme der Emissionsintensität des Donorfarbstoffs FAM (515 nm) und einer Zunahme der Emissionsintensität des Akzeptors Cy3 (565 nm) aufgrund des verstärkten FRET-Prozesses. Das zeigt, dass freie Telomer-DNA in Gegenwart von K^+ und Na^+ in G-Quadruplexe gefaltet wird. C,D,E) Ist die Telomer-DNA auf dem DNA-Origami-Substrat immobilisiert, führt nur eine KCl-Zugabe (C; $c = 0\text{--}110 \text{ mM}$) zu einer Änderung der Emissionseigenschaften aufgrund von FRET, sogar in Gegenwart von 145 mM NaCl (E, $c = 0\text{--}110 \text{ mM}$). Durch Zugabe von NaCl (D, $c = 0\text{--}205 \text{ mM}$) wird der G-Quadruplex auf DNA-Origami-Strukturen nicht gebildet und die Emission von FAM und Cy3 sind unbeeinflusst.

zeigt, dass die Faltung von G-Quadruplexen und die Sensitivität gegenüber K^+ durch die DNA-Origami-Strukturen und Na^+ unbeeinflusst sind.

Da die intensitätsbasierten Messungen von der DNA-Konzentration abhängig sind, wurden die FRET-Effizienzen mit zeitaufgelöster Fluoreszenzspektroskopie bestimmt. Die Fluoreszenzabklingzeiten des Donorfarbstoffs sind in Tabelle 1 zusammengefasst (die Abklingkurven sind in Abbildung S5 in den SI dargestellt), und die FRET-Effizienzen wurden mit Gleichung 2 berechnet. In Abbildung 3 sind die FRET-Effizienzen gegen die Salzkonzentration aufgetragen.

Im Falle des freien Telomer-DNA-Stranges nimmt die Abklingzeit des Donors mit zunehmender KCl- und NaCl-Konzentration ab. Folglich nimmt die FRET-Effizienz mit zunehmender KCl- und NaCl-Konzentration zu. Der dynamische Bereich in der FRET-Effizienz liegt für K^+ zwischen 0.5 mM und 50 mM. Auf der anderen Seite kommt es für Na^+ zu einer starken Änderung der FRET-Effizienz im Konzentrationsbereich von 5 mM bis über 165 mM.

Ähnlich wie bei dem freien Telomer-DNA-Strang ändert sich die FRET-Effizienz für das Telomer-DNA-Origami-System durch Zugabe von KCl. Die Unterschiede in den FRET-Effizienzen des freien Telomer-DNA-Stranges und des DNA-Origami-Systems (freie Telomer-DNA: 0.56–0.91; DNA-Origami-Substrat: 0.28–0.57) kommen durch die unterschiedlichen Donor-Akzeptor-Abstände zustande (Abbildung 1). Wird NaCl hinzugegeben, bleibt die FRET-Effizienz unbeeinflusst (Abbildung 3), was wiederum auf eine Hinderung der G-Quadruplex-Faltung auf DNA-Origami-Strukturen hinweist. Dementsprechend wird K^+ auch in Gegenwart von hohen Na^+ -Konzentrationen detektiert (145 mM, Abbildung 3).

Die Bildung von G-Quadruplexen in Gegenwart von K^+ und die Unterdrückung der G-Quadruplex-Bildung in Gegenwart von Na^+ auf DNA-Origami-Substraten ist durch die spezifische Struktur der G-

Quadruplexe zu erklären. Neben der Telomersequenz und der Strangpolarisation hängt die G-Quadruplex-Struktur auch vom zentralen Metallion ab.^[14] Entsprechend Röntgenkristallstruktur- und NMR-Analysen bewirkt Na^+ die Bildung eines „Basket-Typs“ und K^+ die eines „Propeller-Typs“ (Abbildung 1A).^[15,16] Der „Basket-Typ“ hat eine diagonale Schlaufe am Ende des G-Quadruplexes, wodurch die Faltung durch die DNA-Origami-Oberfläche sterisch behindert wird.^[15] Im Gegensatz dazu kann der „Propeller-Typ“, mit den Schlaufen an den Seiten, in Gegenwart von K^+ auf der DNA-Origami-Plattform gebildet werden. Die Bildung der

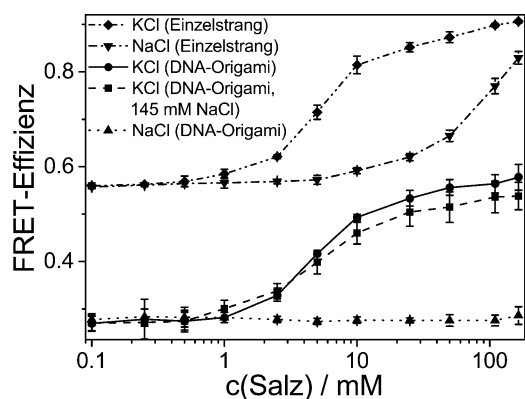


Abbildung 3. FRET-Effizienzen basierend auf FAM-Abklingkurven, aufgetragen gegen Salzkonzentrationen (KCl (Karos, Kreise, Quadrate) und NaCl (Dreiecke nach unten, Dreiecke nach oben)) für das freie Telomer-DNA-System ($c=5$ nm) (Karos, Dreiecke nach unten) und für das Telomer-DNA-Origami-System (Kreise, Quadrate, Dreiecke nach oben). Die FRET-Effizienz nimmt für beide Systeme mit zunehmender KCl-Konzentration zu, sogar in Gegenwart von 145 mM NaCl (Quadrat). Durch Zunahme der NaCl-Konzentration nimmt nur die FRET-Effizienz des freien Telomer-DNA-Stranges zu. Ist die Telomer-DNA auf dem DNA-Origami-Substrat immobilisiert, kann NaCl nicht detektiert werden.

Tabelle 1: FAM-Abklingzeiten τ der hier behandelten Systeme.^[a]

$c(\text{Salz})$ [mM]	τ (ssDNA, KCl) [ns]	τ (ssDNA, NaCl) [ns]	τ (DNA- Origami, KCl) [ns]	τ (DNA- Origami, NaCl) [ns]	τ (DNA- Origami, KCl in 145 mM NaCl) [ns]
0	1.87	1.89	3.56	3.47	3.47
0.1	1.89	1.90	3.55	3.47	3.50
0.25	1.88	1.89	3.58	3.44	3.50
0.5	1.85	1.87	3.54	3.44	3.48
1	1.79	1.87	3.50	3.45	3.35
2.5	1.63	1.85	3.31	3.47	3.18
5	1.23	1.84	2.96	4.49	2.89
10	0.80	1.76	2.66	3.47	2.59
25	0.64	1.63	2.50	3.48	2.38
50	0.55	1.44	2.40	3.48	2.33
110	0.44	0.99	2.36	3.48	2.23
165	0.40	0.73	2.30	3.43	2.22

[a] Aufgrund von FRET nimmt die Abklingzeit für das freie Telomer-DNA-System (ssDNA) nach KCl- und NaCl-Zugabe und für das Telomer-DNA-Origami-System (DNA-Origami) nach Zugabe von KCl auch in Gegenwart von 145 mM NaCl ab. Die Abklingzeit wird durch NaCl im Telomer-DNA-Origami-System nicht beeinflusst. $\tau_0(\text{ssDNA, FAM}) = 4.3$ ns; $\tau_0(\text{DNA-Origami, FAM}) = 4.8$ ns.

unterschiedlichen G-Quadruplex-Strukturen in Gegenwart von K^+ und Na^+ wird durch die unterschiedlichen Donor-Akzeptor-Abstände bestätigt, welche mittels der FRET-Effizienzen des freien Telomersystems bestimmt werden können. Die Donor-Akzeptor-Abstände werden mit Gleichung (1) und dem Förster-Abstand R_0 für das FAM-Cy3-FRET-Paar berechnet. Basierend auf dem spektralen Überlapp wurde R_0 zu 6.7 nm berechnet (Abbildung S6 in den SI). Dementsprechend ist der Donor-Akzeptor-Abstand im freien Telomerstrang ohne Zugabe von NaCl oder KCl 6.4 nm. Durch Zugabe von 165 mM KCl nimmt der Donor-Akzeptor-

Abstand bis auf 4.6 nm ab, was darauf hindeutet, dass der G-Quadruplex gefaltet wird. Dieses Ergebnis stimmt mit dem erwarteten Abstand von 4.6 nm (Abbildung S1 in den SI) basierend auf den Kristallstrukturdaten^[16] und den Linkerlängen zwischen Farbstoffen und DNA (0.7 nm) überein. Für 165 mM NaCl beträgt der aus den FRET-Effizienzen berechnete Donor-Akzeptor-Abstand 5.1 nm, was kürzer ist als der erwartete Abstand von 5.8 nm ($\Delta R(\text{NaCl}) = 0.7$ nm, Abbildung S1 in den SI). Hier muss beachtet werden, dass sich bei der durch Na^+ induzierten G-Quadruplex-Struktur (Abbildung 1) die organischen Farbstoffe am gleichen Ende des G-Quadruplexes befinden. Durch die Linker zwischen den organischen Farbstoffen und der DNA kann der durchschnittliche Abstand zwischen FAM und Cy3 etwas kürzer als der Erwartungswert sein. In dem Telomer-DNA-Origami-System nimmt der Donor-Akzeptor-Abstand von 7.8 nm (ohne Zugabe von Salz) auf 6.4 nm durch Zugabe von 165 mM KCl aufgrund der G-Quadruplex-Faltung ab. Der maximal erwartete Abstand dieses G-Quadruplex-Systems in Gegenwart von KCl beträgt 7.4 nm (Abbildung S1 in den SI). Hierbei wurde angenommen, dass die starre G-Quadruplex-Struktur so gedreht ist, dass der Donor-Akzeptor-Abstand maximal ist. Der experimentell bestimmte Abstand ist ein Durchschnitt aller möglichen gedrehten Konformere und ist daher kürzer als der maximal zu erwartende Abstand.

Das hier vorgestellte Nachweissystem basiert auf dem „FAM-zu-Cy3“-FRET-Prozess auf DNA-Origami-Substraten und ermöglicht die Detektion von Kalium im Bereich von 0.5–50 mM, sogar in Gegenwart von hohen Na^+ -Konzentrationen (145 mM). Um diese Selektivität zu demonstrieren, haben wir die G-Quadruplex-Faltung von freien Telomer-DNA-Strängen mit der von Telomersträngen gebunden an DNA-Origami-Strukturen verglichen. Der freie Telomerstrang zeigt eine Sensitivität gegenüber beiden Ionen (Na^+ und K^+) mit unterschiedlichen Assoziationskonstanten. Wird die Telomer-DNA an DNA-Origami-Substrate gebunden, wird eine hohe Selektivität für Kalium erzielt, ohne die Sensitivität im Vergleich zum freien DNA-Strang zu verlieren. Die G-Quadruplex-Faltung durch Natriumionen wird auf DNA-Origami-Strukturen aufgrund der sterischen Hinderung durch die DNA-Origami-Oberfläche komplett unterdrückt.

Eingegangen am 19. September 2014

Online veröffentlicht am 24. November 2014

Stichwörter: DNA-Nanotechnologie · FRET · G-Quadruplexe · DNA-Origami

[1] P. W. K. Rothmund, *Nature* **2006**, *440*, 297–302.

[2] a) G. P. Acuna, F. M. Möller, P. Holzmeister, S. Beater, B. Lalkens, P. Tinnefeld, *Science* **2012**, *338*, 506–510; b) J. Fu, M. Liu, Y. Liu, N. W. Woodbury, H. Yan, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 5516–5519; c) A. Kuzyk, R. Schreiber, Z. Fan, G. Pardatscher, E.-M. Roller, A. Högele, F. C. Simmel, A. O. Govorov, T. Liedl, *Nature* **2012**, *483*, 311–314; d) I. Bald, A. Keller, *Molecules* **2014**, *19*, 13803–13823.

[3] Y. Ke, S. Lindsay, Y. Chang, Y. Liu, H. Yan, *Science* **2008**, *319*, 180–183.

- [4] A. Kuzuya, Y. Sakai, T. Yamazaki, Y. Xu, M. Komiyama, *Nat. Commun.* **2011**, 2, 449.
- [5] J. Prinz, B. Schreiber, L. Olejko, J. Oertel, J. Rackwitz, A. Keller, I. Bald, *J. Phys. Chem. Lett.* **2013**, 4, 4140–4145.
- [6] A. Keller, I. Bald, A. Rotaru, E. Cauët, K. V. Gothelf, F. Benzenbacher, *ACS Nano* **2012**, 6, 4392–4399.
- [7] a) Y. Sannohe, M. Endo, Y. Katsuda, K. Hidaka, H. Sugiyama, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 16311–16313; b) A. Rajendran, M. Endo, K. Hidaka, H. Sugiyama, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 4107–4112; *Angew. Chem.* **2014**, 126, 4191–4196; c) A. Rajendran, M. Endo, K. Hidaka, P. Lan Thao Tran, J.-L. Mergny, H. Sugiyama, *Nucleic Acids Res.* **2013**, 41, 8738–8747.
- [8] S. Neidle, G. N. Parkinson, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2003**, 13, 275–283.
- [9] a) T. R. Cech, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 34–43; *Angew. Chem.* **2000**, 112, 34–44; b) R. K. Moyzis, J. M. Buckingham, L. S. Cram, M. Dani, L. L. Deaven, M. D. Jones, J. Meyne, R. L. Ratliff, J. R. Wu, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1988**, 85, 6622–6626.
- [10] H. Ueyama, M. Takagi, S. Takenaka, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 14286–14287.
- [11] S. Takenaka, B. Juskowiak, *Anal. Sci.* **2011**, 27, 1167–1172.
- [12] a) L.-D. Li, X.-Q. Huang, L. Guo, *Rare Met.* **2013**, 32, 369–374; b) S. Nagatoishi, T. Nojima, E. Galezowska, A. Gluszynska, B. Juskowiak, S. Takenaka, *Anal. Chim. Acta* **2007**, 581, 125–131; c) F. He, Y. Tang, S. Wang, Y. Li, D. Zhu, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 12343–12346; d) B. Kim, I. H. Jung, M. Kang, H.-K. Shim, H. Y. Woo, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 3133–3138.
- [13] a) J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Springer, Boston, **2006**; b) T. Förster, *Ann. Phys.* **1948**, 437, 55–75; c) T. Förster, *Naturwissenschaften* **1946**, 33, 166–175.
- [14] a) D. Sen, W. Gilbert, *Nature* **1988**, 334, 364–366; b) T. Simonsson, *Biol. Chem.* **2001**, 382, 621–628; c) S. Neidle, S. Balasubramanian, *Quadruplex Nucleic Acids*, RSC, Cambridge **2006**.
- [15] Y. Wang, D. J. Patel, *Structure* **1993**, 1, 263–282.
- [16] G. N. Parkinson, M. P. H. Lee, S. Neidle, *Nature* **2002**, 417, 876–880.